



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur**  
**et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Tissemsilt**



**Faculté des Sciences et de la Technologie**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

---

## **Cours de Biochimie Analytique et Médicale**

---

**Préparé par : Dr. HELLAL Nouria.**

Maitre de conférences classe « B ».

**Public cible : Première année Master Biochimie Appliquée.**

**Année universitaire : 2023-2024.**

## **SOMMAIRE**

### **Chapitre 1 : L'EXPLORATION BIOCHIMIQUE DU METABOLISME DES GLUCIDES**

I. METABOLISME DES GLUCIDES

II-L'EXPLORATION BIOCHIMIQUE DU METABOLISME DES GLUCIDES

IV-TROUBLES DU METABOLISME DES GLUCIDES

1-LE DIABETE SUCRE

2-LES HYPOGLYCEMIES

3-LA GALACTOSEMIE CONGENITALE

4-L'INTOLERANCE HEREDITAIRE AU FRUCTOSE

5-LES GLYCOGENOSES

### **Chapitre 2 : EXPLORATION BIOCHIMIQUE DU METABOLISME DES LIPIDES ET DES LIPOPROTEINES-ATHEROGENESE**

I. LES PRINCIPALES CATEGORIES DE LIPIDES

II. CATABOLISME DES ACIDES GRAS

III. BIOSYNTHESE DES ACIDES GRAS

IV. APO LIPOPROTEINES DU PLASMA HUMAIN

V. METABOLISME DES LIPOPROTEINES PLASMATIQUES

VI. STRATEGIES D'EXPLORATION DES LIPIDES ET LIPOPROTEINES

VII. DYSLIPEMIES :

VIII. ATHEROGENESE

### **Chapitre 3 : METABOLISME DE L'AZOTE ET DES PROTEINES**

- I. RAPPELS SUR LES PROTEINES
- II. LE METABOLISME PROTEIQUE
- III. ENTREES DES ACIDES AMINES : PHYSIOLOGIE ET PATHOLOGIE
- IV. SORTIES DES ACIDES AMINES
- V. ELIMINATION DE L'AZOTE

### **Chapitre 4 : EXPLORATION DES PROTEINES PLASMATIQUES**

- I. PRINCIPALES FONCTIONS DES PROTEINES PLASMATIQUES
- II. METHODES D'INVESTIGATION DES PROTEINES PLASMATIQUES
- III. PATHOLOGIES DES PROTEINES OU DYSPROTEINEMIES

### **Chapitre 5 : LES CONSTITUANTS AZOTES NON PROTEIQUES DU PLASMA.**

I - BILIRUBINE

II - URÉE

III - CRÉATININE

IV - ACIDE URIQUE

### **Chapitre 6 : LES ENZYMES PLASMATIQUES.**

- I. INTRODUCTION.
- II. ORIGINE ET REPARTITION.
- III. ENZYMES SPECIFIQUEMENT PLASMATIQUES.
- IV. ENZYMES NON SPECIFIQUEMENT PLASMATIQUES.
- V. ENZYMES D'INTERET CLINIQUE

## **Préface :**

Chères étudiantes, chers étudiants,

C'est avec grand plaisir que je vous présente ce polycopié de cours dédié à la Biochimie Analytique et Médicale. Ce module constitue un élément essentiel de la formation master biochimie, car il offre une compréhension approfondie des processus biochimiques fondamentaux qui sous-tendent la physiologie humaine.

La biochimie analytique joue un rôle crucial dans le domaine médical en fournissant les outils nécessaires pour explorer et évaluer de manière précise et fiable les paramètres biologiques qui peuvent révéler des informations cruciales sur la santé des individus. Ces informations sont vitales pour le diagnostic, le suivi des traitements, la compréhension des mécanismes pathologiques, et la recherche médicale.

Ce polycopié est divisé en six chapitres, chacun se concentrant sur un aspect spécifique de la biochimie médicale. Nous commencerons par l'exploration du métabolisme des glucides dans le Chapitre 1, en examinant comment notre corps utilise les glucides pour produire de l'énergie et réguler la glycémie.

Le Chapitre 2 se penchera sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines, ainsi que sur les mécanismes sous-jacents à l'athérogenèse, un processus essentiel dans le développement des maladies cardiovasculaires.

Dans le Chapitre 3, nous plongerons dans le métabolisme de l'azote et des protéines, en explorant la façon dont les acides aminés et les protéines sont synthétisés et dégradés, tout en mettant en évidence l'importance de l'équilibre azoté dans notre corps.

Le Chapitre 4 sera consacré à l'exploration des protéines plasmatiques, en mettant en lumière leur diversité fonctionnelle et leur rôle dans le transport, la régulation et la défense de notre organisme.

Le sujet du Chapitre 5, les constituants azotés non protéiques du plasma, sera également abordé dans ce polycopié, couvrant des éléments tels que la bilirubine, l'urée, la créatinine et l'acide urique, avec un accent particulier sur leur importance diagnostique.

Enfin, dans le Chapitre 6, nous examinerons en détail les enzymes plasmatiques, qui sont des biomarqueurs clés utilisés pour évaluer la fonction hépatique, cardiaque et d'autres organes, ainsi que pour diagnostiquer diverses affections médicales.

Ce polycopié a été élaboré avec soin pour vous fournir des connaissances solides en biochimie analytique et médicale.

Nous vous encourageons à étudier ces chapitres avec attention, à poser des questions et à explorer davantage ces sujets passionnants. La biochimie analytique est une discipline en constante évolution, et vos connaissances et votre expertise dans ce domaine auront un impact significatif sur votre parcours académique et professionnel.

Nous vous souhaitons beaucoup de succès dans votre étude de la biochimie analytique et médicale, et nous sommes convaincus que ce polycopié sera un outil précieux dans votre apprentissage.

Bienvenue dans le monde fascinant de la biochimie médicale.

Dr. HELLAL Nouria

# Chapitre 1 : L'EXPLORATION BIOCHIMIQUE DU METABOLISME DES GLUCIDES

## I. METABOLISME DES GLUCIDES

Le métabolisme des glucides est un processus essentiel pour la production d'énergie dans le corps.

Voici un bref rappel sur le métabolisme des glucides et sa régulation :

- Les principales voies métaboliques des glucides.
- La régulation du métabolisme des glucides.
- Les rôles des glucides dans le stockage de l'énergie sous forme de glycogène et dans la biosynthèse d'autres composés biologiques.

### Vue d'ensemble de différentes voies métaboliques :

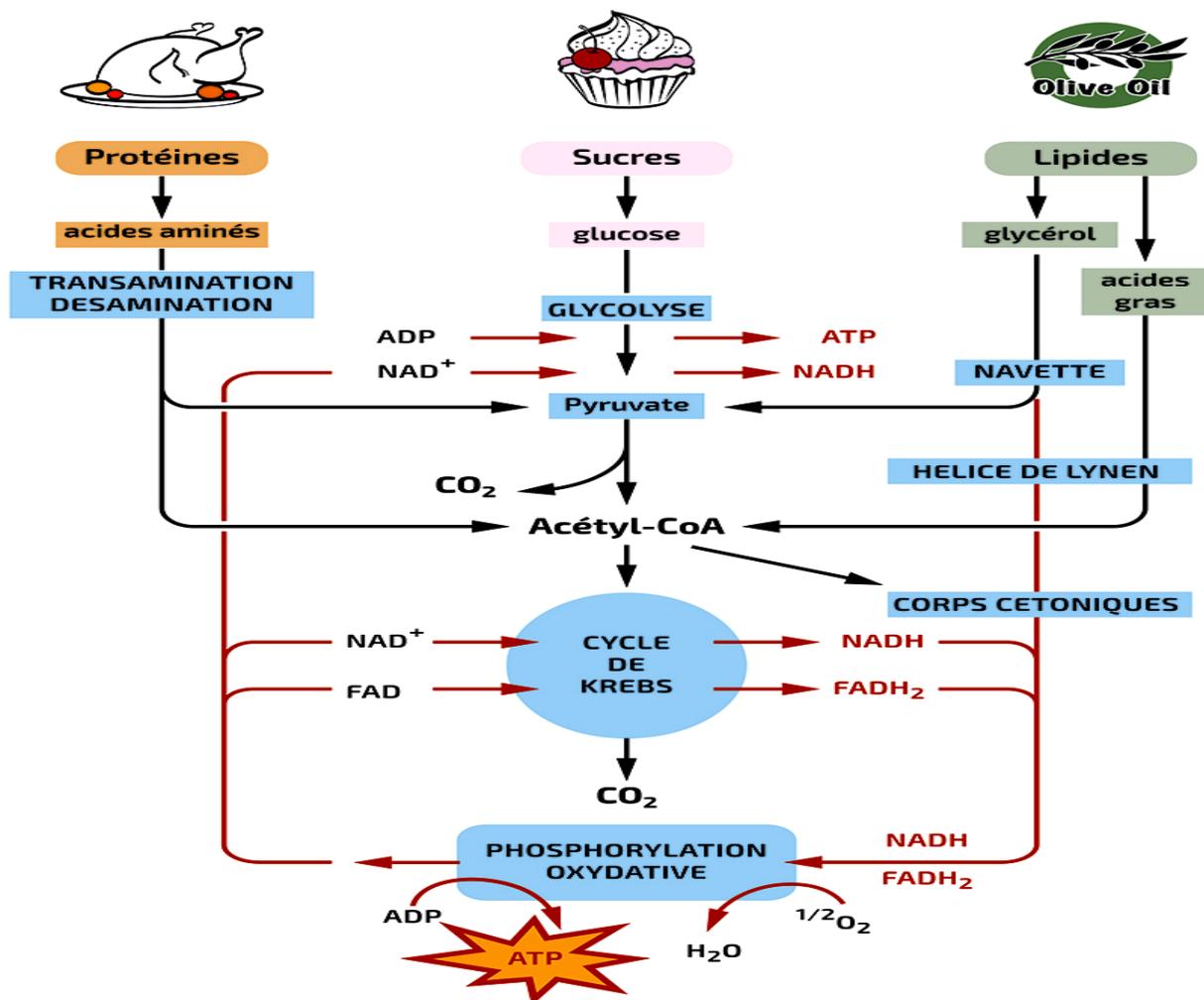
Les voies métaboliques sont des séries de réactions chimiques complexes qui se produisent dans les cellules de notre corps pour transformer les nutriments en énergie, en composants cellulaires et en produits nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme.

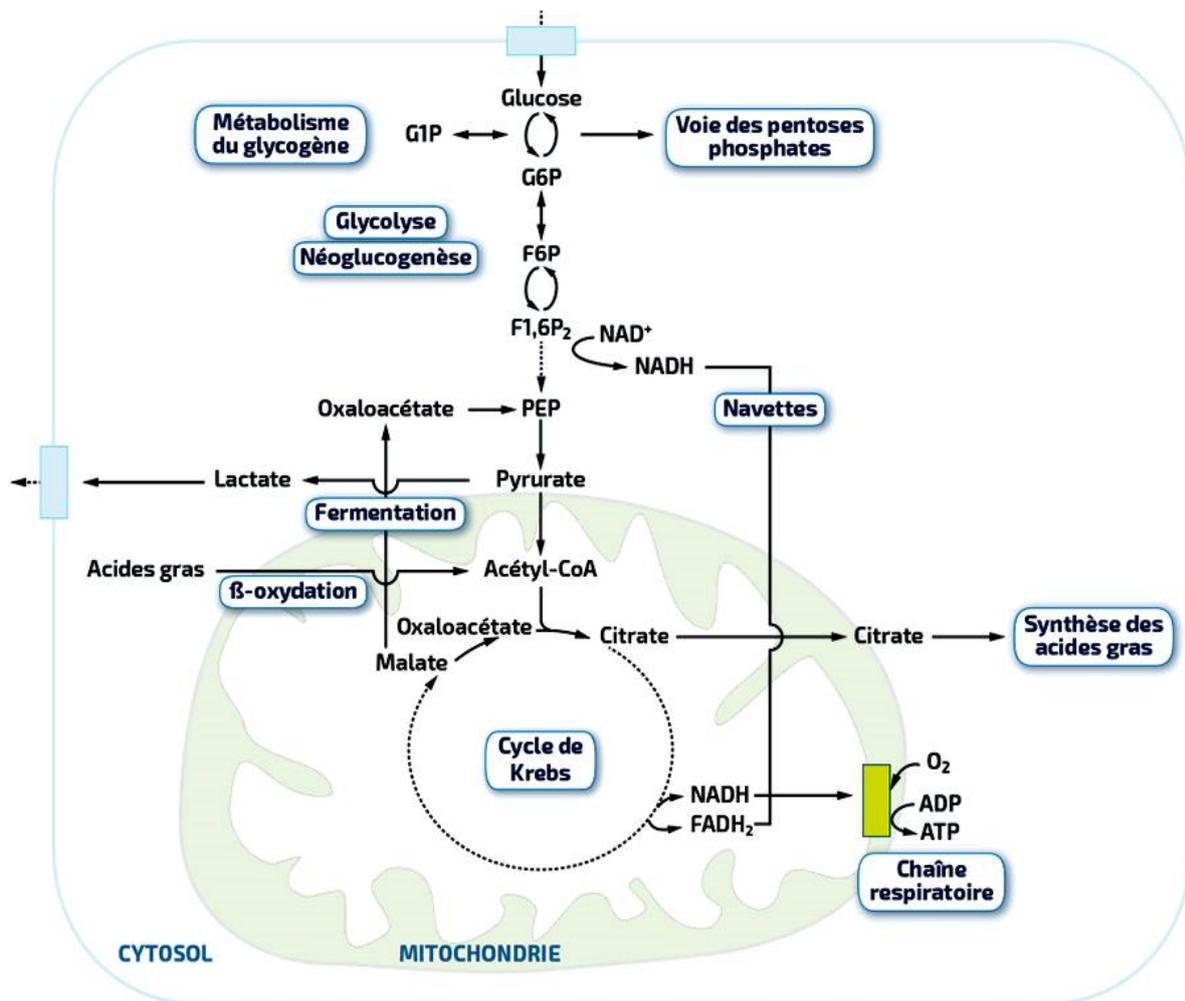
Voici une vue d'ensemble de certaines des principales voies métaboliques :

1. **Glycolyse** : La glycolyse est la première étape de la dégradation des glucides. Elle se déroule dans le cytoplasme et consiste en une série de réactions qui transforment une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate. Cette voie métabolique produit également de l'ATP et du NADH.
2. **Cycle de Krebs (ou cycle de l'acide citrique)** : Le cycle de Krebs se déroule dans les mitochondries et complète la dégradation du pyruvate en produisant du CO<sub>2</sub>, de l'ATP, du NADH et du FADH<sub>2</sub>. Ces composés énergétiques sont ensuite utilisés dans la chaîne de transport des électrons.
3. **Chaîne de transport des électrons (chaîne respiratoire)** : Cette voie métabolique se trouve également dans les mitochondries et utilise les électrons produits lors de la glycolyse et du cycle de Krebs pour produire de grandes quantités d'ATP par **phosphorylation oxydative**.
4. **Bêta-oxydation** : La bêta-oxydation est le processus de dégradation des acides gras pour produire de l'ATP. Elle se déroule dans les mitochondries et est essentielle pour la combustion des graisses comme source d'énergie.
5. **Gluconéogenèse** : La gluconéogenèse est l'inverse de la glycolyse. Elle permet la synthèse de glucose à partir de précurseurs non glucidiques, tels que les acides aminés et le lactate, pour maintenir une glycémie adéquate en cas de jeûne prolongé.

6. **Catabolisme des acides aminés** : Les acides aminés provenant de la dégradation des protéines peuvent être convertis en pyruvate, acétyl-CoA ou d'autres composés métaboliques pour la production d'énergie ou la synthèse de nouvelles protéines.
7. **Voies métaboliques des lipides** : Outre la bêta-oxydation, les lipides peuvent être synthétisés à partir de précurseurs tels que l'acétyl-CoA pour former des triglycérides, des phospholipides et d'autres molécules lipidiques.
8. **Voies métaboliques des nucléotides** : Les nucléotides, les constituants de base de l'ADN et de l'ARN, peuvent être synthétisés ou dégradés par une série de réactions métaboliques pour répondre aux besoins cellulaires.
9. **Voies métaboliques spécifiques aux organes** : Certains organes, tels que le foie, les muscles et le cerveau, ont des voies métaboliques spécifiques qui répondent à leurs besoins énergétiques et fonctionnels uniques.

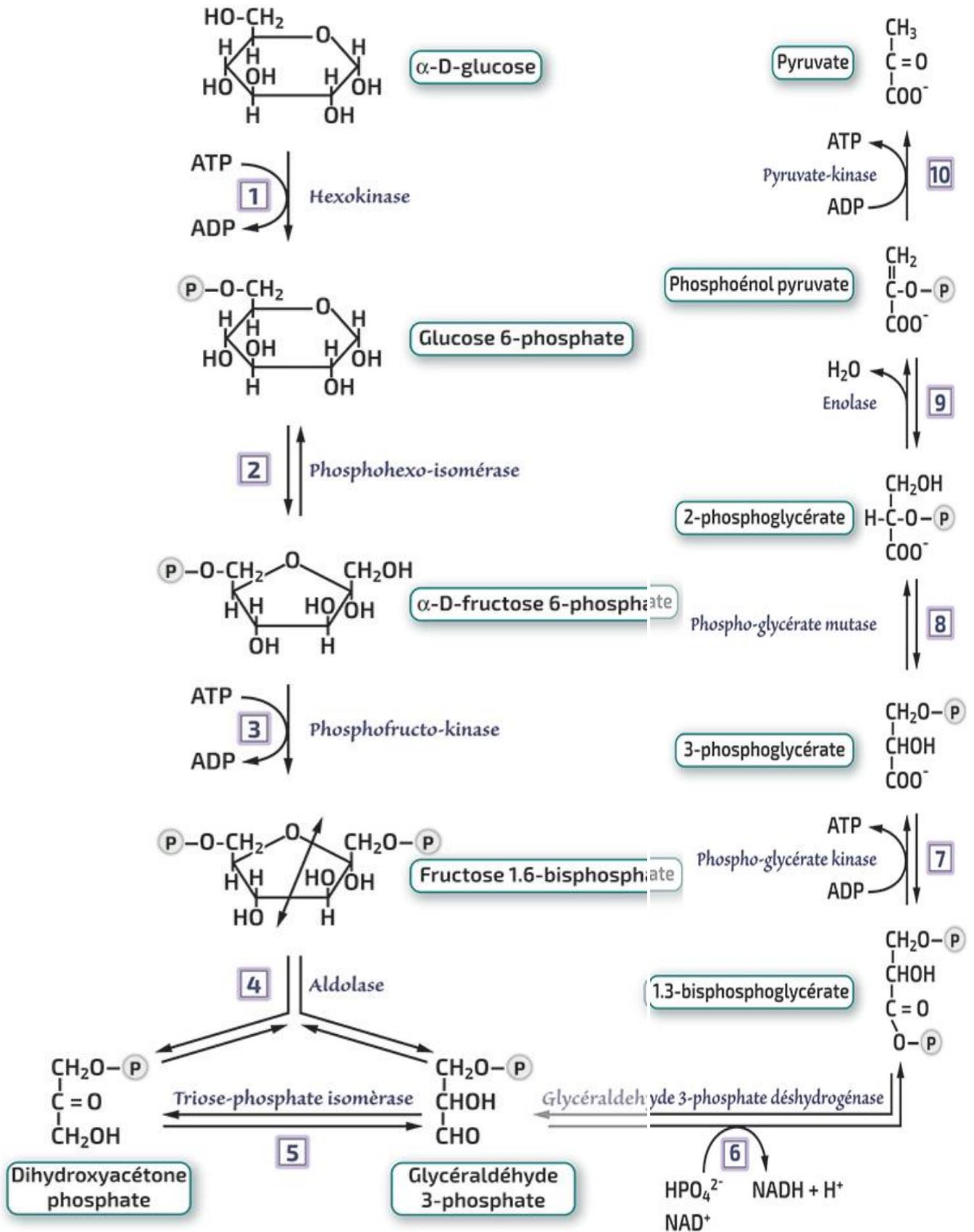
### Vue d'ensemble de différentes voies métaboliques



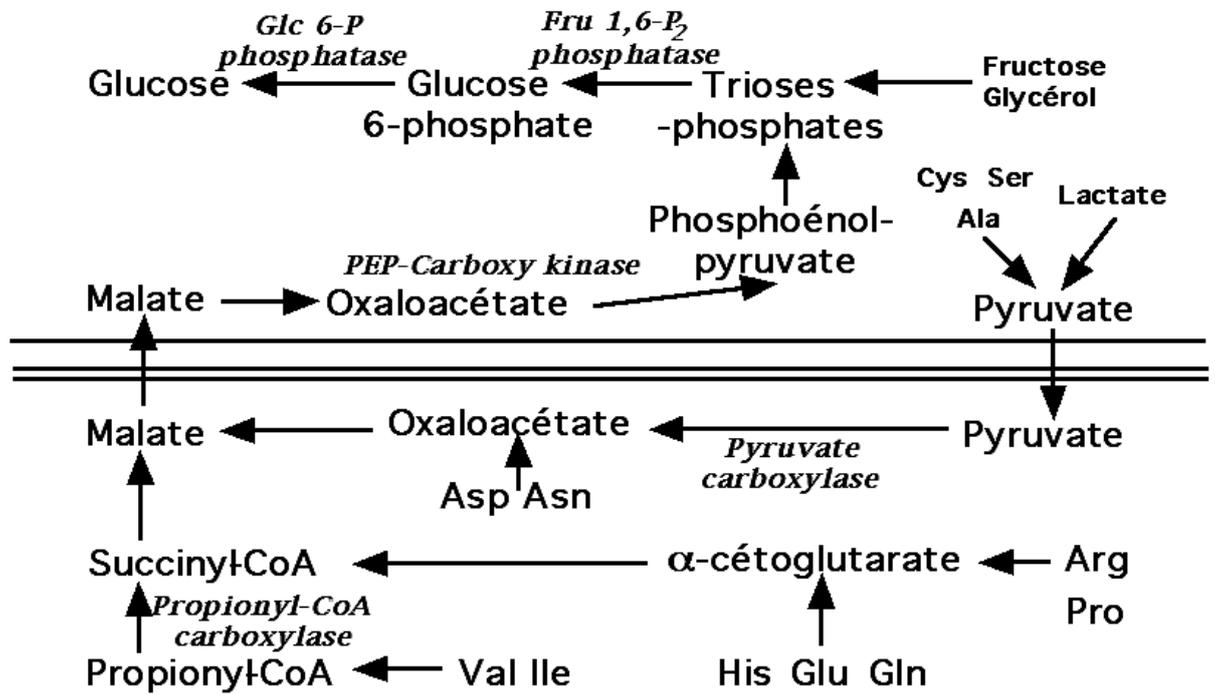


Les principales voies métaboliques des glucides comprennent :

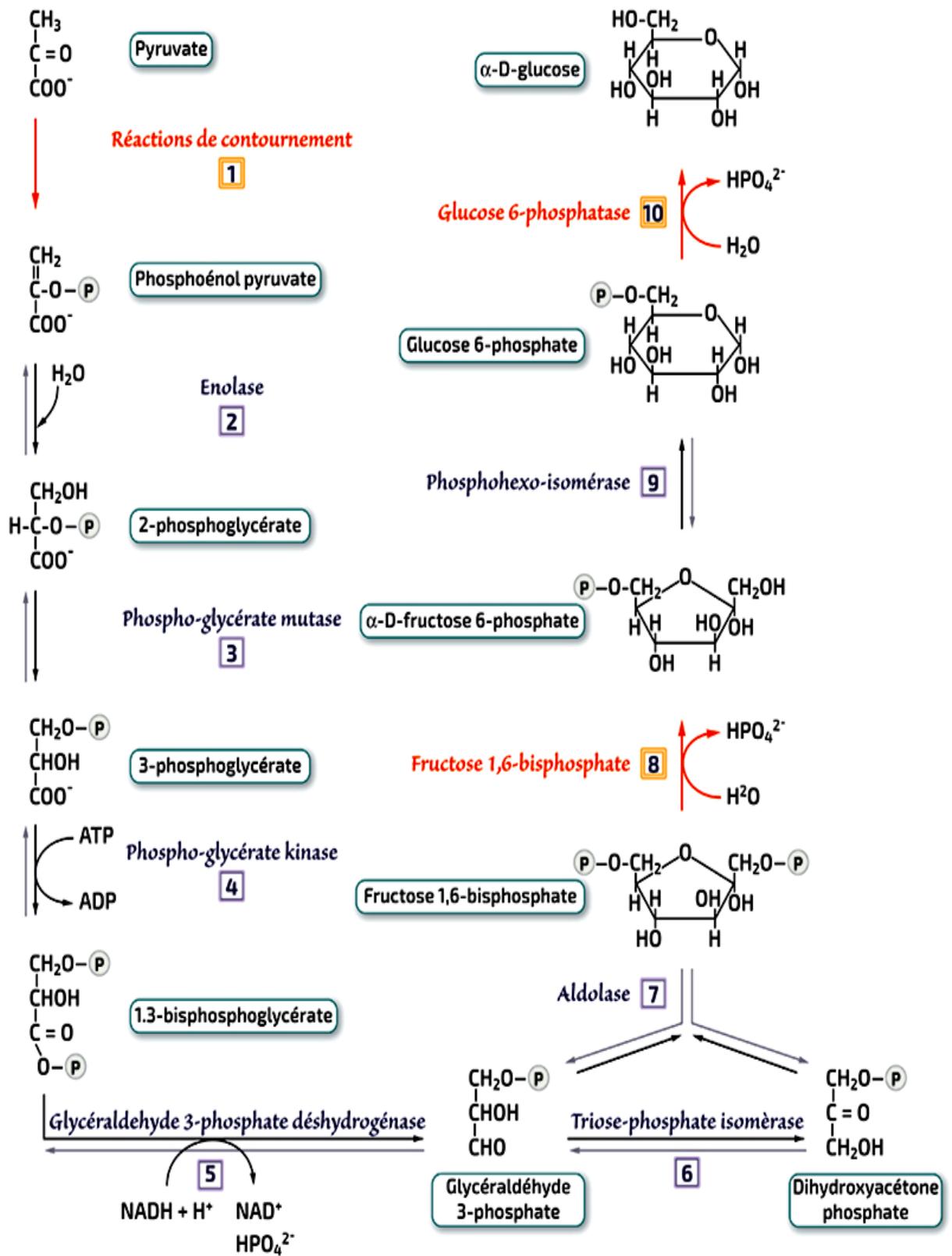
# 1. Glycolyse :



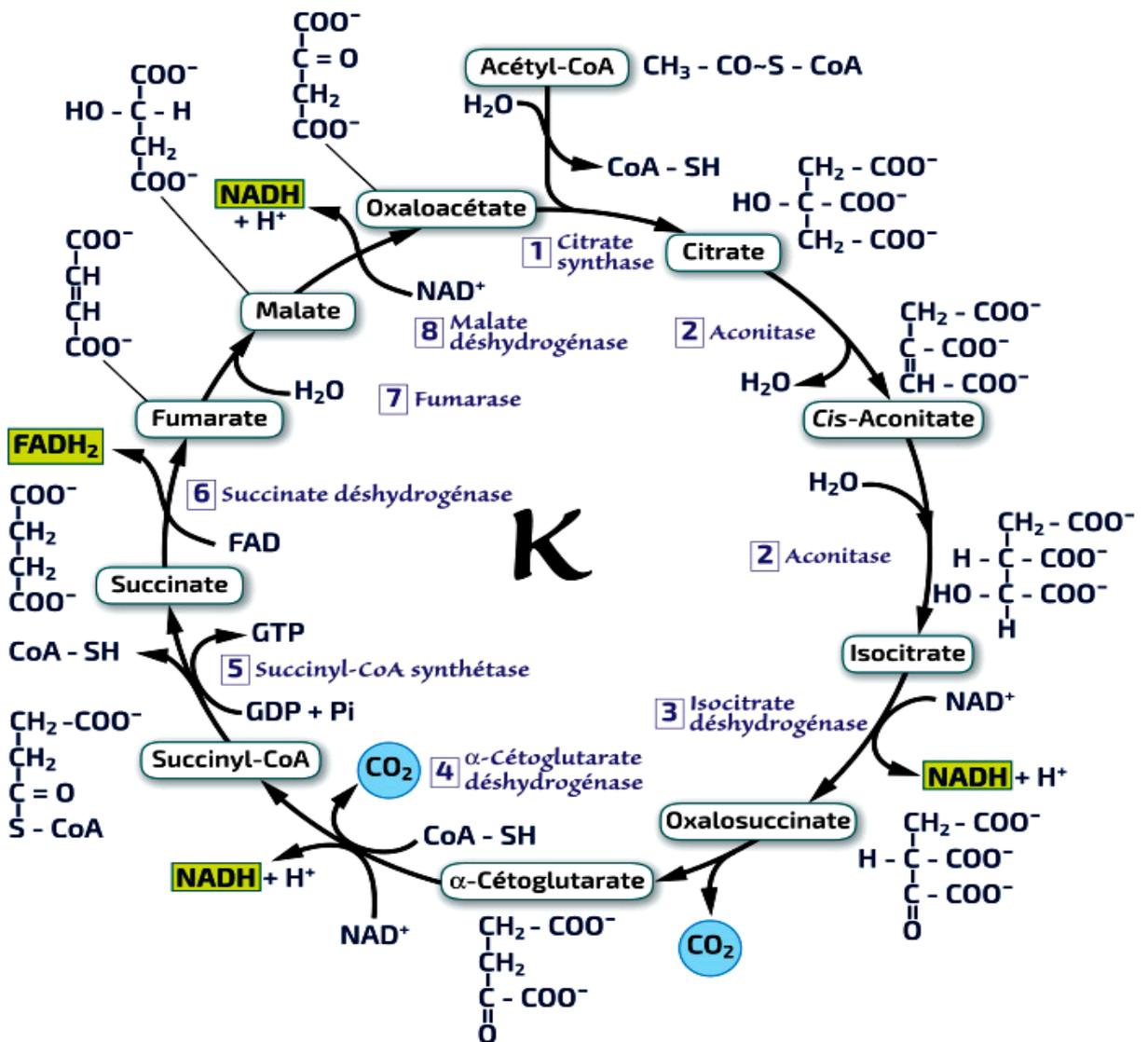
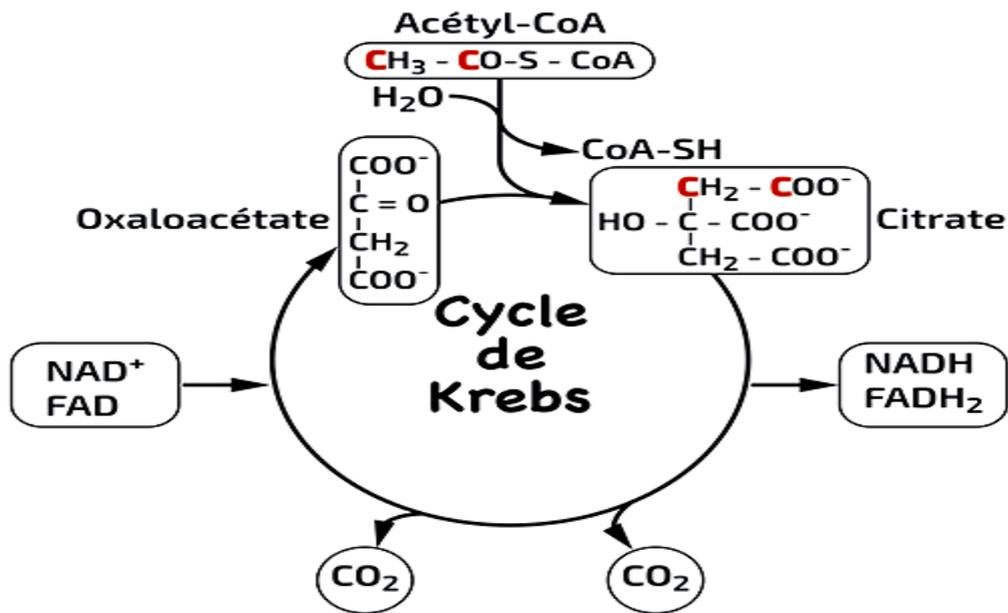
## 2. Gluconéogenèse



3. :

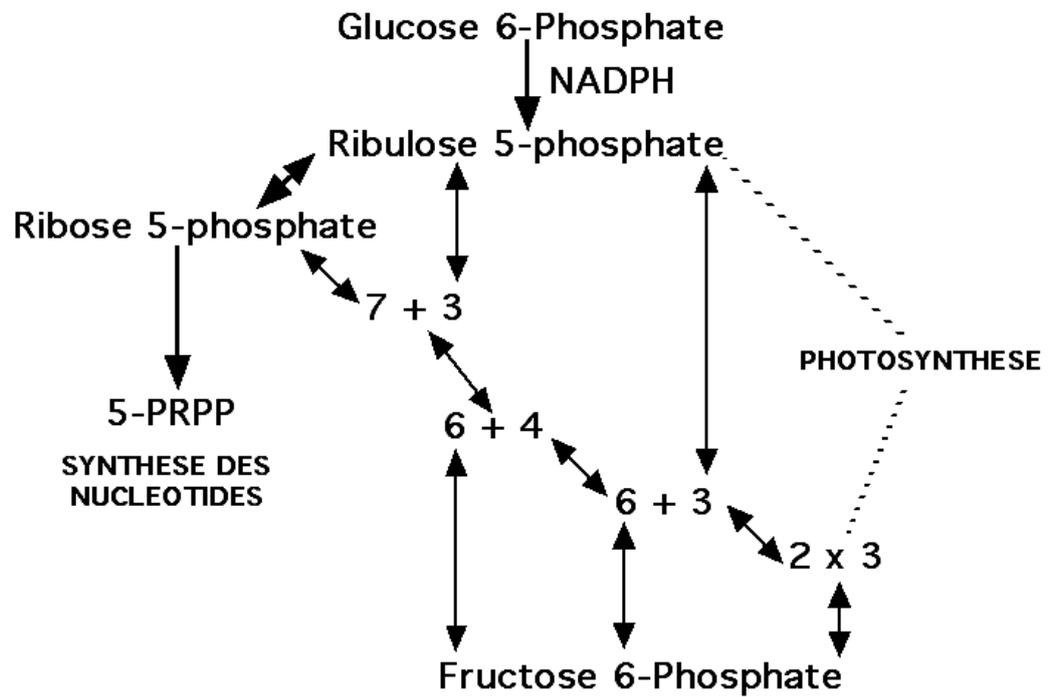


4. Cycle de Krebs (Cycle de l'acide citrique) :



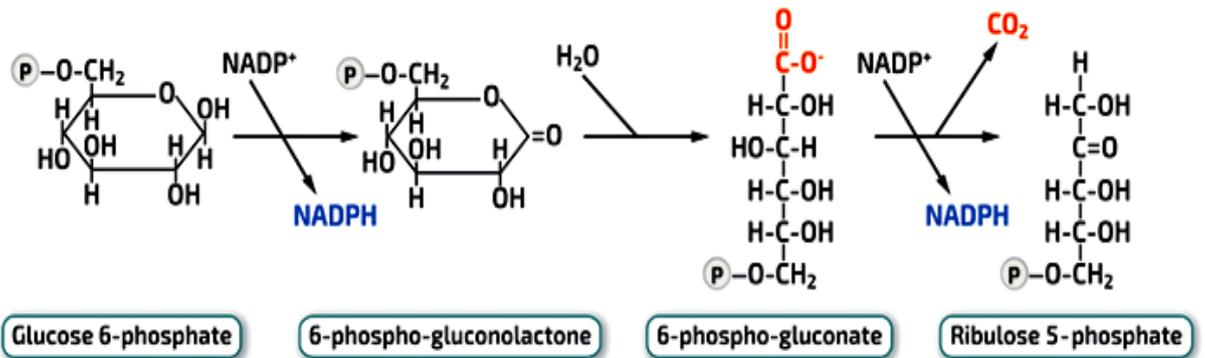
5. Voie des Pentoses Phosphates

6. :

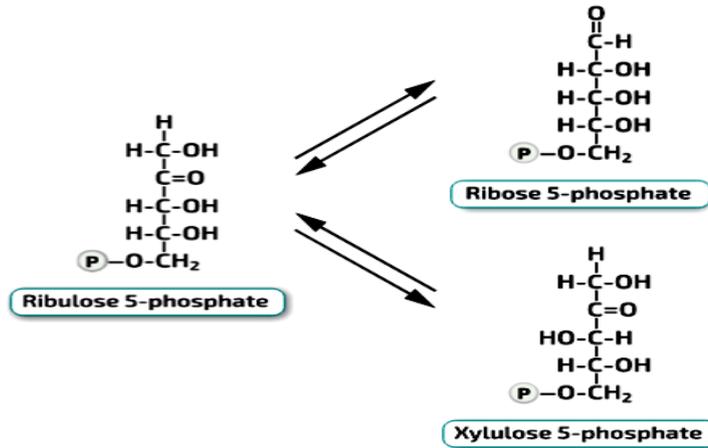


qui se divise en deux parties :

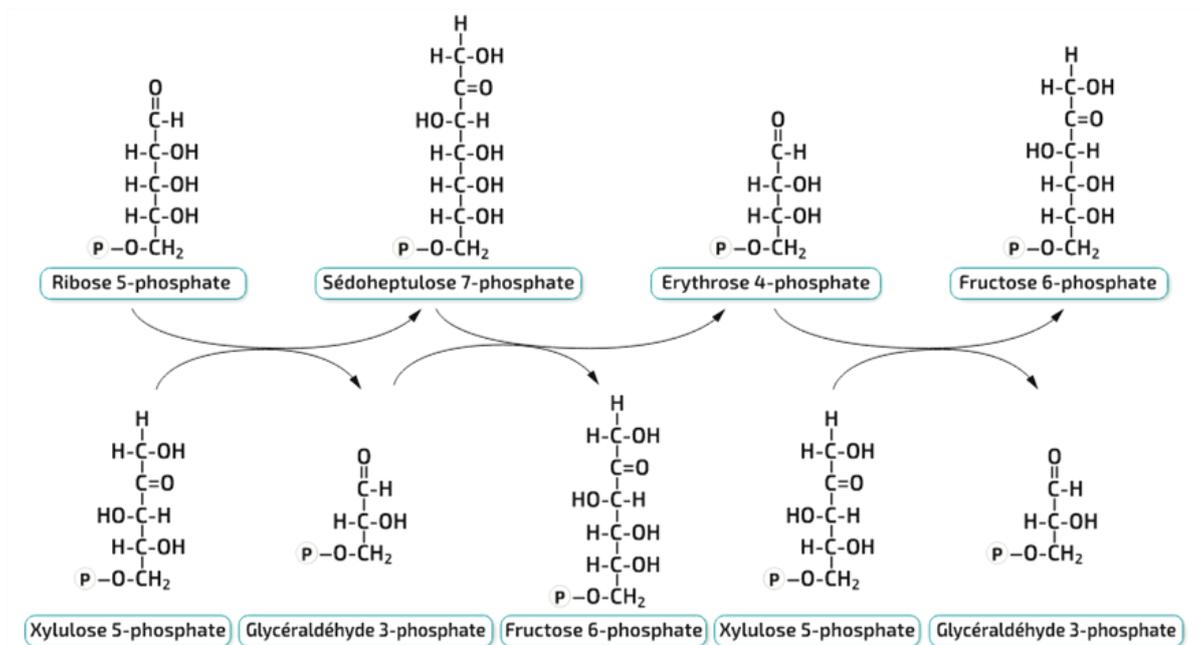
- un segment oxydatif irréversible



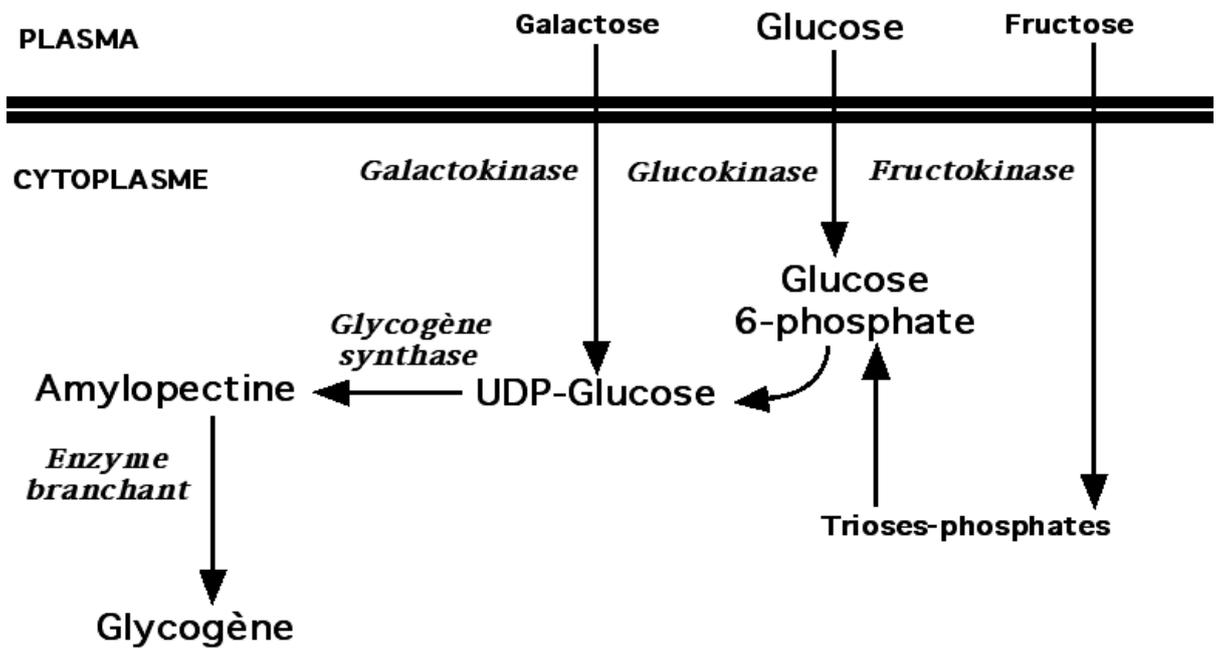
- un segment non oxydatif réversible.



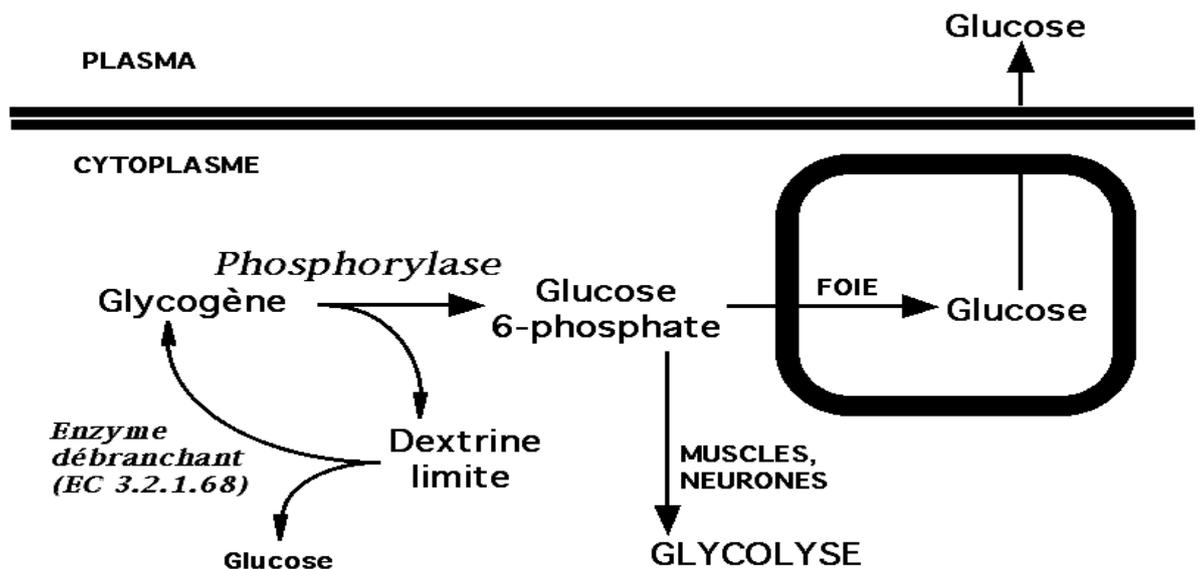
### Etapes de conversion des pentoses phosphates



7. **Glycogénèse** : Les glucides sont stockés sous forme de glycogène, principalement dans le foie et les muscles. La glycogénèse est la synthèse du glycogène à partir de glucose.



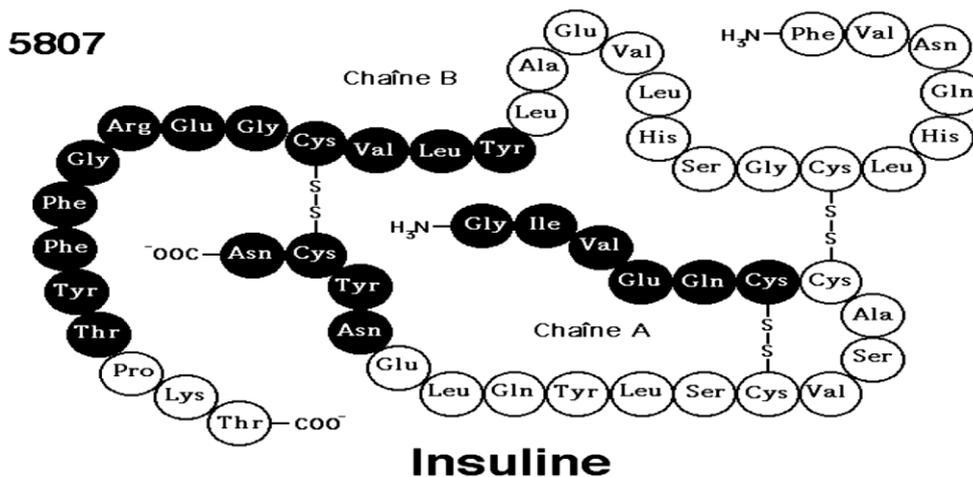
8. **Glycogénolyse** : Lorsque l'organisme a besoin de glucose, le glycogène est dégradé en glucose pour répondre aux besoins énergétiques immédiats.



## La Régulation du Métabolisme des Glucides par des Hormones

**Insuline** : Hormone peptidique à deux chaînes d'acides aminés : une chaîne A de 21 acides aminés et une chaîne B de 30 acides aminés.

- Sécrétée par le pancréas (cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans), dès que le taux de glucose dans le sang (glycémie) dépasse  $6.10^{-3}$  M.
- Hormone hypoglycémiante : elle favorise le retour de la glycémie à la valeur basale de  $5.10^{-3}$  M.
- L'insuline active le mouvement des transporteurs de glucose dans les membranes plasmiques, ce qui favorise le transport actif du glucose vers le cytoplasme.
- L'insuline diminue les taux des messagers secondaires : AMPc et  $Ca^{++}$ , ce qui entraîne les effets suivants :
  - inhibition de la gluconéogénèse (action antagoniste de celle du glucagon et du cortisol)
  - activation de la glycogénogénèse
  - inhibition de la glycogénolyse
  - activation de la lipogénèse
  - inhibition de la lipolyse.

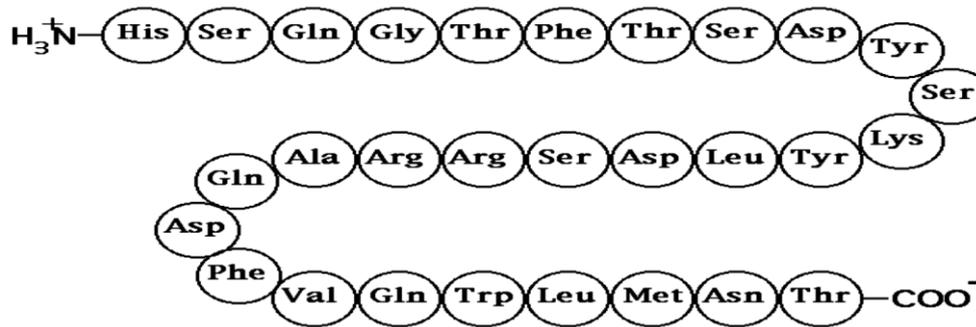


**Glucagon** : Hormone peptidique de 29 acides aminés.

- Sécrété par le pancréas (cellules A2 des îlots de Langerhans), dès que le taux de glucose dans le sang (glycémie) est inférieur à  $4.10^{-3}$  M.
- Hormone hyperglycémiante : elle favorise le retour de la glycémie à la valeur basale de  $5.10^{-3}$  M.
- Le glucagon augmente le taux de l'AMPc, ce qui entraîne les effets suivants :
  - activation de la gluconéogénèse (action antagoniste de celle de l'insuline)
  - activation de la glycogénolyse
  - inhibition de la glycogénogénèse
  - activation de la lipolyse

— inhibition de la lipogénèse.

**3485**



**Glucagon**

**L'adrénaline** : Sécrétée par les glandes médullosurrénales.

• Hormone de réponse au stress, elle augmente le taux de l'AMPc, ce qui entraîne les effets suivants :

— activation de la lipolyse (lipase hormono-sensible du tissu adipeux)

— inhibition de la lipogénèse (foie, tissu adipeux)

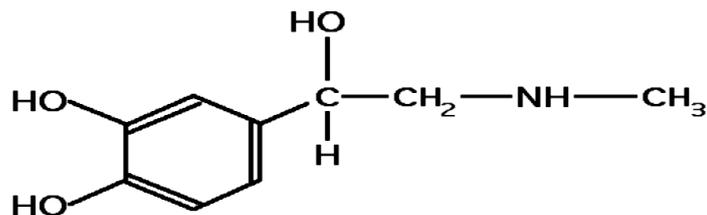
— activation de la glycogénolyse (muscle, foie)

— inhibition de la glycogénogénèse (muscle, foie)

— activation de la gluconéogénèse hépatique (action antagoniste de celle de l'insuline).

• L'adrénaline est aussi sympathomimétique : elle accélère le coeur (effet inotrope positif), ce qui augmente le débit d'Oxygène pour la chaîne respiratoire mitochondriale.

**183**



**Adrénaline  
(Epinephrine)**

## L'HOMEOSTASIE GLYCEMIQUE

### • Introduction:

Le glucose est un substrat énergétique essentiel. Ses sources sont représentées par les glucides alimentaires et la production endogène.

La glycémie est la concentration du glucose dans le sang. Celle-ci est soumise à une régulation physiologique étroite.

### 1. Origine exogène:

L'alimentation humaine comporte un apport en glucides qui représente environ 50 % de la ration énergétique, soit un apport moyen de 200 à 300 g/jour.

### Transporteurs de glucose :

Appartiennent à deux familles distinctes :

#### □ Les transporteurs réalisant un **symport** Na<sup>+</sup> / Glucose (SGLT):

-Dans l'épithélium digestif et le tubule rénal (néphron)

-Utilisent un gradient transmembranaire de Na<sup>+</sup> pour faire pénétrer spécifiquement le glucose dans la cellule.

#### □ Les transporteurs réalisant un **transport facilité** du glucose (GLUT):

-11 isoformes caractérisées (GLUT1 à GLUT12)

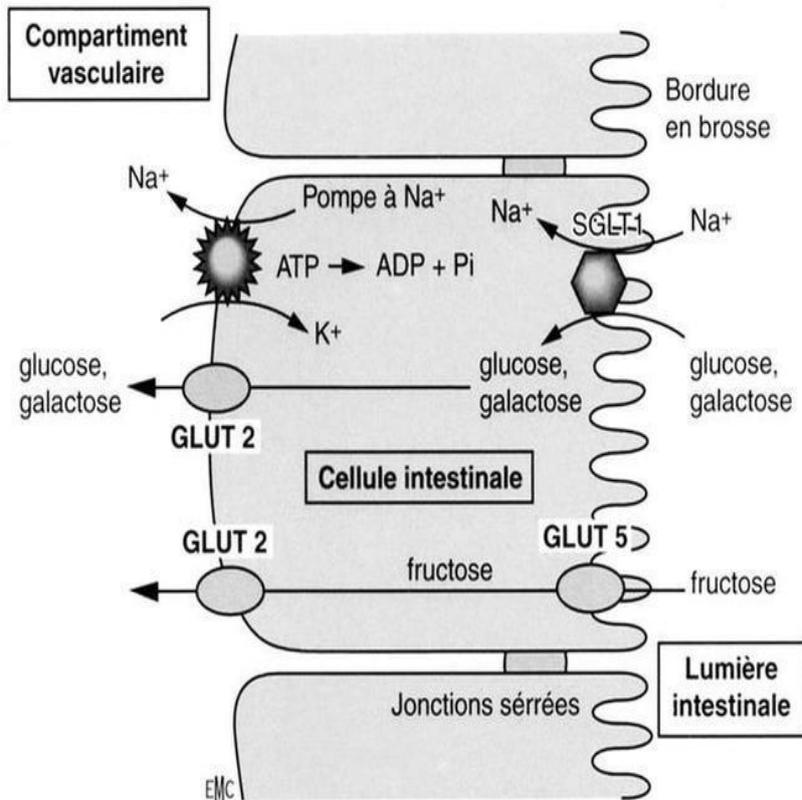
-Ces transporteurs diffèrent en termes de distribution cellulaire, de caractéristiques cinétiques et de spécificité relative aux hexoses transportés.

	<b>GLUT1-GLUT3</b>	<b>GLUT 2</b>	<b>GLUT4</b>
<b>Localisation tissulaire</b>	Ubiquitaire Surtout:GR, neurones et fibroblastes	Foie, pancréas (celB)	Muscles striés, coeur, tissus adipeux
<b>Affinité pour le glucose</b>	Moyennes	Faible	Forte
<b>Réponse à l'insuline</b>	Non insulino- dépendant Glut1 légèrement sensible	Non insulinodpendant	Insulinodépendant
<b>Rôle</b>	Entrée basale du glucose en toutes circonstances	Actif en post prandiale Transporte gluc et gal	

**GLUT5** : au niveau de la membrane luminale de l'entérocyte spermatozoïdes, muscles squelettiques et adipocytes, transporteur spécifique du fructose.

**GLUT7** : présent dans la membrane du réticulum endoplasmique hépatique.

## Absorption digestive du glucose :



### SGLT1:

- . pôle apical ( bordure en brosse)
- . Symport 1 Glu pour 2 Na
- . transport actif: concentrer le glucose dans la cellule.

### GLUT2:

- . Pôle basolatéral
- . Transport passif (facilité)

## Sortie du glucose du foie dans les périodes à distance des repas

Dans ces conditions le transporteur GLUT 2 va faire sortir le glucose du foie et recharger ainsi la glycémie.

### 2. Origine endogène:

#### À partir des glucides:

##### a. glycogène:

Par dégradation de celui-ci: la glycogénolyse se déroulant au niveau du foie et du muscle.

##### b. les autres hexoses:

Bien qu'apportés par l'alimentation, il est rare qu'ils soient utilisés comme tels et tendent à être transformés en glucose au niveau du foie.

#### À partir d'autres substrats:

Il s'agit de la néoglucogenèse à partir du glycérol et des acides aminés glucoformateurs.

Sans oublier la néoglucogenèse à partir du pyruvate et du lactate.

90% de la néoglucogenèse est assuré par le foie, 10% par les reins.

## Régulation de la glycémie:

Afin de prévenir toute accumulation du glucose après les repas, ou tout effondrement de son taux au cours de l'effort musculaire et du jeûne, l'organisme est doté d'un ensemble de systèmes permettant l'homéostasie glucidique.

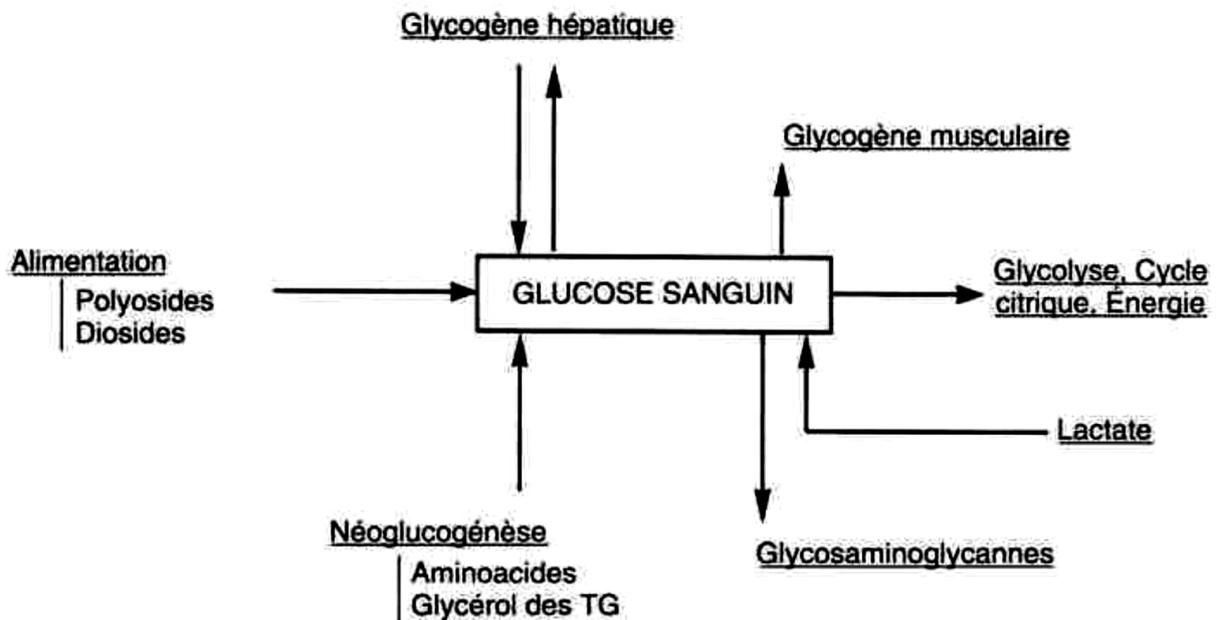
### 1. Régulation métabolique:

Tient compte des besoins de la cellule:

Besoin d'énergie : **glycolyse**

Besoin en NADPH,H<sup>+</sup> : **VPP**

Excès de glucose : **glycogénolyse**



### 2. Régulation nerveuse

Les centres hypothalamiques commandent l'appétit, la satiété et la production d'hormones hypophysaires

Le système orthosympathique et les médullo-surrénales interviennent par les catécholamines (le stress et l'hypersympathicotomie inhibent la sécrétion d'insuline induite par le glucose).

La stimulation du système parasympathique provoque au contraire une insulino-sécrétion.

### 3. Régulation hormonale

L'équilibre entre les voies consommatrices et les voies génératrices du glucose sanguin est assuré grâce à 2 systèmes endocriniens antagonistes:

-un système **hypoglycémiant** représenté par une seule hormone;

-un système **hyperglycémiant** représenté par un groupe d'hormones.

**a. Système hypoglycémiant:** c'est l'insuline.

Glycoprotéine de 51 aa.

2 chaînes peptidiques A et B de 21 et 30 aa unies par 2 pont S-S.

Synthétisée sous forme de précurseur de 84 aa: pro insuline.

Stockée sous cette forme dans l'appareil de Golgi.

Après stimulation des cellules  $\beta$  de Langerhans, la pro insuline est hydrolysée en insuline + peptide C.

Insuline et peptide C sont sécrétés en quantité équimolaire,  $\frac{1}{2}$  vie de l'insuline: 5 à 10 mn,  $\frac{1}{2}$  vie du peptide C: 20 à 30 mn

L'insuline abaisse le glucose sanguin par les mécanismes suivants:

<b>AUGMENTE</b>	<b>DIMINUE</b>
Captation cellulaire de glucose	NGG
Synthèse de glycogène	Glycogénolyse
Synthèse de protéines	Protéolyse
Synthèse d'acides gras et de TG	Lipolyse
	Cétogénèse

Le peptide C n'a pas d'activité biologique.

L'insuline est dégradée par le foie, le peptide C éliminé par le rein.

**b. Système hyperglycémiant:**

**Glucagon:**

Principale hormone hyperglycémiant;

Polypeptide de 29 aa;

Sécrété par les cellules  $\alpha$  des îlots de Langerhans;

Favorise la glycogénolyse et la néoglucogénèse hépatique;

Augmente la cétogénèse et la lipolyse.

**Cortisol:**

Stéroïde sécrété par le cortex surrénalien;

Augmente la néoglucogénèse au dépend des protéines.

**Adrénaline:**

Mécanisme d'urgence (baisse rapide);

Favorise la glycogénolyse et la lipolyse;

Inhibe l'entrée du glucose dans les tissus périphériques.

### Hormone de croissance GH:

Diminue la pénétration du glucose dans les cellules.

### Les hormones thyroïdiennes:

Augmente l'entrée du glucose intestinal dans la circulation.

Possède une action hyperglycémante limitée.

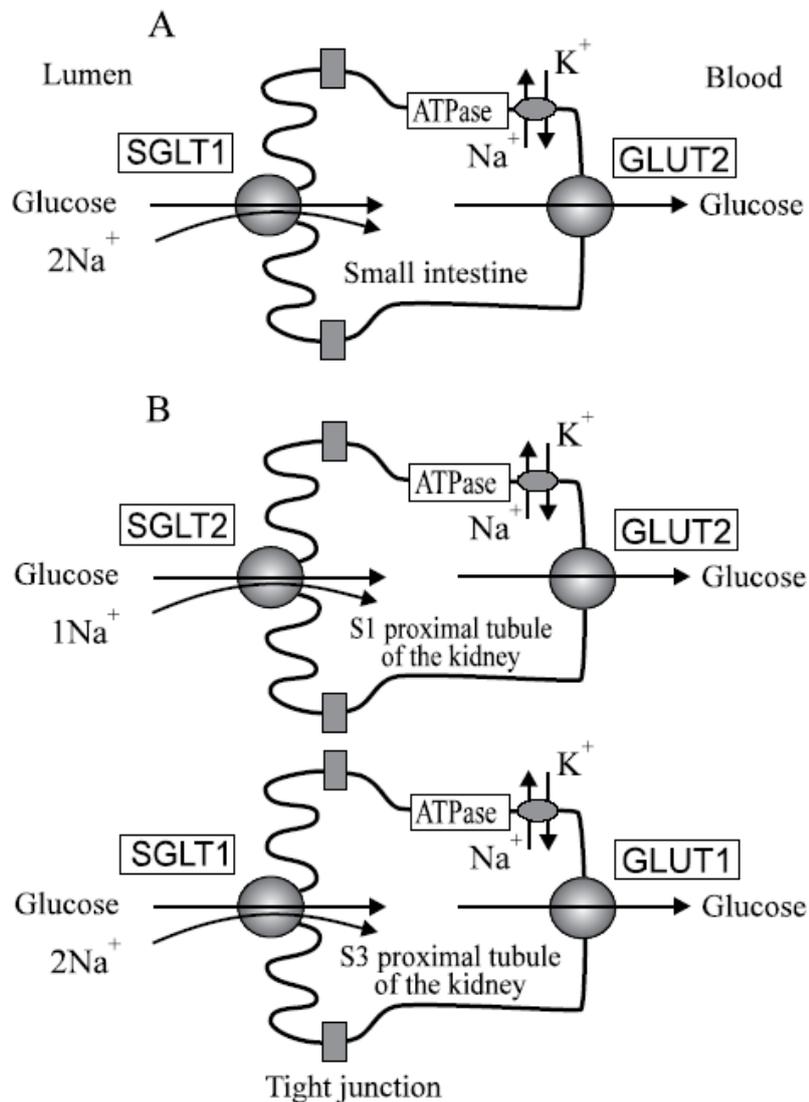
### Remarque:

Somatostatine est une hormone sécrétée en grandes quantités par les cellules D de Langerhans.

Considérée comme poison à hormone, car elle inhibe la sécrétion notamment de l'insuline, du glucagon et de la GH.

Par conséquent, elle intervient aussi dans le métabolisme glucidique.

On l'utilise dans le traitement de certaines tumeurs productrices d'hormones.



#### **4. Rôle du rein dans la régulation:**

Lorsque la glycémie dépasse 1,8g/L, la capacité de réabsorption rénale est dépassée (seuil rénal) et la glycosurie se manifeste

La réabsorption rénale se fait par le symport SGLT1 (1gluc pour 2 Na<sup>+</sup>)

Le rein participe donc, dans une moindre mesure, au maintien de la glycémie.

En résumé : Le glucose est un hexose apporté par l'alimentation, en continu mouvement entre ces sites d'absorption (muqueuse intestinale) et les sites de production endogène (foie), et ceux de son utilisation énergétique (tissus périphérique, muscle, cerveau).

La fiabilité des dosages du glucose dans les liquides biologiques repose sur le respect de rigoureuses procédures pré analytiques pour évaluer les états d'hypoglycémie ou d'hyperglycémie.

La glycémie qui représente le taux de glucose circulant dans le sang, est essentiellement régulée par un ensemble de facteurs hormonaux hypo-ou hyperglycémiant afin de maintenir sa concentration au plus près de sa valeur physiologique

Parmi ces hormones nous distinguons : celles qui sont secrétées au cours des phases d'hypoglycémie : le glucagon, le cortisol, l'hormone de croissance, l'adrénaline et la noradrénaline.

L'insuline (cellules  $\beta$  de langerhans), hormone hypoglycémiant agissant au niveau du tissu hépatique (favorisant la glycogénogénèse, inhibant la glycogénolyse et néoglucogénèse), et augmente la pénétration intracellulaire du glucose et son utilisation par les tissus.

L'insuline est essentielle pour maintenir l'homéostasie du glucose et réguler le métabolisme des lipides, des protéides et des hydrates de carbone, elle exerce un nombre important d'effets différents grâce à la liaison à son récepteur spécifique (membranaire, ayant une activité tyrosine kinase)

Toute anomalie dans l'adéquation entre le besoin en insuline de l'organisme et la concentration de glucose extracellulaire se traduit par une intolérance au glucose ou un diabète sucré.

### **L'EXPLORATION BIOCHIMIQUE DU METABOLISME DES GLUCIDES**

#### **1 -TESTS STATIQUES**

##### **1-1 –la glycémie a jeun**

a-Aspects pré analytiques :

- Mesure de la glycémie veineuse (laboratoire) réalisée après un jeun de 8 h à 12 h

□ Techniques de dosage de la glycémie : différentes techniques mais seules les techniques enzymatiques sont utilisées, vu leur spécificité, leur sensibilité, et l'automatisation de ces techniques

□ Le prélèvement doit être analysé le plus rapidement possible : du fait de la glycolyse qui se poursuit in vitro, il convient donc de séparer le plasma des érythrocytes dans l'heure qui suit le prélèvement

□ Le prélèvement sur anti glycolytiques : fluorure de sodium, oxalate de potassium est à recommander de façon systématique

b-valeurs normales : 0.70-1.10 g/l

c-variations physiologiques :

Alcool et tabac entraînent une augmentation de la glycémie

NNE : hypoglycémie néo natale

Grossesse : diminution progressive jusqu'à la 18 SA

### **1-2-la glycosurie**

Le dosage du glucose dans les urines est effectué sur une miction ou sur un échantillon des urines de 24 heures.

Il est possible de dépister une glycosurie par des bandelettes réactives utilisant la glucose-oxydase.

Le glucose n'est pas détectable chez le sujet sain à jeun

Une glycosurie est détectable en cas de dépassement du seuil de réabsorption tubulaire du glucose : TmG (1.8 g/l)

Le TmG peut être abaissé de manière permanente : diabète rénal associant une glycémie normale à la présence d'une glycosurie ou de manière transitoire : dans la grossesse.

### **1-3-la glycorachie**

le LCR pouvant être le siège d'une prolifération bactérienne, il est recommandé d'effectuer le dosage dans les plus brefs délais après le prélèvement

L'hyperglycorachie est pratiquement toujours le reflet d'une hyperglycémie

L'hypoglycorachie est observée dans certaines méningites bactériennes, dans certaines tumeurs malignes, elle peut être aussi le reflet d'une hypoglycémie.

### **1-4-l'hémoglobine glyquée : HbA1c**

Le terme d'hémoglobine glyquée désigne l'ensemble des molécules d'hémoglobine modifiées par réaction de glycation non enzymatique, qui consiste en la fixation irréversible d'oses, surtout le glucose sur les fonctions aminées libres des protéines.

Les formes glyquées de l'hémoglobine sont divers et varient selon le site de glycation et de l'ose fixé, la fraction majeure est l'HbA1c qui correspond à l'HbA ayant fixée une molécule de glucose à l'extrémité N-terminale de l'une ou des 2 chaînes  $\beta$  de la globine « valine »

La glycation est un processus physiologique dont l'intensité augmente anormalement avec l'élévation de la glycémie

Intérêt :

Le taux d' HbA1c constitue un reflet cumulatif et rétrospectif de l'équilibre glycémique des 3 mois précédant le dosage, ce marqueur constitue l'examen clé du suivi des diabétiques

### **1-5-la fructosamine**

Désigne l'ensemble des protéines glyquées présentes dans le sérum, en particulier l'albumine glyquée (80 %).

La demi-vie de l'albumine étant de 15 à 20 jours; le dosage de la fructosamine reflète l'équilibre glycémique des 2 à 3 semaines précédant le prélèvement

La valeur normale : 200 à 265  $\mu\text{mol/l}$ .

Son dosage présente plus d'intérêt que le dosage de l'HbA1c dans:

- Le diabète de type 1 (récent, instable ou mal contrôlé, pour lequel il est important de changer les doses d'insuline);
- La surveillance du diabète gestationnel
- Les hémoglobinopathies : thalassémies, drépanocytoses ; l'anémie hémolytique

### **1-6-Micro albuminurie:**

Marqueur précoce de l'atteinte rénale du diabétique, correspond à une élimination d'albumine supérieure à la normale mais inférieure à la quantité pouvant être détectée par les bandelettes réactives.

Valeurs comprises entre 30-300 mg/24h.

L'existence d'une micro albuminurie constitue un marqueur de risque cardiovasculaire chez le sujet diabétique de type 1 et de type 2

### **1-7- Paramètres biologiques de l'insulinosécrétion**

#### **Dosage de l'insuline:**

À jeun ou après une HGPO

Valeurs normales: 2 à 25  $\mu\text{u/ml}$ .

Son principal intérêt est de faire la différence entre le type 1 et le type 2 et d'explorer le degré d'insulinorésistance, généralement au cours de l'HGPO.

Chez un sujet diabétique de type 1, le taux d'insuline est bas et non augmenté au cours de l'HGPO.

Chez un sujet diabétique de type 2, le taux d'insuline est à peu près normal mais moins augmenté lors de l'HGPO que la glycémie ne le laisse prévoir. Son évaluation est un élément décisionnel pour le passage à l'insuline

### **Dosage du peptide C:**

Le clivage de la pro insuline libère en quantité équimolaire l'insuline et le peptide C.

Le peptide C est plus stable que l'insuline, son dosage permet d'évaluer la sécrétion résiduelle d'insuline chez un diabétique de type 1 et chez tout diabétique traité par l'insuline.

Le prélèvement se pratique chez un sujet à jeun depuis 12 heures

Les valeurs normales sont de 1 à 2 ng/ml.

### **1-8-Autres paramètres**

- Recherche de corps cétoniques dans le sang ou dans les urines: au cours de l'acidocétose du diabétique
- Bilan lipidique: dans l'évaluation du risque cardiovasculaire chez le diabétique.

## **2-TESTS DYNAMIQUES**

### **2-1- HGPO : (hyperglycémie provoquée par voie orale)**

Il s'agit d'une épreuve dynamique qui permet d'apprécier la tolérance glucidique en suivant les variations de la glycémie après une charge en glucose administré par voie per os

Elle permet de classer trois groupes de sujets en fonction des anomalies constatées :

- Les sujets normaux
- Les sujets diabétiques
- Les sujets intolérants au glucose : leur état est intermédiaire, stable ou évoluant vers le diabète vrai.

Indication de l'HGPO :

- Glycémie à jeun supérieur à la normale
- Glycémie à jeun normale mais présence de facteurs de risque diabétiques (obésité, hérédité, hyperlipidémie)
- Glycémie à jeun normale, mais accompagnée d'une glycosurie

Précautions :

- le patient doit être strictement à jeun depuis 12 heures
- le patient doit suivre un régime normo glycémique apportant 150 à 200 g de glucides les trois jours précédant l'épreuve
- Ne pas changer le rythme physique (repos ou sport)

Déroulement de l'épreuve

- On administre une quantité de glucose standard de 75g dissoute dans 250 ml d'eau en moins de 5min, chez l'enfant : 1.75g/kg sans dépasser 75g, 100g pour la femme enceinte
- La glycémie veineuse est mesurée à jeun puis 2h après la charge en glucose.

### Interprétation des résultats

	Glycémie avant la charge	Glycémie 2 heures après la charge
Sujets normaux	$\leq 1.10$ g/l	$< 1.40$ g/l
Sujets intolérants au glucose	1.10-1.26 g/l	$\geq 1.40$ - et $< 2$ g/l
Sujets diabétiques	$\geq 1.26$ g/l	$\geq 2$ g/l

### 2-2-Test de O 'Sullivan

- Il s'agit d'un test de dépistage d'un diabète gestationnel chez des femmes enceintes (6 et 7 mois) ayant un facteur de risque de diabète (âge, obésité, antécédent familial).
- Il s'agit d'administrer par voie orale une charge de 50 g de glucose avec dosage de la glycémie 1h après.
- Le test est considéré positif si la glycémie après 1h est  $> 1,40$  g/L. Dans ce cas, il est nécessaire de pratiquer une HGPO.

### 2-3-Epreuve de jeune

- Elle doit se dérouler en milieu hospitalier
- Elle est pratiquée sur trois jours de jeûne complet ; eau autorisée
- Pendant les trois jours de l'épreuve on réalise le dosage de : glycémie, insulïnémie, peptide C et recherche de cétonurie, matin, midi et soir
- Surveillance étroite, en cas de malaise, en urgence : faire une glycémie capillaire, si inférieure à 0.30 g/l, arrêt de l'épreuve, si survenue de manifestations neuropsychiques aiguës: arrêt de l'épreuve et réalimentation en glucose après prélèvements sanguins.
- Généralement, en cas d'insulinome, elle est le plus souvent interrompue prématurément.
- Les dosages effectués permettent de conclure à la présence d'un insulinome en cas de sécrétion d'insuline et de peptide C non adaptée à l'hypoglycémie (élevée au lieu d'être effondrée).

## **TROUBLES DU METABOLISME DES GLUCIDES**

### **LE DIABETE SUCRE :**

Le diabète sucré est un terme englobant un ensemble de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique. Cette condition résulte généralement d'un manque relatif ou absolu d'insuline, une hormone clé dans la régulation du métabolisme des glucides. Les symptômes courants du diabète incluent une augmentation de la production d'urine (polyurie), une soif excessive (polydipsie), une augmentation de l'appétit (polyphagie) et la présence de sucre dans les urines (glycosurie), d'où le terme "diabète mellitus". Cette affection représente un problème de santé publique mondial en constante augmentation, touchant des millions de personnes à travers le monde. Le diabète peut être classé en plusieurs types, dont les plus courants sont le diabète de type 1 et le diabète de type 2, chacun présentant des caractéristiques distinctes en termes d'étiologie, de symptômes et de traitement. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le diabète sucré est défini par la présence d'une hyperglycémie chronique, caractérisée par une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l à deux reprises ou une glycémie supérieure à 2 g/l à n'importe quelle heure de la journée, résultant d'un déficit de sécrétion d'insuline, d'anomalies de l'action de l'insuline sur ses tissus cibles, ou d'une combinaison des deux.

### **Classifications des Diabètes**

On distingue deux types principaux de diabète, qui représente les cas les plus fréquents de diabète: type 1 et type 2.

#### **Diabète type 1:**

##### **a. Symptômes:**

- diabète insulino-dépendant;
- touche surtout le sujet jeune (avant 30 ans);
- de survenue brutale;
- polyurie, polydipsie, amaigrissement rapide malgré un appétit vorace et une asthénie constante;

À ces signes cliniques sont associés:

- une glycosurie intense, jusqu'à 100 mg/jr;
- une hyperglycémie qui dépasse les 15mmol/l (2.7g/l)
- une acidose qui peut entraîner rapidement la mort.

##### **b. Etiologies:**

Le diabète type 1 est causé par un manque absolu d'insuline.

L'examen histologique démontre une disparition presque complète des cellules  $\beta$  de Langerhans.

Celle-ci commence plusieurs années avant l'apparition de l'hyperglycémie, et les symptômes n'apparaissent que lorsque 80% des cellules sont détruites.

Il est admis que le diabète type 1 est de cause auto-immune chez des sujets génétiquement prédisposés.

Durant la phase de destruction, le plasma renferme des Ac dirigés contre des composants naturels des îlots de Langerhans:

- Les Ac anti-îlots, ICA,
- Ac 64K réagit avec une protéine de MM 64000 et qui n'est présente que dans la membrane des cellules  $\beta$ .
- Ac anti-insuline, présents chez les diabétiques au début de la maladie, avant tout traitement insulinique.
- AC anti Gad

### **c. Perspectives thérapeutiques:**

Insulinothérapie;

Traitement immunosuppresseur avec la découverte du caractère auto-immune de la maladie  
==> destruction freinée et insulindépendance retardée.

### **Diabète type 2:**

#### **a. Symptômes:**

- Non insulino-dépendant;
- Évolution progressive;
- Symptômes peu évocateurs, découvert le plus souvent fortuitement lors d'un bilan biologique;
- 80% des cas de diabète;
- Touche les sujets de plus de 40 ans, davantage les femmes que les hommes;
- Obésité constitue un facteur de risque.

#### **b. Etiologies:**

Causé à la fois par:

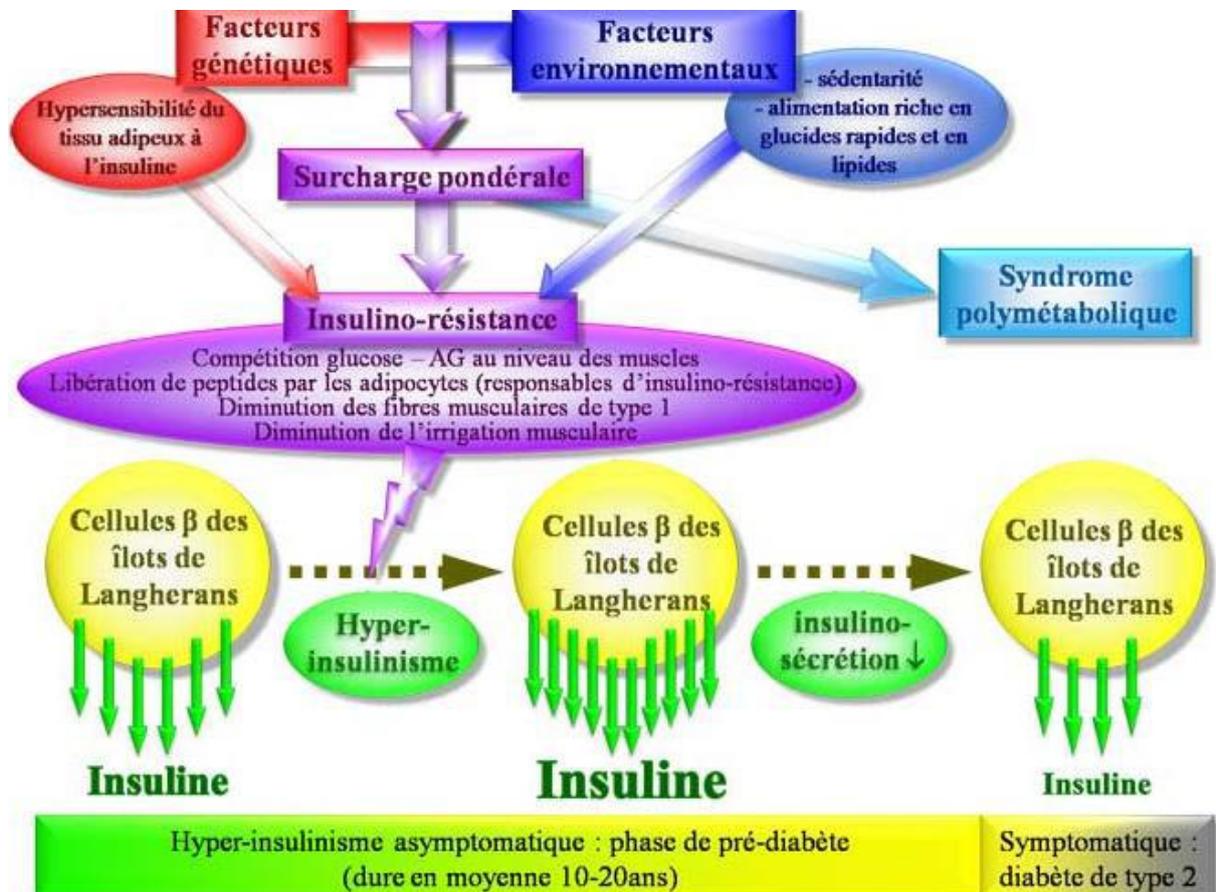
\*une résistance de l'organisme à l'action de l'insuline;

\*une diminution du pouvoir sécréteur du pancréas.

Dans la majorité des cas, le trouble réside dans l'incapacité des tissus périphériques à répondre de façon adéquate à une stimulation par l'insuline.

Il a une origine génétique, dans la mesure où un sujet dont l'un des parents est diabétique, a un plus de chance d'avoir un diabète.

### Physiopathologie du diabète de type II



### c. Traitement:

Quel que soit le mécanisme, le traitement repose sur:

- Instauration d'un régime alimentaire;
- Administration d'hypoglycémants oraux
- Insulinothérapie dans les diabètes avancés.

### Un tableau comparatif du diabète de type 1 (D1) et du diabète de type 2 (D2) :

Caractéristiques	Diabète de Type 1 (D1)	Diabète de Type 2 (D2)
Âge de début	Surtout chez les jeunes (avant 30 ans)	Généralement chez les personnes de plus de 40 ans, mais de plus en plus fréquent chez les jeunes

Étiologie	Auto-immune dans plus de 95 % des cas	Résulte principalement d'une résistance à l'insuline et d'une diminution de la sécrétion pancréatique d'insuline
Insuline	Carence absolue en insuline	Souvent une insulino-résistance avec une diminution relative de l'insuline
Symptômes courants	Polyurie, polydipsie, amaigrissement rapide malgré une polyphagie	Symptômes peu évocateurs, découvert souvent fortuitement lors d'un bilan biologique
Facteurs de risque	Facteurs génétiques prédisposants, notamment la région HLA	Obésité, prédisposition génétique, antécédents familiaux de diabète
Traitement	Insulinothérapie (injections d'insuline)	Régime alimentaire, exercice physique, hypoglycémiant oraux, insuline dans les cas avancés
Prévalence	Moins fréquent, environ 5-10 % de tous les cas de diabète	Plus fréquent, environ 90-95 % de tous les cas de diabète
Contrôle glycémique	Souvent besoin d'une gestion précise de l'insuline	Peut nécessiter un contrôle rigoureux de la glycémie et des médicaments pour contrôler la glycémie
Complications	Risque plus élevé d'acidocétose	Risque accru de complications cardiovasculaires, rénales et oculaires
Prévention	Pas de prévention connue	Prévention possible ou atténuation par le biais de modes de vie sains, de l'exercice et de la gestion du poids

<b>Caractéristiques</b>	<b>Diabète de Type 1 (D1)</b>	<b>Diabète de Type 2 (D2)</b>
Âge de survenue typique	Surtout chez les jeunes (avant 30 ans)	Généralement chez les personnes de plus de 40 ans, mais de plus en plus fréquent chez les jeunes
Déclenchement	Souvent d'installation brutale, parfois rapide	Évolution progressive, symptômes peu évocateurs
Morphotype	Pas nécessairement lié à l'obésité, souvent en apparence	Souvent associé à l'obésité, particulièrement l'obésité

	normale ou mince	abdominale
Perte de poids	Fréquente au moment du diagnostic en raison de la carence en insuline	Souvent pas de perte de poids significative au moment du diagnostic
Tendance à la cétose	Élevée, risque d'acido-cétose	Généralement faible, sauf en cas de complications
Insuline plasmatique	Faible ou absente en raison de la destruction des cellules $\beta$ du pancréas	Souvent normale ou élevée, mais les tissus périphériques ne répondent pas adéquatement à l'insuline
Histoire familiale de diabète	Souvent présente, avec des antécédents familiaux de D1 ou d'autres maladies auto-immunes	Souvent présente, avec des antécédents familiaux de D2 ou de syndrome métabolique
Association au HAL (HLA)	Forte association, notamment la région HLA	Pas d'association aussi forte avec le HLA

### Remarque:

Les termes de diabète juvénile (type 1) et de diabète de la maturité (type 2) sont obsolètes car:

**Le diabète auto-immune latent de l'adulte (LADA)**, est classé à tort dans le diabète type 2:

Développement de la maladie à un âge jeune(25 ans);

Moins souvent en surpoids;

Marqueurs sériques d'auto-immunité positifs.

Ils sont traités au départ avec succès par régime et antidiabétiques oraux, mais développent une insulino dépendance dans l'année qui suit le diagnostic.

### **Diabète de la maturité survenant chez le jeune MODY:**

Il s'agit de déficit monogénique, à transmission autosomale dominante.

Les mutations les plus fréquentes concernent le gène de la glucokinase.

Cet enzyme agit comme un détecteur du glucose au niveau des cellules  $\beta$  pancréatiques, et donc un élément clé de la régulation de l'insulino sécrétion.

### **3. Les diabètes secondaires:**

Dans 5% des cas, le diabète est secondaire à une maladie bien définie, impliquant un trouble de la glycorégulation.

Altération du pancréas	Pancréatites Cancers Ablation chirurgicale Fibrose kystique Hémochromatose
Désordres hormonaux	Acromégalie Basedow Cushing Pheochromocytome Glucagonome
Troubles hépatiques	Hépatites infectieuses ou toxiques Cancers Cirrhose
Troubles du SNC	TRAUMATISME TUMEURS MALADIES INFECTIEUSES
Médicaments	Thiazidiques, B bloquants...etc

#### 4. Diabète gestationnel:

Le diabète est dit gestationnel lorsque l'intolérance au glucose ou bien l'hyperglycémie est découverte pour la 1ère fois au cours de la grossesse:

- Il peut s'agir d'un diabète type 2 découvert fortuitement au cours de la grossesse, et qui persistera après l'accouchement. Le risque de malformations congénitales est réel.
- Il peut s'agir d'un diabète gravidique « vrai », qui apparaît vers la 26ème semaine de gestation, correspondant à la sécrétion d'HPL responsable de l'insulinorésistance.

Ce type de diabète disparaît après l'accouchement.

Le risque de malformations est écarté car l'organogénèse est terminée après la 26ème semaine de grossesse.

Dans son ensemble, 60% des femmes ayant fait un diabète gestationnel deviennent diabétiques dans les 16 années qui suivent.

#### Remarque:

Un diabète chez une femme enceinte augmente le risque de malformations, d'où la nécessité de maintenir d'un bon équilibre glycémique.

La grossesse diminue la tolérance au glucose, c'est ainsi que:

Des femmes traitées avec insuline □ de la dose pendant la grossesse;

Des femmes traitées par régime et hypoglycémifiants oraux □ mise en place d'une insulinothérapie durant la grossesse.

### **5. Intolérance au glucose:**

Elle est définie comme :

une glycémie à jeun normale, <1,26 g/L;

une glycémie élevée après une HPO, entre 1,40 et 2 g/L.

Véritable problème de santé publique:

-en tant que stade fréquent de transition vers le diabète type 2.

-en tant que facteur de risque de développement de maladie cardiovasculaire (MCV).

### **Complications du diabète:**

#### **a. complications aiguës:**

Acidocétose diabétique;

Coma hyperglycémique hyperosmolaire non cétosique;

Hypoglycémie causée par un surdosage d'insuline.

#### **□ Acidocétose diabétique:**

Complication fréquente dans le diabète type 1.

Résultat de l'exacerbation de l'état de jeûne

Associe:

#### **Hyperglycémie:**

Diminution de l'entrée de glucose dans les cellules par manque d'insuline;

Surproduction hépatique de glucose par sécrétion accrue de glucagon d'adrénaline et de cortisol (glycogénolyse et néoglucogenèse).

#### **Hyper cétonémie:**

Blocage de la synthèse des TG et activation de la lipolyse ==> oxydation des AG ==> formation des corps cétoniques: acide acétoacétonique, acide β hydroxy butyrique, acétone.

#### **Acidose:**

Accumulation des acides acétoacétiques et β-hydroxy butyrique

#### **□ Coma hyperglycémique hyperosmolaire:**

Se caractérise par une glycémie élevée et une absence de cétose.

La sécrétion pancréatique d'insuline est suffisante pour prévenir la lipolyse mais pas assez pour prévenir la néoglucogenèse et faciliter l'entrée du glucose dans les cellules.

Les symptômes du syndrome hyperosmolaire relèvent principalement de la déshydratation des cellules du SNC.

### **b. Complications dégénératives (chroniques) du diabète:**

#### **Angiopathies diabétiques:**

Complications artérielles;

**Micro angiopathie:** épaissement des parois capillaires  diminution de lumière vasculaire

privation en oxygène  agrégation plaquettaire  thrombose.

Au niveau des **Yeux et des reins**

**Macro angiopathie:** développement de lésions athérosclérotiques dans les artères de gros et moyens calibres

#### **Neuropathies diabétiques:**

Complications neurologiques:

## **2-LES HYPOGLYCEMIES**

Les hypoglycémies sont définies par un taux bas du glucose sanguin.

Les signes cliniques dépendent du degré de sévérité de l'hypoglycémie. Il existe deux types de manifestations cliniques:

Les signes neurologiques: surviennent pour un seuil glycémique inférieur à 0,50 g/l, ils sont multiples (troubles moteurs, neuropsychiques, paresthésies péri-buccales, sueurs, tachycardie...)

Le coma hypoglycémique: survient pour des taux < 0,20 g/l. Il engage le pronostic vital.

Il est de règle, chez tout patient présentant des troubles de conscience de quelque profondeur que ce soit, de mesurer immédiatement la glycémie.

Les principaux états d'hypoglycémie chez l'adulte se rencontrent :

Dans certaines intoxications : alcoolisme aigu

Dans l'insuffisance hépatique, rénale, antéhypophysaire ou le choc septique

Dans le jeûne prolongé ou la malnutrition

Lors de l'utilisation de médicaments hypoglycémisants ( thérapeutique ou effet indésirable)

Dans certains déficits enzymatiques héréditaires (enzymes de la néoglucogenèse)

Dans des dysfonctionnements hormonaux : hyperinsulinisme, déficit de sécrétion des hormones hyperglycémisants : hypopituitarisme, déficit en hormone de croissance ou en glucagon, insuffisance surrénalienne

□ **Tumeur pancréatique:** Dans les insulinomes : L'insulinome est une tumeur dans le pancréas provenant des cellules bêta et caractérisé par la production d'insuline en excès et non contrôlé

□ **Tumeurs extra-pancréatiques**

Il s'agit de tumeurs dans 45 % des cas mésoenchymateuses rarement bénignes (fibromes, neurofibromes, mésothéliomes), plus souvent malignes (sarcomes), soit intrathoraciques, soit abdominales. L'hypoglycémie est causée par la production par la tumeur d'une forme anormale d'IGF-II (Insulin-like growth factor II).

□ Après les repas, précocement (2-3 heures) ou tardivement (3-5 heures) correspondant à une vidange trop rapide du glucose dans l'intestin responsable d'un hyperinsulinisme

□ Les hypoglycémies de l'enfant ont des étiologies propres : glycémie <2.5 mmol/l et peuvent être observées avec ou sans cétose.

### **3-La galactosémie congénitale**

Galactosémie classique : due à un déficit en galactose-1-phosphate uridyl transférase (GALT) qui permet la transformation du galactose en glucose. Affection héréditaire autosomique récessive

Déficit en galactokinase

Déficit en UDP-galactose-4-épimérase (la plus rare)

Cette anomalie génétique conduit à l'accumulation du GAL-1-P, toxique à fortes concentrations :

Lésions hépatiques : ictère et stéatose, HPM, insuffisance HC

Lésions intestinales : Anorexie, vomissements

Lésions rénales

L'accumulation du galactose 1 phosphate entraînant l'activation des voies secondaires ce qui conduit à une accumulation du galactitol au niveau du cristallin provoquant une CATARACTE et du cerveau : lésions cérébrales.

Le diagnostic est apporté par la mise en évidence d'une galactosurie et d'une hypergalactosémie après les repas.

Le traitement est basé sur la suppression de l'apport de lait et des produits laitiers

4-L'intolérance héréditaire au fructose

-Causée par le déficit génétique en fructose-1-phosphate aldolase.

-Maladie génétique à transmission autosomique récessive, entraînant un trouble sévère de la néoglucogenèse à l'origine d'accès hypoglycémiques avec acidose lactique après un jeûne plus ou moins prolongé, dont l'évolution peut être mortelle.

-Les signes cliniques sont absents chez un nouveau-né durant l'alimentation exclusive au lait (maternel ou industriel sucré au lactose), ils apparaissent lors de l'introduction du fructose alimentaire sous forme de fruits, miel ou de certains légumes et sont liés à des lésions hépatiques (hépatomégalie), rénales (insuffisance rénale) et intestinales (vomissements) liés à l'accumulation du fructose-1 phosphate (F-1-P).

-Le diagnostic biochimique repose sur:

-la mise en évidence de la baisse de l'activité de la fructose-1-phosphate aldolase sur biopsie hépatique;

-l'étude moléculaire (génétique) pourrait remplacer le dosage sur biopsie;

-la mise en évidence d'une fructosémie élevée et d'une fructosurie positive en période postprandiale;

-l'épreuve de charge en fructose, du fait des risques, n'est plus réalisée.

-En l'absence d'une prise en charge précoce, cette maladie peut être mortelle. Cependant, l'évolution est favorable si adaptation alimentaire et éviction fructose et sucre de table

### 5-Les glycoséses

Sont des maladies génétiques liées au métabolisme du glycogène, pouvant affecter sa synthèse, dégradation, structure ou son stockage.

Les enzymes concernés doivent être recherchés dans les tissus spécifiques.

Certaines de ces maladies peuvent être très graves et conduire à une mort prématurée pendant l'enfance.

D'autres ont peu de conséquences et ne menacent pas la vie.

Type/nom	Enzyme déficiente	Localisation de la surcharge glycogénique	Signes cliniques	Biologie
Maladie de Von Gierke	Glucose-6-phosphatase	Foie, rein, intestin	HPM+retard de croissance	Hypoglycémie sévère
Maladie de Pompe	$\alpha(1-4)$ glucosidase	Tous les organes surtout foie et	Cardiomyopathie hypertrophique	CPK↑

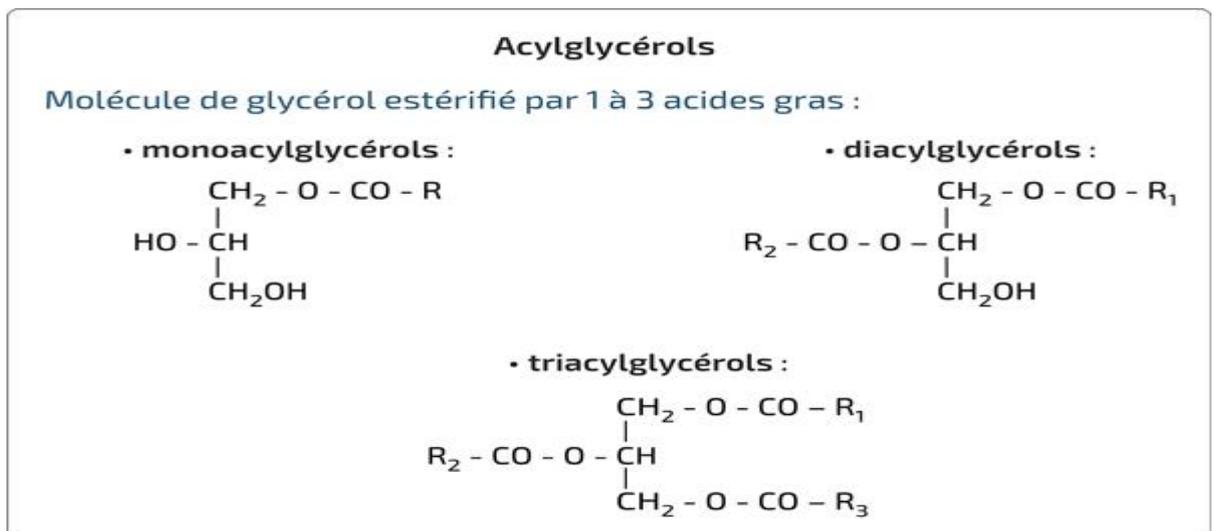
		<b>coeur</b>	<b>e. Décès avant 2ans par détresse cardiorespirat oire</b>	
<b>Maladie de Cori-Forbes</b>	<b>Amylo (1-6) glucosidase</b>	<b>Muscle et foie</b>	<b>Comme type I mais évolution clinique moins grave</b>	<b>Hypoglycémie légère pas d'acidose</b>
<b>Maladie d'Anderson</b>	<b>Enzyme branchante <math>\alpha(1-6)</math> transglucosida se</b>	<b>Foie, rate et intestin</b>	<b>Cirrhose hépatique. Insuffisance hépatocellulair e. Décès avant 2 ans</b>	<b>Glycémie normale</b>
<b>Maladie de Mc Ardele</b>	<b>Phosphorylase musculaire</b>	<b>Muscle</b>	<b>Crampes musculaires</b>	<b>Glycémie normale. Myoglobinurie après effort</b>
<b>Maladie de Hers</b>	<b>Phosphorylase hépatique</b>	<b>Foie</b>	<b>Comme le III</b>	<b>Hypoglycémie</b>

## Chapitre 2 : EXPLORATION BIOCHIMIQUE DU METABOLISME DES LIPIDES ET DES LIPOPROTEINES-ATHEROGENESE

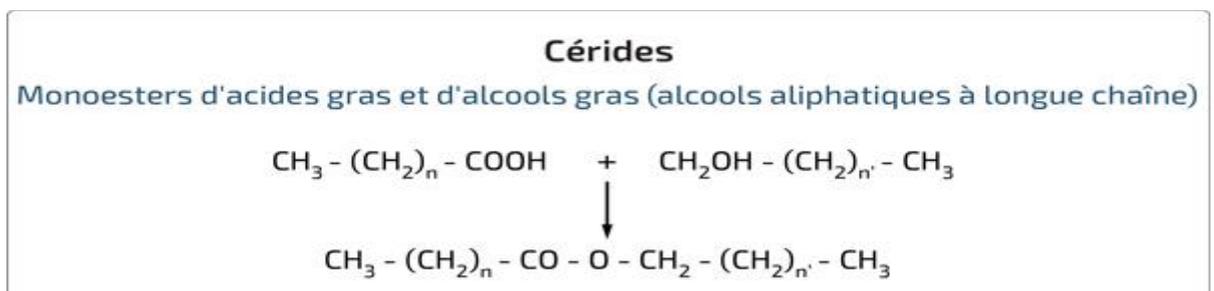
Les lipides sont une classe essentielle de biomolécules avec diverses fonctions biologiques.

### Les Principales Catégories de Lipides

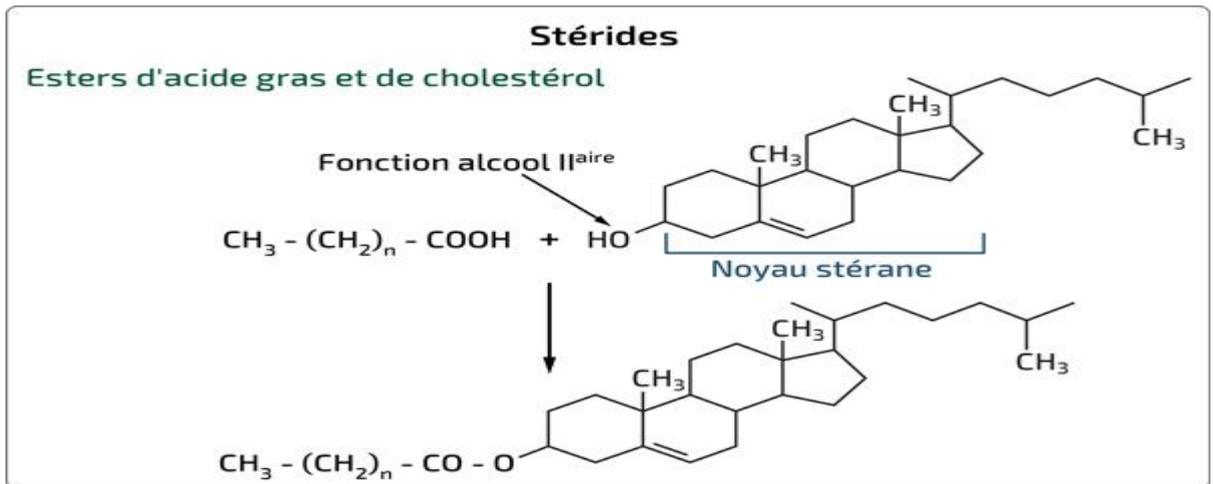
1. **Triglycérides** : Les triglycérides, également appelés triacylglycérols, sont la forme de stockage principale des lipides dans le corps. Ils sont composés de glycérol lié à trois acides gras. Les triglycérides sont stockés dans les adipocytes (cellules graisseuses) et sont une source d'énergie à long terme.



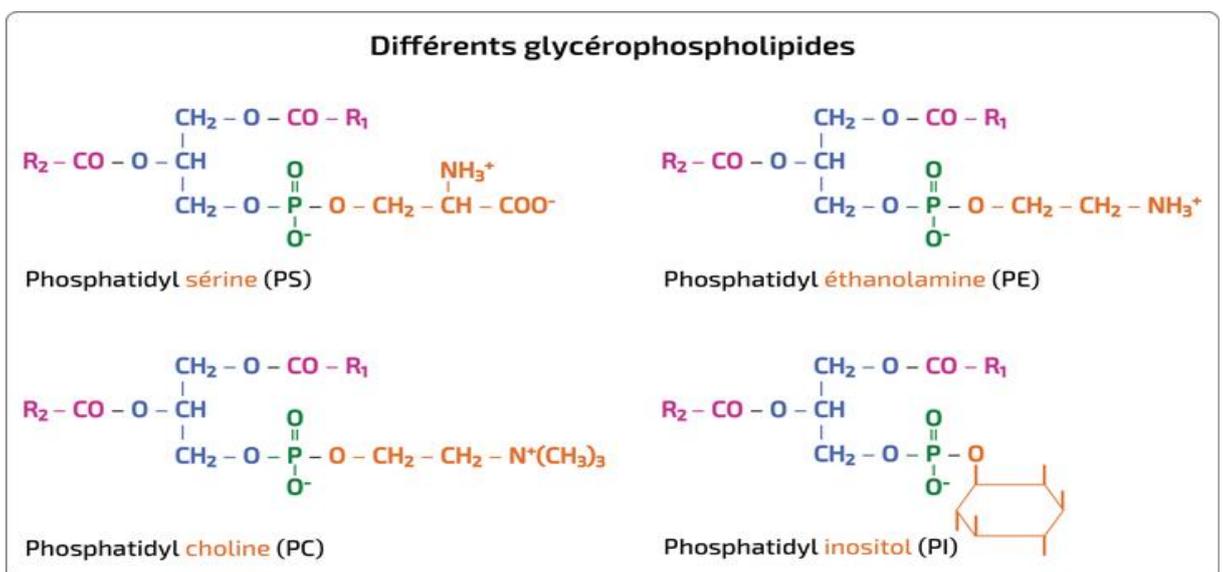
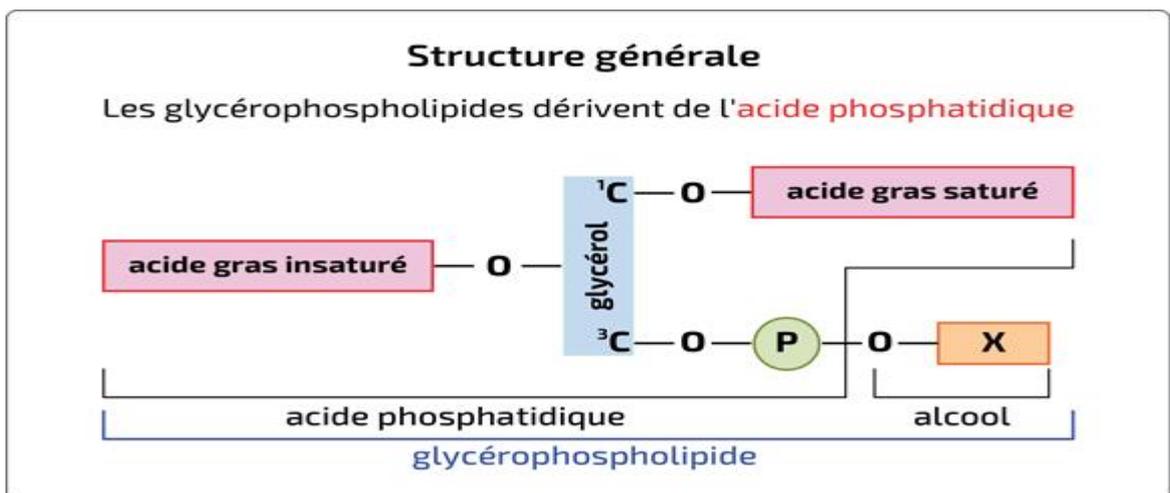
2. **Cérides** : en anglais, également connus sous le nom de cires. Les cires sont un type spécifique de lipides composés de longues chaînes d'acides gras liées à un alcool. Les cérides sont constitués d'un alcool appelé "cérésine" ou "céryl alcool" lié à des acides gras.



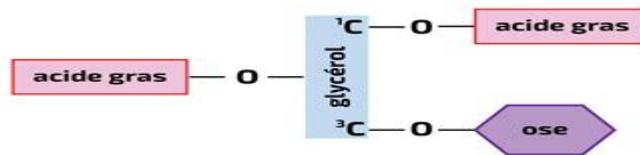
3. **Stéroïdes** : Les stéroïdes sont une classe de lipides comprenant le cholestérol, les hormones stéroïdes (comme le cortisol, l'estradiol et la testostérone) et la vitamine D. Les stéroïdes jouent un rôle clé dans la régulation hormonale, la formation de membranes et la production de bile.



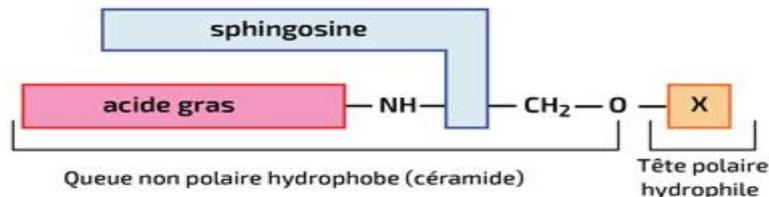
4. **Phospholipides** : Les phospholipides sont des constituants essentiels des membranes cellulaires. Ils sont composés d'une tête hydrophile (phosphate) et de deux queues hydrophobes (acides gras). Cette structure les rend amphiphiles, ce qui est crucial pour la formation des bicouches lipidiques qui forment les membranes.



### Structure générale

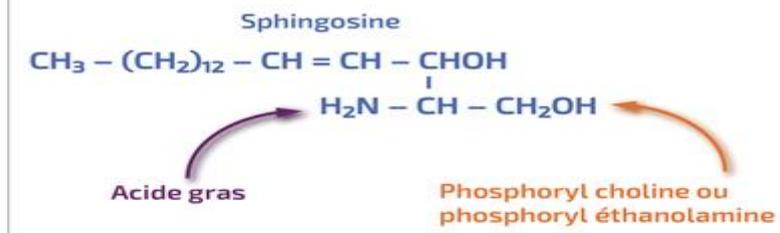


### Structure générale

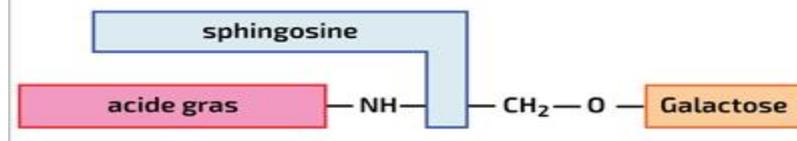


- Nature de X : sucre simple, polysaccharide, phosphorylcholine, phosphoryléthanolamine,...

### Sphingomyéline



### Galactocérebroside



### Catabolisme des acides gras

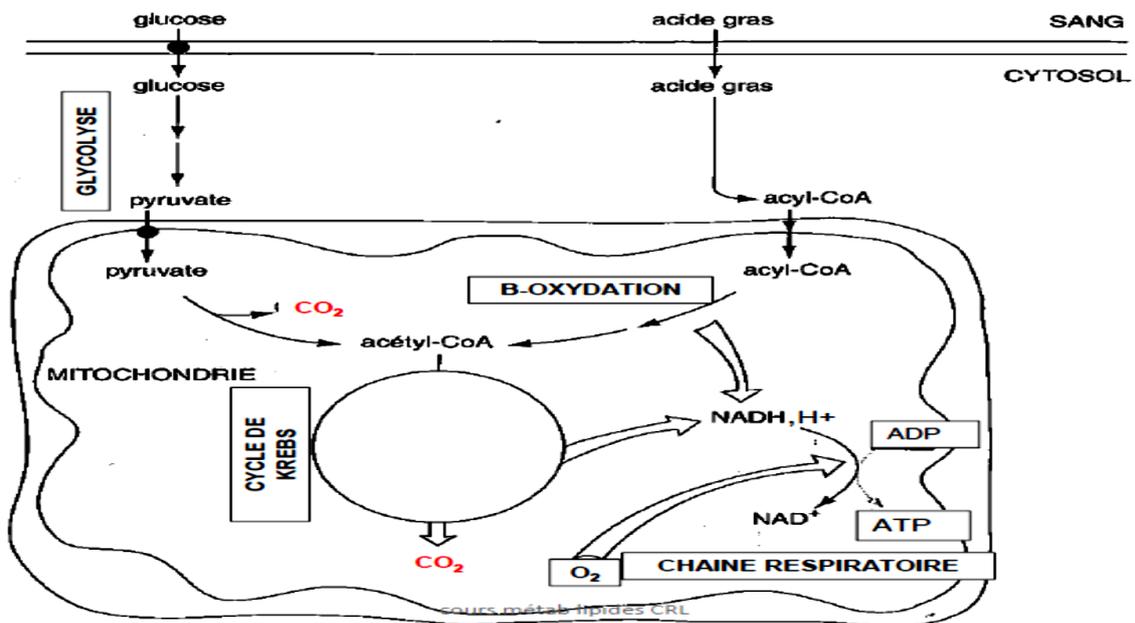
- Mise en réserve des AG sous forme de TG dans le tissu adipeux et le foie puis lipolyse = hydrolyse des TGs en AGs + glycérol
- En cas de **besoin énergétiques, catabolisme des AGs** =
  - oxydation par voie ubiquitaire mitochondriale (sauf GR et le cerveau) en aérobiose (majeure)
  - oxydation peroxysomale (mineure ; pour les AGs à longue chaîne)
  - oxydation (mitochondries)  acétyl-CoA
  - Cycle de Krebs  chaîne respiratoire
  - Transformation en corps cétoniques (foie)
- Catabolisme des acides gras :

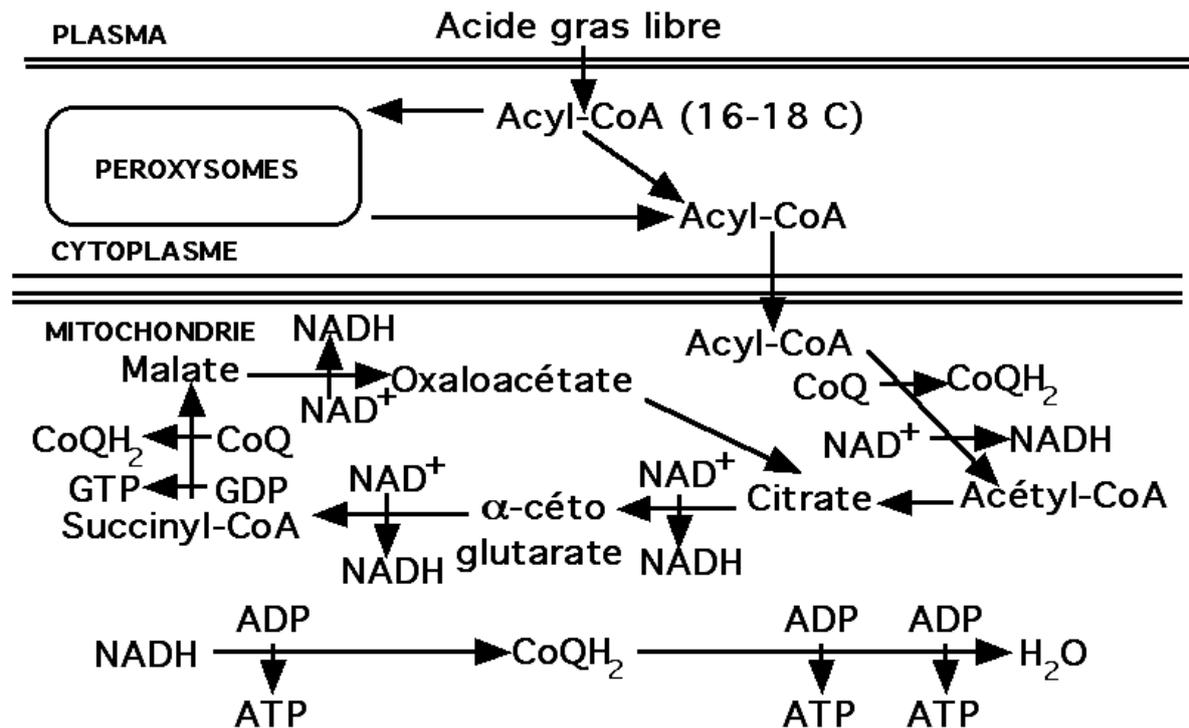
o **Voie la plus énergétique pour les cellules** (sauf pour cerveau et GR qui sont gluco-dépendants) :

- Foie, muscles squelettiques et cardiaque utilisent les AGs comme « carburant » (env 50% énergie)
- Pas dans les GR (pas de mitochondries), ni dans le cerveau (utilise les corps cétoniques qui sont hydrosolubles).

MAIS aucun organe ne tire son énergie exclusivement des lipides

- Intervient pendant le jeûne, l'effort musculaire et la lutte contre le froid





## CETOGENESE

□ Processus physiologique :

o Normalement cétogénèse faible, intervient entre les repas et pendant le jeûne (lorsque le rapport insuline/glucagon est bas)

o Offre aux tissus (cerveau surtout) des dérivés hydrosolubles comme source d'énergie (carburant relai du glucose)

o Est exagérée dans le diabète insulino-dépendant (diabète = carence glucosée intracellulaire, augmentation du glucose dans la circulation, la carence entraîne la beta oxydation des AGs et la production de corps cétoniques par la cellule) : cétose et acidose = coma acido-cétosique

La  $\beta$ -oxydation des AG donne des acétyl-CoAs qui sont pris en charge par le cycle Krebs

□ L'incorporation des acétyl-CoAs dans le cycle de Krebs dépend d'une concentration suffisante en acide oxaloacétique (OAA ou oxaloacétate)

□ La synthèse d'OAA s'effectue à partir du glucose, donc bloqué pendant le jeûne

o Dans cette situation, l'OAA sert plutôt à la synthèse de glucose (néoglucogénèse HEPATIQUE)

□ Le cycle de Krebs est bloqué (FOIE) : la cétogénèse est une voie métabolique de dérivation qui permet d'exporter les acétyl-CoAs vers d'autres cellules capables de les oxyder

## LES CORPS CETONIQUES

□ Corps cétoniques :

o Petites molécules diffusibles (sang et tissus périphériques) au nombre de 3 :

□ Acéto-acétate □

□  $\beta$ -hydroxybutyrate

□ Acétone

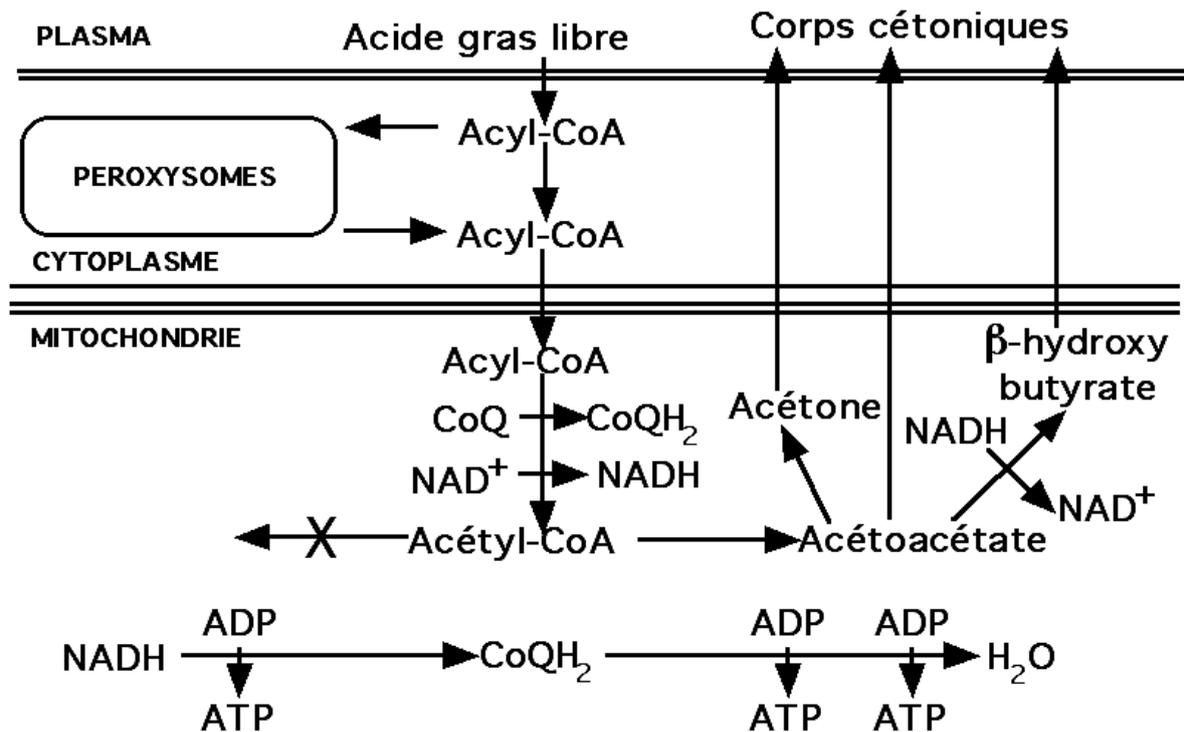
□ Synthèse à partir de l'acétyl-CoA issu de la  $\beta$ -oxydation des AG et du catabolisme des AA céto-formateurs (Leucine, Lysine)

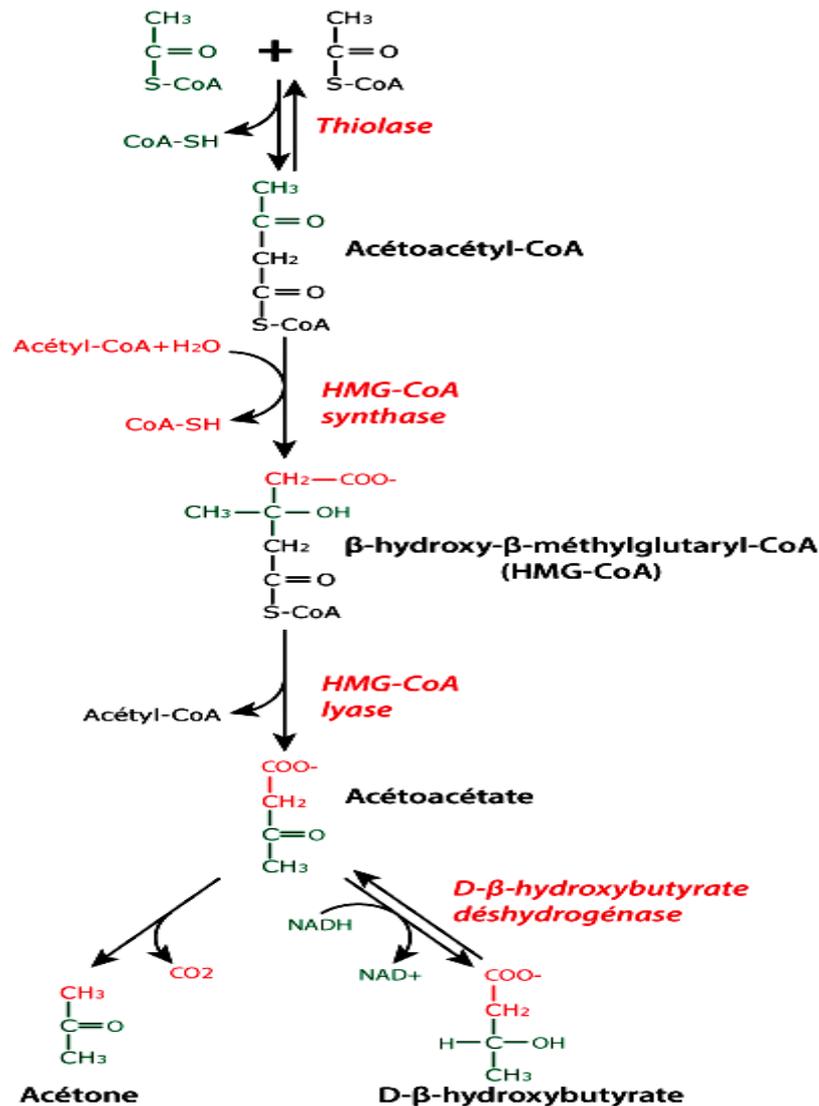
□ Tissus :

o Cétogenèse : exclusivement dans le foie (mais ne les utilise pas)

o Cétolyse : tissus extra-hépatiques (myocarde, muscles, cerveau, cortex rénal)

□ Site : mitochondrie (cétogenèse et cétolyse) : 2 voies opposées dans le même compartiment





## BIOSYNTHESE DES ACIDES GRAS

Elle correspond à la synthèse d'acide palmitique et à la synthèse des TGs.

□ Voie de biosynthèse cytosolique majoritaire :

o Pas l'inverse de la □-oxydation

o Possible dans toutes les cellules (théorique) mais très majoritaire dans le foie

o Autres tissus : tissu adipeux, glande mammaire, rein, poumons, cerveau

o Synthèse débute à partir de l'acétyl-CoA et du malonyl-CoA

o Complexe multi-enzymatique : Acide Gras Synthase

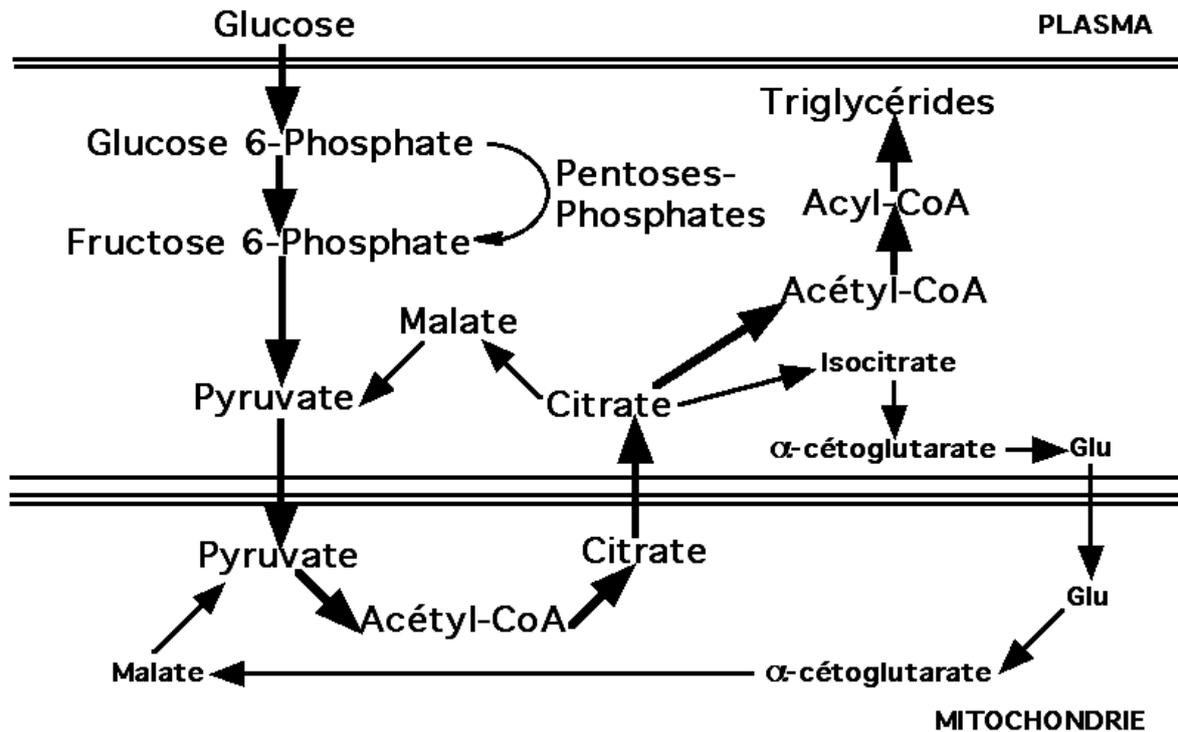
o Voie cyclique, ajout de 2 carbones à chaque tour de cycle

o Composé final : acide palmitique puis passage dans le RE (insaturation, élongation...)

## ORIGINE DE L'ACÉTYL-COA

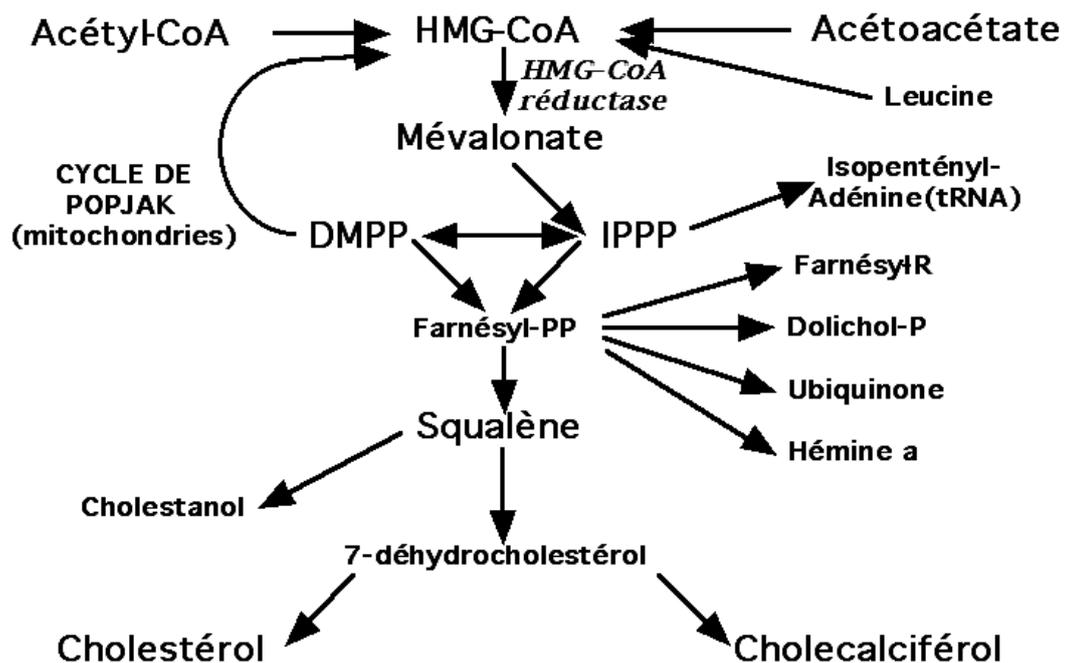
□ Des glucides par la glycolyse puis l'oxydation du pyruvate (pyruvate déshydrogénase)

- Des acides aminés dégradés directement en acétyl-CoA ou via le malate ou le pyruvate



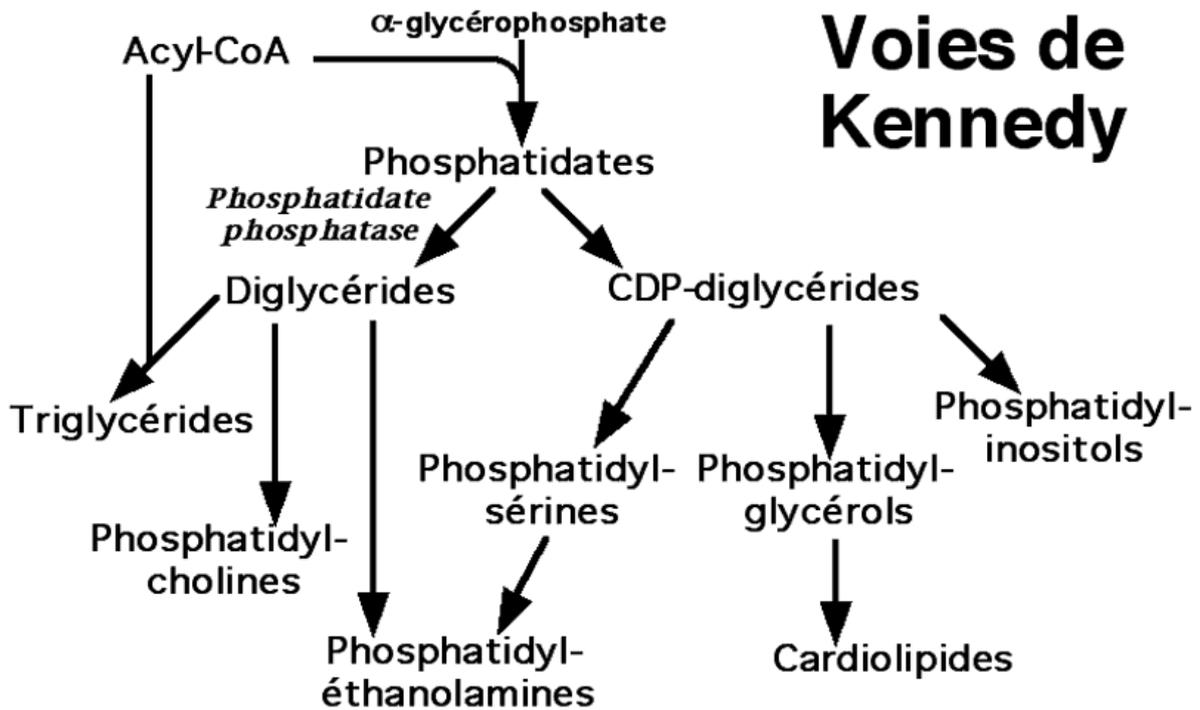
### Synthèse du cholestérol

- La synthèse du cholestérol se fait dans le cytoplasme des cellules (surtout l'intestin et le foie) à partir de l'hydroxy-méthyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA). L'HMG-CoA provient de la condensation de 3 Acétyl-CoA venant des peroxyosomes. Les acides gras à chaînes courtes (C8) et la leucine sont aussi de bons substrats pour la synthèse du cholestérol.
- L'étape d'engagement est la transformation de l'HMG-CoA en mévalonate par l'HMG-CoA réductase. Les radicaux isoprènes activés, isopentényl pyrophosphate (IPPP) et diméthylallylpyrophosphate (DMPP) sont produits à partir du mévalonate. Dans le tissu nerveux une voie mineure (cycle de POPJAK) permet de resynthétiser l'HMG-CoA à partir du DMPP.
- Les étapes intermédiaires de la voie, jusqu'au farnésyl pyrophosphate conduisent aux synthèses des radicaux isopentényl et farnésyl (modifications post-traductionnelles) et des isoprénoïdes (dolichols, ubiquinone et cytochromes a).
- A partir du squalène, débutent les synthèses des stérols : cholestanol, vitamine D et cholestérol.



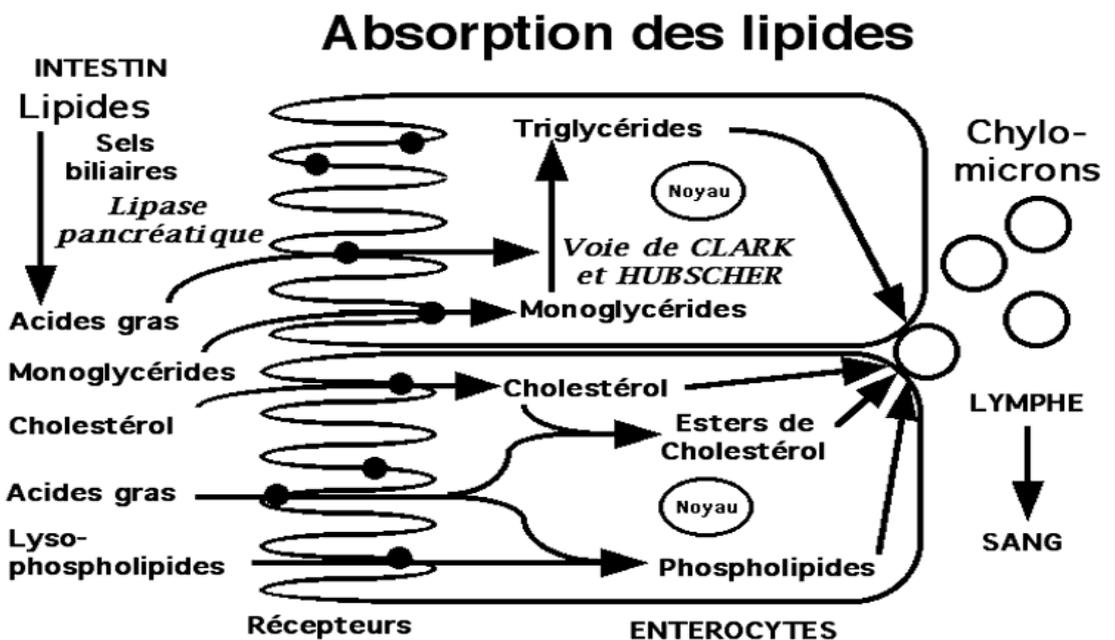
### Voies de Kennedy (schéma général)

- La synthèse des lipides par estérification des acides gras se fait sur différents alcools : glycérol (glycérides), cholestérol (stérides) et aussi par amidification de la sphingosine (sphingolipides).
- La synthèse des lipides membranaires (surtout des glycérophospholipides) se fait dans toutes les cellules de tous les organismes vivants. La synthèse des triglycérides se fait dans les cellules du tissu adipeux et un peu dans certaines autres cellules (foie). La synthèse complète de ces différents glycérolipides à partir du glycérol a été décrite par KENNEDY.
- Aux voies de Kennedy il faut adjoindre les autres synthèses de lipides ne contenant pas de glycérol : estérification du cholestérol (voir ACAT, section 8.4 page 97), synthèse des sphingolipides.
- A partir de leurs produits de dégradation (lysophospholipides, diglycérides, monoglycérides, glycolle, inositol), les lipides peuvent être resynthétisés ce qui fait l'objet d'autres voies métaboliques (réacylations, cycle de la choline, cycle des phosphoinositides). Ces resynthèses sont les voies principales de renouvellement des acides gras des lipides membranaires ou de réserve.



### L'Absorption, le Transport et le Stockage des Lipides

- Absorption** : Les lipides alimentaires sont digérés dans l'intestin grêle en présence de bile et d'enzymes digestives. Les produits de digestion, tels que les acides gras et les monoglycérides, sont absorbés dans les entérocytes (cellules de la paroi intestinale) puis réassemblés en triglycérides. Ils sont ensuite emballés dans des chylomicrons pour être transportés dans la circulation sanguine.



- Les lipides du chyme sont hydrolysés dans le duodénum par les enzymes pancréatiques : lipase, phospholipase, cholestérol estérase. L'hydrolyse des lipides nécessite une émulsification en gouttelettes grâce aux sels biliaires. Les sels biliaires sont indispensables à l'action de la lipase pancréatique ainsi qu'un cofacteur protéique, la colipase.
- Les produits de la digestion des lipides sont des monoglycérides, des acides gras, du cholestérol et des lysophospholipides. Ces nutriments sont associés aux sels biliaires sous forme de micelles qui permettent leur absorption par la bordure « en brosse » des entérocytes.
- Dans les entérocytes les lipides sont synthétisés à nouveau à partir du glycérophosphate pour les phospholipides (voie de KENNEDY) et des monoglycérides pour les triglycérides (voie de CLARK et HUBSCHER). Le cholestérol est en partie estérifié dans les entérocytes et en partie réexcrété vers la lumière intestinale.
- Les chylomicrons sont synthétisés par les entérocytes avec une partie centrale riche en triglycérides avec très peu d'esters de cholestérol et une couche superficielle contenant des apolipoprotéines (apoB48, apoA-I et apoA-IV), des phospholipides et du cholestérol libre.
- Les chylomicrons sont drainés par les chylifères, lymphatiques qui déversent la lymphe dans le sang veineux. Au cours de ce transport la couche superficielle des chylomicrons s'enrichit en apolipoprotéines d'origine hépatique (apoA-I, apoC-II, apoE).

- **Transport** : Les lipides circulent dans le sang sous forme de lipoprotéines, telles que les chylomicrons, les VLDL (lipoprotéines de très basse densité), les LDL (lipoprotéines de basse densité) et les HDL (lipoprotéines de haute densité).

Chacune de ces lipoprotéines a un rôle spécifique dans le transport des lipides vers les tissus cibles ou vers le foie pour métabolisme.

- **Lipoprotéines du plasma humain :**

Dans un sérum normal à jeun les lipoprotéines se répartissent dans un gradient de concentration saline en trois principales zones de densité :

1. **les VLDL (*Very Low Density Lipoproteins*)** : moins de 15 % des lipoprotéines du plasma à jeun,
2. **les LDL (*Low Density Lipoproteins*)** : 55 % des lipoprotéines du plasma à jeun,
3. **les HDL (*High Density Lipoproteins*)** : 30 % des lipoprotéines du plasma à jeun.

- Les HDL sont subdivisées en trois zones d'inégale importance :

— **les HDL1** les plus légères représentent une fraction mineure contenant une entité lipoprotéinique appelée Lp(a)

— **les HDL2** plus denses ont une concentration variable. Cette fraction est habituellement beaucoup plus importante chez l'enfant et la femme que chez l'homme

— les **HDL3** représentent la fraction la plus dense et quantitativement la plus importante des HDL, de concentration à peu près identique dans les deux sexes.

- Une zone de faible amplitude appelée **IDL** (*Intermediate Density Lipoproteins*) représente une sous-fraction de densité intermédiaire entre celle des LDL et des VLDL quantitativement mineure à jeun.

- Les **chylomicrons** s'isolent à une densité inférieure à celle des VLDL. Ils existent chez le sujet normal pendant les périodes postprandiales expliquant la lactescence du sérum. Les chylomicrons sont constitués à 90 % de triglycérides d'origine alimentaire.

- Les diamètres moyens (exprimés en nanomètres) des lipoprotéines, diminuent en relation inverse avec la densité. Mais dans chaque zone de densité, la taille des lipoprotéines est très hétérogène.

- Les lipoprotéines de faible densité contiennent peu de composants moléculaires de surface et beaucoup de lipides neutres :

— triglycérides dans les VLDL et IDL

— cholestérol et esters de cholestérol dans les LDL

- Les HDL possèdent très peu de lipides neutres, surtout esters de cholestérol, mais au contraire les composants de surface sont importants (phospholipides, cholestérol libre et apolipoprotéines).

<b>PROPRIETES DES LIPOPROTEINES DU PLASMA HUMAIN</b>
--

Lipo-protéine	Densité (nm)	% protéines	% lipides	Principaux lipides	Principales apolipoprotéines
Chylo-microns	<0,99	2	98	TG	B48, C-II, C-III, A-I, A-IV
VLDL	0,99-1,006	10	90	TG	B100, C-II, E
IDL	1,006-1,019	20	80	TG	B100, E
LDL	1,019-1,063	25	75	Chol	B100, Lp(a)
HDL2	1,063-1,125	50	50	PL	A-I, A-II
HDL3	1,125-1,21	50	50	PL	A-I, A-II

## Apolipoprotéines du plasma humain

### Masse moléculaire des apolipoprotéines.

— Les apolipoprotéines sont des glycoprotéines de masse moléculaire très variable : de 550000 daltons pour l'apoB100 à 6500 pour l'apoC-I.

### Répartition des apolipoprotéines dans les lipoprotéines

— Les **apolipoprotéines A-I** n'existent à jeun qu'au niveau des HDL où elles représentent 65 % des apolipoprotéines, leur taux sérique est de  $1,4 \pm 0,3$  g/L.

— Les **apoB100** se répartissent exclusivement dans les lipoprotéines de basse densité : elles représentent 100 % des apolipoprotéines des LDL et une fraction mineure (30 %) dans les VLDL. Leur concentration dans le sérum est de  $1 \pm 0,3$  g/L correspondant principalement (90 %) à celles **des apoB** des LDL.

— Les **apoC (C-I, C-II, C-III) et les apoE**, se répartissent entre les VLDL, IDL et les HDL.

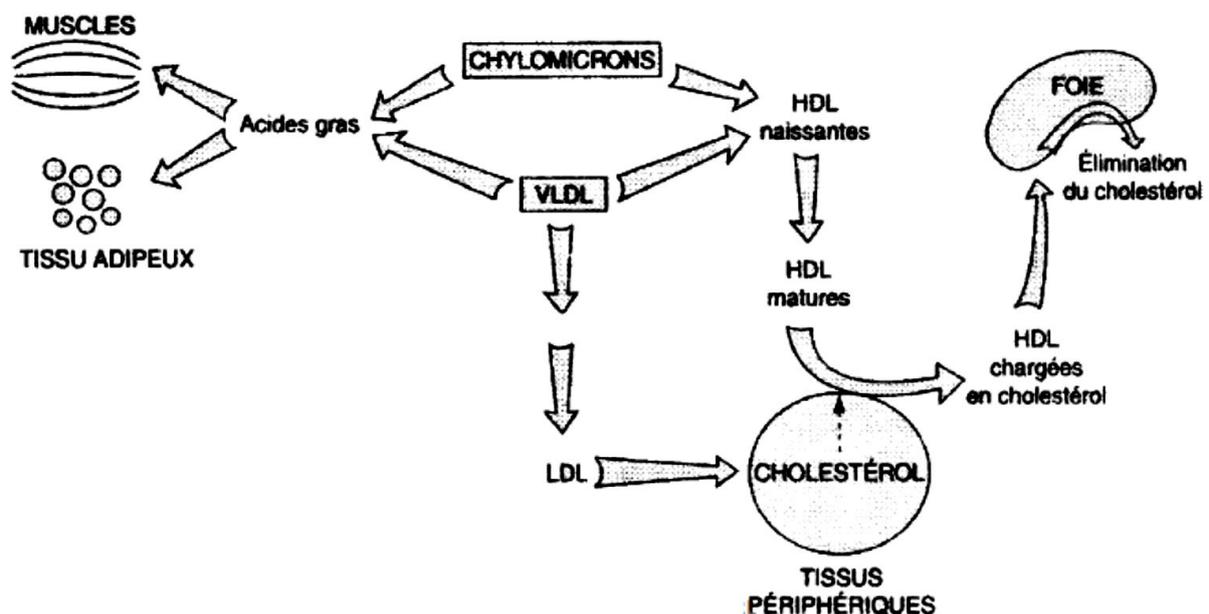
— Les chylomicrons sont constitués **d'apoA-I, A-II, C, E** d'origine hépatique et **des apoB48 et apoA-IV** d'origine exclusivement intestinale.

• Les apolipoprotéines, par leurs points isoélectriques variés, donnent aux lipoprotéines des mobilités différentes en électrophorèse :

— les HDL riches en apoA migrent parmi les  $\alpha$ -globulines, on les appelle  $\alpha$ -lipoprotéines,

— les LDL, au contraire, migrent parmi les  $\beta$ -globulines et sont appelées  $\beta$ -lipoprotéines,

— les VLDL migrent entre les  $\alpha$ -lipoprotéines et les  $\beta$ -lipoprotéines : on les désigne par  $\alpha$ 2-lipoprotéines ou pré- $\beta$ -lipoprotéines.



<b>PROPRIETES DES APOLIPOPROTEINES DU PLASMA HUMAIN</b>
---

Apolipo- protéine	Mr	Nombre d'acides aminés	Chromo- some	Concentration pl de l' plasmatique mg / l	isoforme majeure
A-I	28000	243	11	1200	5.6
A-II	16500	2x77	1	400	4.9
A-IV	46000	393	11	160	5.5
B-100	560000	4536	2	900	
B-48	255000	2152	2	0	
C-I	6600	57	19	50	8.0
C-II	8800	79	19	50	4.8
C-III	8750	79	11	130	5.3
D	29000	169	3	70	5.3
E3	39000	299	19	50	5.9

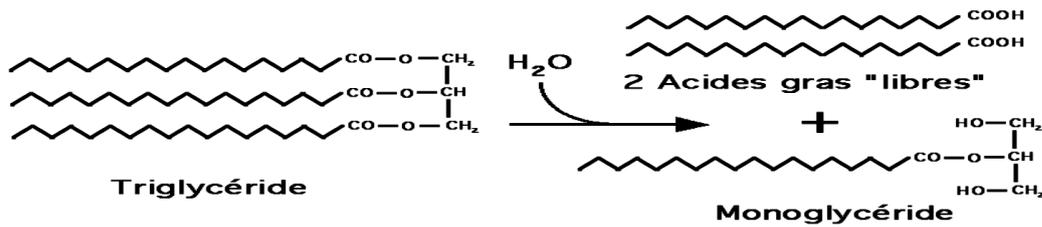
## Métabolisme des lipoprotéines plasmatiques

### 1 Lipoprotéine lipase

- La lipoprotéine lipase est une enzyme plasmatique spécifique, ce qui veut dire que le plasma est le compartiment dans lequel elle est active physiologiquement.
  - La lipoprotéine lipase (LPL) est l'enzyme qui permet l'hydrolyse des triglycérides des lipoprotéines plasmatiques : chylomicrons, VLDL.
  - L'enzyme est synthétisée par les cellules musculaires et adipeuses. Elle sort des cellules et se fixe sur les cellules endothéliales des capillaires qui irriguent les tissus qui utilisent les acides gras libres comme nutriments.
  - La LPL catalyse l'hydrolyse des triglycérides situés dans la lipoprotéine immobilisée.
- L'apolipoprotéine C-II est un cofacteur nécessaire de cette activité.
- La sérumalbumine fixe les acides gras libérés par la LPL et permet leur transport jusqu'aux cellules qui les utilisent (cellules musculaires ou adipocytes).
  - Les maladies moléculaires de la LPL conduisent à l'accumulation de chylomicrons riches en triglycérides, dans le sang, même loin des repas.

# *Lipoprotéine lipase*

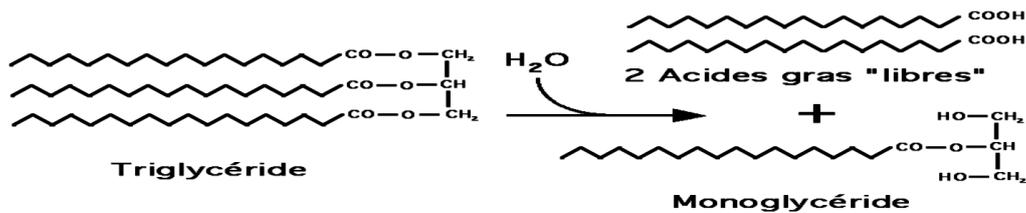
ApoC-II, Sérualbumine



## 2 Triglycéride lipase hépatique

- Dans le foie (espace de DISSE), une autre lipase, appelée lipase hépatique ou triglycéride lipase hépatique, hydrolyse les glycérides des lipoprotéines IDL et HDL. Elle possède simultanément une activité de lipase et de phospholipase A2.
- Elle achève l'hydrolyse des acides gras des lipoprotéines légères et prépare la captation des LDL par leur récepteur.

## *Lipase hépatique*

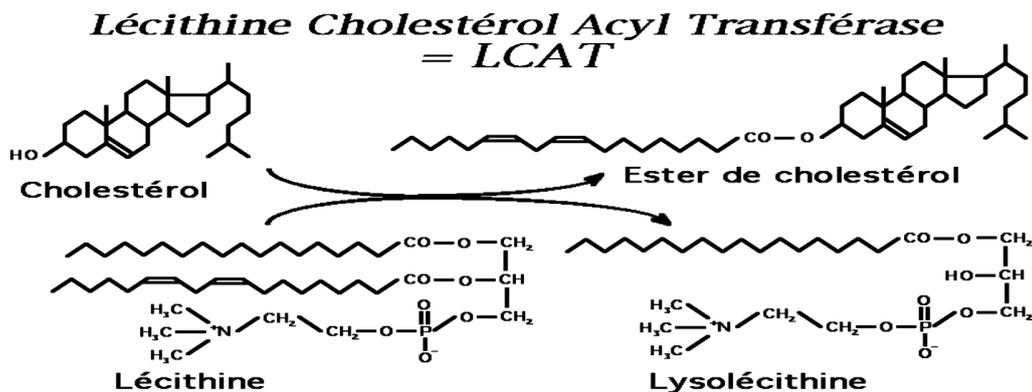


## 3 Lécithine Cholestérol Acyl Transférase = LCAT

La lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) est une enzyme plasmatique spécifique (dont le lieu d'activité est le plasma) qui hydrolyse les lécithines des lipoprotéines plasmatiques et produit des esters de cholestérol.

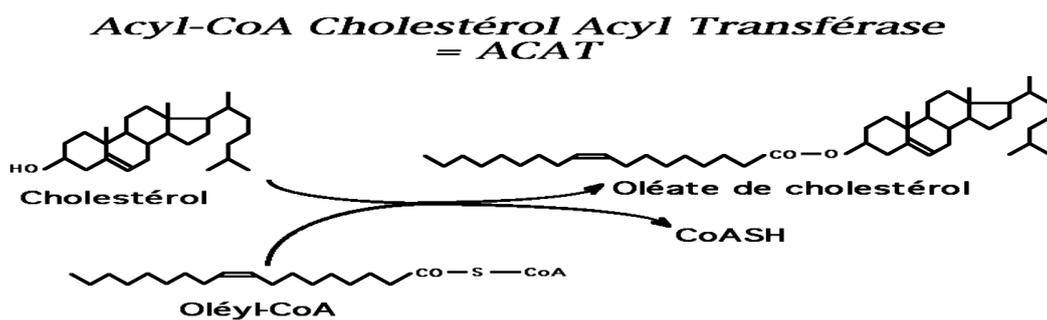
- Elle catalyse le transfert de l'acide gras (habituellement polyinsaturé) estérifiant la fonction alcool secondaire d'une lécithine (phosphatidyl choline), sur la fonction alcool de carbone 3 du cholestérol. Les lécithines sont hydrolysées en lysolécithines, beaucoup plus polaires, tandis que le cholestérol est estérifié ce qui le rend presque totalement apolaire. Ce changement de polarité permet au cholestérol estérifié de s'accumuler dans l'intérieur des particules de lipoprotéines et diminue la surface de ces particules donc leur confère une forme sphérique.
- Cette enzyme agit ainsi sur les pré- $\beta$ -HDL discoïdales et les HDL3 qui ont capté le cholestérol des membranes des cellules périphériques (« transport inverse du cholestérol »).

Les HDL2, enrichies en esters de cholestérol, sont les produits finaux de l'action de la LCAT et conduisent le cholestérol vers le foie pour l'excrétion dans la bile.



#### 4 Acyl-CoA Cholestérol Acyl Transférase = ACAT

• Toutes les cellules de l'organisme (surtout le foie) accumulent du cholestérol sous forme d'esters de cholestérol dans les vacuoles lipidiques. Cette estérification est due à l'activité d'une acyl-CoA cholestérol acyl transférase (ACAT) qui a pour substrats le cholestérol des membranes des organites intracellulaires et l'oléyl-CoA du cytoplasme.

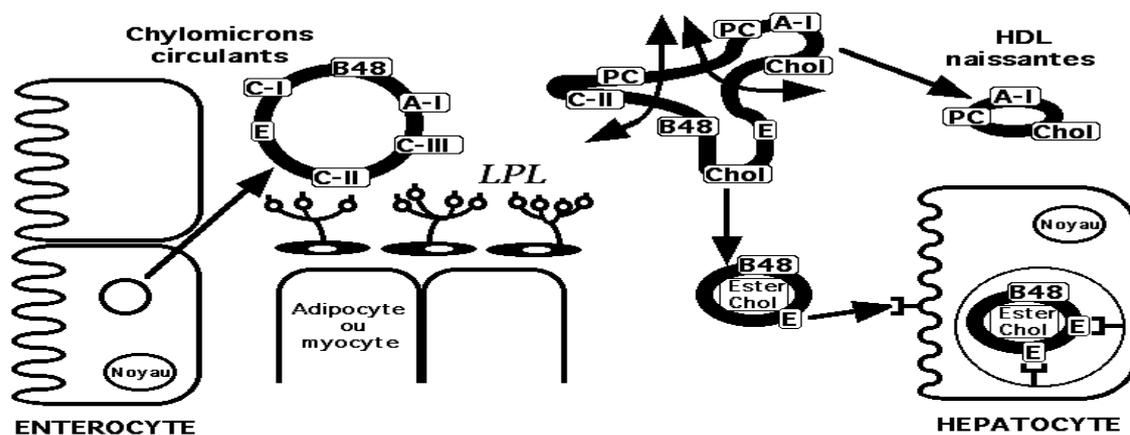


#### Métabolisme des chylomicrons

Les apoC-II incluses dans la couche périphérique des chylomicrons permettent leur reconnaissance et leur dégradation plasmatique très rapide par les lipoprotéine lipases (LPL). Ces enzymes sont synthétisées par les tissus adipeux et musculaire et après leur sécrétion restent fixées aux cellules endothéliales, flottant librement dans la lumière des capillaires irrigant ces tissus. Les acides gras libérés lors de l'hydrolyse des triglycérides pénètrent dans les tissus sous-jacents : les cellules musculaires les utilisent comme substrats énergétiques et les cellules adipeuses les réestérifient sous forme de triglycérides de réserve.

- L'hydrolyse des triglycérides des chylomicrons, crée une déplétion du volume central induisant des déformations. Des replis de la couche périphérique se forment par accollement de zones adjacentes et se détachent dans la circulation sous la forme de disques formés de phospholipides, cholestérol et apolipoprotéines de petite masse (apoC, apoA principalement) constituants des HDL naissantes discoïdales ou pré- $\beta$ -HDL.
- Les édifices résiduels enrichis en apoB48 et E sont reformés autour des esters de cholestérol et des molécules restantes de triglycérides. Ces « remnants » de chylomicrons de diamètre très réduit (400 à 600 Å) sont encore appelés  $\beta$ -VLDL intestinales (de densité VLDL, mais de mobilité électrophorétique  $\beta$ ) et sont dégradés par le foie qui les capture grâce à des récepteurs reconnaissant les apoE.

## Métabolisme des chylomicrons

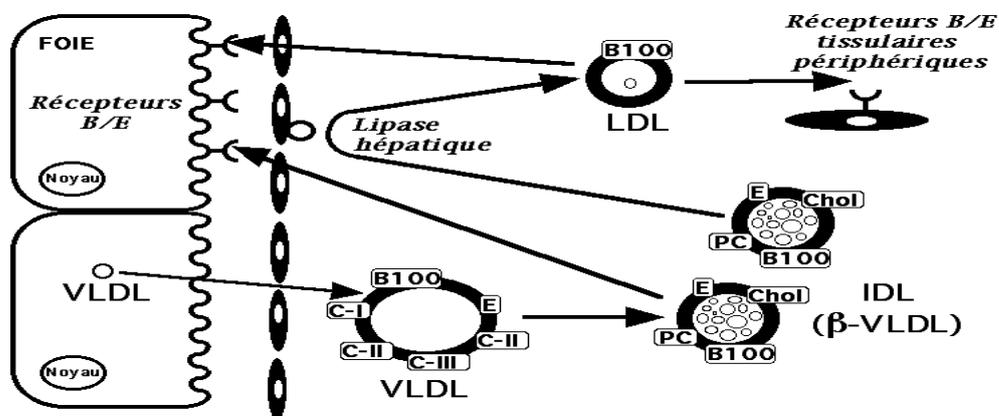


### Transformation plasmatique des VLDL en LDL

- La synthèse des VLDL est réalisée de façon continue par les cellules hépatiques permettant la sécrétion permanente des triglycérides de synthèse endogène. Naturellement cette synthèse augmente considérablement après les repas, pour revenir à un état basal à jeun.
- La dégradation plasmatique des VLDL est identique à celle des chylomicrons, dépendante des lipoprotéine lipases. Celles-ci sont activées par les apoC-II présentes à la surface des VLDL et l'hydrolyse des triglycérides assure un apport régulier d'acides gras aux tissus adipeux et musculaire.
- Comme dans la dégradation des chylomicrons l'hydrolyse des triglycérides induit des replis de l'enveloppe périphérique qui sont libérés dans la circulation, constituant un départ des apolipoprotéines C.
- Des édifices plus petits, enrichis en apoB100 et E, se restructurent autour des esters de cholestérol et des molécules restantes de triglycérides. Les « remnants » de VLDL ainsi formés sont des édifices plus petits que les VLDL, appelés IDL ou  $\beta$ -VLDL hépatiques.

- Le métabolisme des IDL suit immédiatement celui des VLDL. Deux voies métaboliques peuvent transformer les IDL : la voie des récepteurs, la lipase hépatique.
- Une grande quantité des IDL formées est internalisée et dégradée dans le foie via les récepteurs B/E (récepteur LDL) assurant la reconnaissance des apoE sous leur isomorphe normal E3/E3. Ces récepteurs sont distincts des récepteurs précédemment décrits pour le catabolisme des « remnants » de chylomicrons, car ils reconnaissent les apoE et les apoB100.
- Une quantité plus faible de particules IDL est dégradée dans la circulation par la lipase hépatique (LH ou triglycéride lipase hépatique) dont la structure est homologue de celle des LPL mais qui est exclusivement synthétisée par les cellules hépatiques. La LH permet la transformation des IDL en LDL qui doivent donc être considérées comme des produits terminaux du catabolisme des VLDL et des IDL.
- La reconnaissance des LDL par leurs apoB100 se fait au niveau des récepteurs précédemment décrits pour les IDL (récepteur LDL), mais pour les LDL cette captation bien que principalement hépatique, a lieu aussi dans toutes les cellules de l'organisme.

### Transformation plasmatique des VLDL en LDL

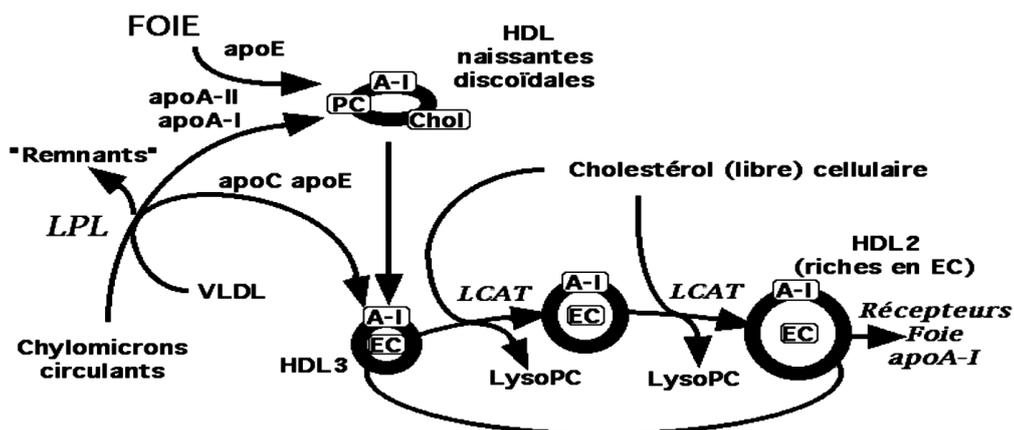


### Métabolisme des HDL

- Les HDL naissantes ont une structure discoïdale composée d'une couche unique repliée sur elle-même, de molécules de phospholipides, de cholestérol et d'apolipoprotéines. L'origine des HDL est mixte, tissulaire et plasmatique :
  - le foie sécrète des HDL discoïdales essentiellement composées d'apoE ;
  - dans la circulation les replis formés à partir des éléments de surface des chylomicrons et des VLDL, lors de l'hydrolyse des triglycérides, représentent une source importante d'HDL discoïdales contenant principalement des apoA-I et apoC.

- Les HDL discoïdales riches en phospholipides peuvent s'enrichir en molécules de cholestérol qu'elles soustraient aux cellules périphériques. Une enzyme plasmatique la Lécithine Cholestérol Acyl-Transférase (LCAT) estérifie ces molécules excédentaires de cholestérol qui cessent d'appartenir à l'enveloppe périphérique des HDL et migrent au centre des édifices, transformant les HDL discoïdales en HDL3 sphériques. Les HDL3 à leur tour sont capables de capter des molécules de cholestérol membranaire et après nouvelle action de la LCAT se transforment en édifices de plus en plus riches en esters de cholestérol. Les HDL2 ainsi obtenues ont une densité plus légère et un diamètre plus grand que les HDL3.
- La captation du cholestérol membranaire par les HDL réalise ce que l'on appelle le transport « reverse » du cholestérol car les HDL2 ainsi formées sont en grande partie reconnues et dégradées dans les cellules hépatiques par l'intermédiaire de récepteurs qui reconnaissent les apoA-I présentes dans la structure des HDL. Le cholestérol ainsi retourné au foie est éliminé dans la bile ou dégradé en acides biliaires.
- Dans ce transport « reverse » de cholestérol, seules certaines HDL ne contenant pas d'apoAII mais constituées d'apoA-I, appelées lipoparticules LpA-I, sont capables d'induire ce mouvement du cholestérol hors des cellules.

## Métabolisme des HDL



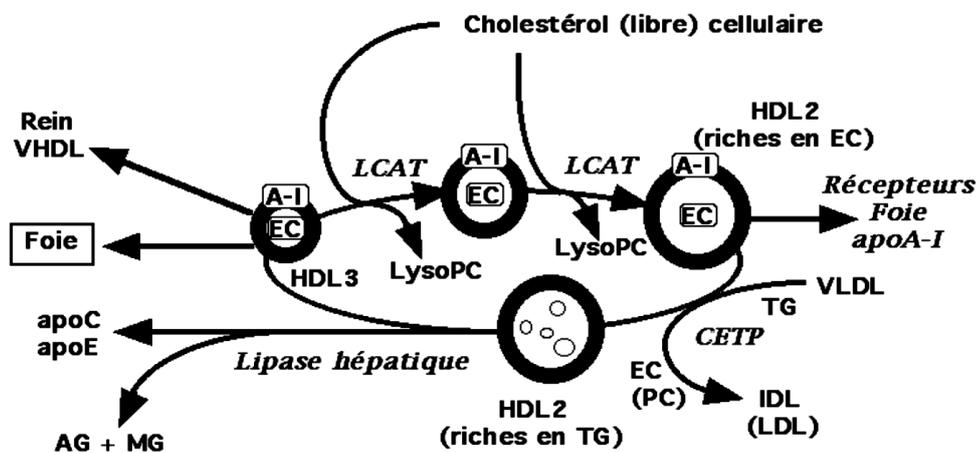
Une fraction d'HDL2 peut se retransformer en HDL3 sous l'effet cumulé de deux étapes métaboliques.

- La première de ces étapes est réalisée par un groupe de protéines appelées *Cholesterol Ester Transfer Proteins* (CETP) qui effectue un échange des molécules d'esters de cholestérol des

HDL2, par des molécules de triglycérides venant de lipoprotéines riches en triglycérides, essentiellement des VLDL. Cette action a pour effet d'enrichir les HDL2 en triglycérides et les VLDL, en esters de cholestérol.

- Dans une deuxième étape la lipase hépatique hydrolyse ces molécules de triglycérides et retransforme les HDL2 en HDL3, édifices de densité plus lourde et de diamètre plus petit.
- Il faut noter que si ces transformations apparaissent cycliques, on manque encore de données sur l'importance de ce cycle, et s'il se situe de façon permanente ou accessoire en fonction des autres événements métaboliques des lipoprotéines, notamment ceux induits par les repas.

## Métabolisme des HDL



### Introduction

Le bilan lipidique consiste en un ensemble d'analyses, permettant de mettre en évidence des anomalies du métabolisme des lipoprotéines. Ces anomalies sont associées à des taux anormaux de lipides circulants: des taux élevés de triglycérides (TG) ou de cholestérol-LDL (LDL : athérogène) ou encore une quantité insuffisante du cholestérol-HDL (HDL : antiathérogène). Des examens spécialisés peuvent être pratiqués afin de compléter l'interprétation d'une dyslipidémie. L'identification de ces anomalies conditionne la prise en charge des sujets à haut risque d'athérosclérose.

## 2. Stratégies d'exploration des lipides et lipoprotéines

### 2.1. Exploration d'une anomalie lipidique (EAL)

#### 2.1.1. Prélèvement(s)

Le prélèvement est sanguin (sur sang veineux) ; il se pratique impérativement après un jeûne de 12 heures. Le tube utilisé pour effectuer le prélèvement est soit sec ou soit contenant un anticoagulant.

### 2.1.2. Bilan lipidique standard

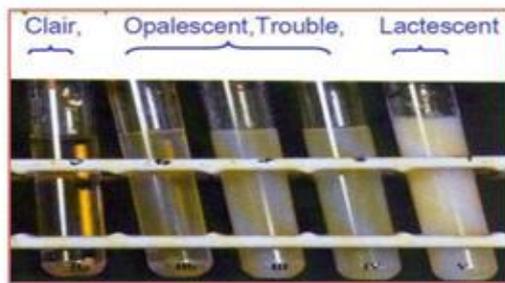
Le bilan lipidique standard comporte des examens de base qui fournissent une information utile pour le dépistage troubles et le suivi des patients sous traitement. Cependant, il reste insuffisant pour le diagnostic des dyslipidémies. Il inclue essentiellement:

- l'analyse qualitative de l'aspect du sérum,
- le dosage des triglycérides (TG),
- le dosage du cholestérol total et ses fractions HDL, non-HDL et LDL.

#### 2.1.2.1. L'aspect du sérum

Après centrifugation, l'aspect du sérum peut être indicateur d'une dyslipidémie:

- Aspect clair du sérum : bilan lipidique normal ou hypercholestérolémie.
- Aspect opalescent ou lactescent : Hypertriglycéridémie Le test de crémage permet de différencier entre une origine exogène (chylomicrons) et une origine endogène (VLDL).



Le test de crémage consiste à conserver + 4°C le sérum ou le plasma dans une position verticale pendant 24 heures:

- Chylomicrons : si anneau crémeux à la surface du sérum (test positif).
- VLDL : si le sérum reste opalescent.
- Chylomicrons + VLDL : si anneau crémeux + opalescence du sérum.

#### 2.1.2.2. Dosage des triglycérides

Le taux des TG varie de 0,50 à 1,5 g/l (<2g/l). Les valeurs sont plus faibles chez le nouveau-né et les personnes âgées; et sont plus élevées chez le sexe masculin ; en cas de grossesse et de prise de contraceptifs oraux; de tabac et d'alcool. En pathologie, un taux élevé de TG peut être le signe d'une pancréatite aiguë, d'un diabète de type 1 ou 2, d'une hyperuricémie et d'une obésité importante. Le risque athérogène lié aux TG est faible et indirect.

#### 1.1.2.3. Dosage du cholestérol

**a) Cholestérol total (CT):** 1,6 à 2,4 g/l avec une valeur recommandée < 2g/l.

**b)-Cholestérol HDL:** > 0,45 g/L chez l'homme et > 0,55 g/L chez la femme.

**c)-Cholestérol non-HDL:** -Calculé selon la formule: CT - C-HDL. Valeurs normales: <1,3 g/l

**d)-Cholestérol LDL:** -Calculé selon la formule de Friedewald:  $C\text{-LDL (g/l)} = CT - (C\text{-HDL} + TG/5)$

-Formule applicable uniquement si  $TG < 3,4 \text{ g/l}$ .

-Valeurs normales: 0,6 à 1,6 g/l.

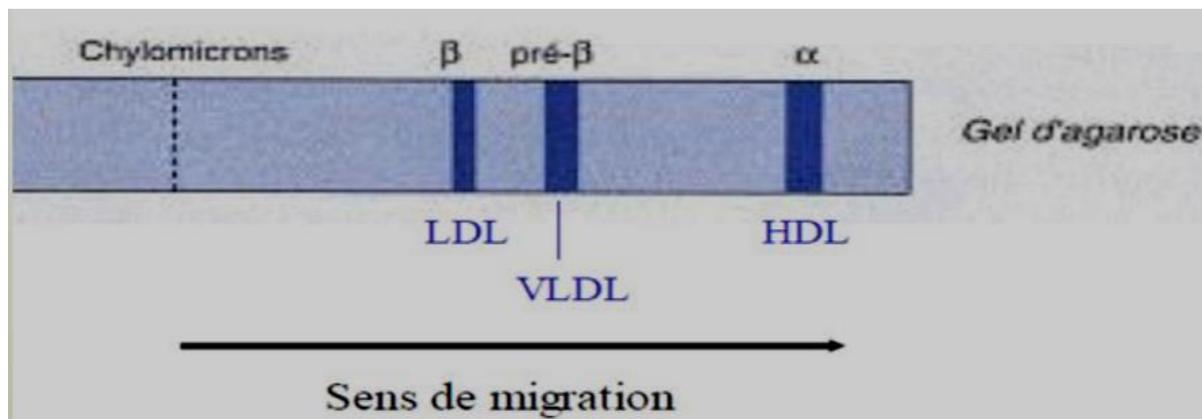
La cholestérolémie augmente avec : l'âge; la prise d'anticoagulants; la grossesse et la ménopause. Les taux diminuent en cas d'hémolyse et de prise de progestatifs et de tabac. L'hypercholestérolémie pathologique survient lors d'un régime alimentaire riche en graisses saturées, associé à une mauvaise hygiène de vie; lors d'une atteinte hépatique (cholestase); d'une atteinte thyroïdienne (myxoedème); d'un syndrome néphrotique; d'une pancréatite et d'un myélome. Un taux bas de cholestérol HDL peut s'observer au cours du diabète sucré, d'obésité et de certaines dyslipidémies.

### 2.1.3. Examens lipidiques spécialisés

- Ce sont des examens complémentaires du bilan lipidique standard, indiqués dans la caractérisation des dyslipoprotéïnémies primitives et dans l'évaluation du risque athérogène.

#### 2.1.3.1. Le lipidogramme

- Le lipidogramme ou électrophorèse des lipoprotéines, se pratique sur gel d'agarose, permet de séparer les différentes fractions des lipoprotéines en fonction de leur densité et de leur charge électrique. Indiqué dans la caractérisation des dyslipoprotéïnémies primitives.



#### 2.1.3.2. Le dosage des Apolipoprotéines

- ApoA1 (HDL) → Antiathérogène

- ApoB (LDL) → Athérogène

	Apo A1	Apo B
Femme	1,30-2,10g/l	< 1,25g/l
Homme	1,20-1,60g/l	< 1,35g/l
Risque si	< 0,90g/l	> 1,35g/l

### **2.1.3.3. Le dosage de la lipoprotéine (a) (Lpa)**

La lipoprotéine (a) présente une analogie structurale avec les lipoprotéines LDL; riche en esters de cholestérol et en Apo B et (a) (hautement athérogène). Elle est apparentée au plasminogène (hautement thrombogène).

Le dosage de la Lp(a) doit impérativement être associé à un bilan lipidique standard et doit être réservé aux familles à haut risque vasculaire inexplicé et/ou en cas de récurrences sous traitement par statine. Le Risque cardiovasculaire élevé si:

\* Lpa > 0,5 g/L

\* Lp(a) exprimée en nmol d'Apo (a) > 75 nmol/L

### **2.1.3.4. Le calcul de l'index d'athérogénicité**

Rapports : CT/C-HDL <4,5; LDL/HDL <3,55 (homme) et <3,22 (femme); Apo B/Apo A1 <1,5

### **DYSLIPEMIES :**

**Définition :** Ce sont les modifications primitives ou secondaires des lipides sériques causées par une altération :

- Soit des récepteurs qui reconnaissent les lipoprotéines
- Soit des enzymes impliquées dans le métabolisme des lipoprotéines.
- Soit des apoprotéines.

Rechercher toujours une cause secondaire qui ne répond qu'au traitement étiologique de la maladie sous-jacente

Les dyslipémies sont classées en :

Hyperlipoprotéinémies (HLP) :

- HLP primitive (d'origine génétique)

- HLP secondaires : induites par une maladie ou un agent pharmacologique.

hypolipoprotéinémies : primitives et secondaires.

### **A. Hyperlipoprotéinémies ;**

Deux classifications, établies par Fredrickson et De Gennes sont utilisées pour définir les hyperlipoprotéinémies

**classification de FREDRICKSON :** ( critères électrophorétiques)

**Type I: hyper chylomicronémie**

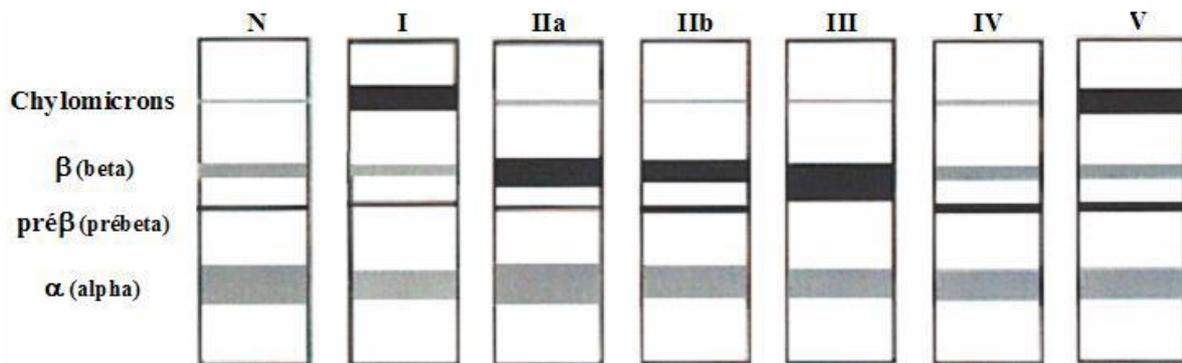
**Type IIa : : hyper  $\beta$  lipoprotéinémie**

**Type II b:  $\uparrow$  des  $\beta$  et pré  $\beta$**

**Type III : dys  $\beta$  lipoprotéinémie(IDL)**

**Type IV : ↑ des pré β**

**Type V: ↑ des chylomicrons + des pré β (VLDL)**



**La classification de DE Gennes : définie 3 classes d'hyperlipidémies :**

- hypercholestérolémie pure : Type (IIa) fréquent
- hypertriglycéridémies majeures : (sans CM : type IV) et ( avec CM :type I)
- hyperlipémie mixte ( IIb+++ , et rarement type III qui est très athérogène).

### **1 / hyperlipoprotéinémies primitives**

#### **Tableau**

**1.1/ Les hyperlipoprotéinémies de type I :** hyperchylomicronémies ou hypertriglycéridémie majeure.

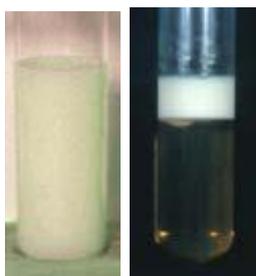
Type I de Fredrickson

Sérum lactescent.

Triglycérides > 10g/l. Chol T normal

A l'électrophorèse présence d'une bande au niveau du dépôt (chylomicrons).

Transmission autosomique récessive



Dues à un déficit en **Lipoprotéine lipase(LPL)** ou **Apo CII** avec diminution de la clairance plasmatique des chylomicrons. -dès l'enfance: xanthomes éruptifs, risque de pancréatite aigue et parfois hépato splénomégalie.

**1.2/Hypercholestérolémie familiale type IIa :**



**Arc cornéen**



**xanthélasmas**



**Xanthome tendineux**



sérum clair -Présente dès l'enfance, -mutation au niveau du R-LDL( récepteur de l'apo B/E) ou mutation sur le gène de l' Apo B100.

**Forme Monogéniques :**

- Mutation du gène du récepteur de l'Apo B/E ( chromosome 19)

a/ chez l'hétérozygote: - prévalence 1/500 ( France, Royaume -Uni).

Xanthomes tendineux,xanthélasmas, arc cornéen, chez l'adulte >20 ans -CT 3 à 5 g/l, LDL Chol> 2,2 g/l. - **très athérogènes+++**. -La sévérité et précocité de l'athérosclérose sont directement liées à l'importance du taux de cholestérol LDL et à la durée de l'hypercholestérolémie

b/Chez l'homozygote: -**plus rare** 1/1 000 000 -les récepteurs LDL absents -CT 6 à 10g/l. - pathologie coronarienne dès l'enfant -mortalité de 100%.

- Mutation du gène de l'apo B100 ( chromosome 2, mutation ponctuelle) :

CT entre 3 et 4 g/l, LDLc entre 2.2 et 2.8 g/l

**Formes polygéniques** : les + fréquentes Chol T <3g/l

**1.3/ hyperlipidémie combinée familiale type IIb de Fredrickson.** -prévalence 1/200, Autosomique Dominante -Perturbations du métabolisme des LDL et des VLDL

**Chol T :2,5 à 3,5g/L; TG: 1,5 à 5 g/l** -Souvent associées au surpoids, au diabète, parfois à l'HTA ou à l'hyperuricémie, -Parfois xanthélasmas, **Athérogènes+++** .

**1. 4/Les hyperlipidémies de type III : L' hyperlipidémie mixte** ( dysbétalipoprotéïnémie ) de type III La dysbétalipoprotéïnémie est rare, elle s'exprime à l'âge adulte. Elle est associée au phénotype E2/E2, qui détermine un défaut de captation des IDL par le foie.

D'autres facteurs interviennent : l'obésité, l'alcoolisme, l'hypothyroïdie et le diabète.

Clinique - xanthomes des plis palmaires - xanthomes tubéreux

- **Risque athérogène très important.**

**Biologie :** - **Augmentation du Cholestérol total** (présence des IDL et remnants de chylomicrons à l'électrophorèse : Broad  $\beta$ )

- **Diminution du cholestérol LDL et cholestérol HDL**

- **Augmentation des triglycérides** (augmentation des VLDL à l'électrophorèse).

Sérum opalescent.

**1.5/hypertriglycéridémie familiale type IV de Fredrickson.** -prévalence 1/600 - monogénique , **autosomique dominante** dans 1/10ième des cas, le plus souvent polygénique.

-augmentation de la synthèse hépatique des VLDL . -TG< 4,5g/L sauf si association avec d'autres facteurs de risque: obésité, alcoolisme. - peut s'aggraver en type V

**1.6/ Les hyperlipidémies de type V :** L'hypertriglycéridémie majeure endogène et exogène L'hypertriglycéridémie majeure endogène et exogène associe les mécanismes du type I et IV

Clinique

- Xanthomes éruptifs, Risque de pancréatite.

**Biologie : sérum lactescent**

- **Augmentation des triglycérides**

-(présence de **chylomicrons** et augmentation des **VLDL** à l'électrophorèse).

- Cholestérol normal ou augmenté.

**2 / les hyperlipoprotéïnémies secondaires :** Elles sont fréquentes

**diabète sucré :** augmentation des triglycérides L' hyperlipoprotéïnémie de type IV est la plus fréquemment associée au diabète mais sont également trouvés les types IIb et V. L'activité LPL est diminuée car l'insuline est diminuée. activation de la synthèse des VLDL( car lipolyse intra adipocytaire non freinée par insuline)

**obésité :** augmentation des triglycérides, HDLc diminué

**hyperuricémie** Le type IV et le type IIb sont fréquemment retrouvés. **cholestase intra- ou extrahépatique** Les types IIa et IIb sont rencontrés. Le foie sécrète dans le sang des

lipoprotéines anormales dites lipoprotéines X riches en cholestérol libre, phospholipides et en apo C et E. Le type IV est le plus fréquent( augmentation de la synthèse des VLDL).

**insuffisance rénale chronique** Le type IV est surtout présent avec une augmentation de la synthèse des VLDL.

**syndrome néphrotique** Les types IIb et IV sont principalement rencontrés. La fuite de l'albumine au niveau rénal provoque un excès d'acides gras libres par rapport à la sérum-albumine qui les transporte et entraîne une stimulation de la synthèse des VLDL et un catabolisme diminué. La synthèse de l'apo B est également augmentée.

**Pathologies hormonales** HYPOTHYROÏDIE : associée à des types IIa et IIb. Le mécanisme est mal élucidé. Diminution du catabolisme des LDL et du cholestérol. (hypercholestérolémie). HYPERTHYROÏDIE : Elle est généralement associée à une hypocholestérolémie. **Analyses à pratiquer afin d'éliminer une hyperlipoprotéinémie secondaire à une pathologie qui ne serait pas connue:**

Glycémie à jeun, Protéinurie, Créatininémie., TSH ( femme >60 ans)Transaminase et gamma GT(alcoolisme)

Fer, ferritine, Électrophorèse de protéines sériques.

**Dyslipidémies médicamenteuses** : -diurétiques thiazidiques (IIb) - $\beta$  -bloquants dépourvus d'activité sympathomimétique intrinsèque( IV) -corticostéroïdes ( IIb, IV) - oestroprogestatifs ( IIb, IV)

**B/ les hypolipoprotéinémies :**

**1/ primitives :**

a/ Hypoalphalipoprotéinémie:

Biologie : **diminution des  $\alpha$  Lipoprotéines( HDL)**

Chol.HDL < 0,35g/l chez l'homme

Chol.HDL < 0,45g/l chez la femme

Causes :- Déficit en apo A1/CIII,

-Maladie de Tangier (où existe un hypercatabolisme des HDL)

-Maladie des yeux de poisson( déficit en LCAT.

b/ hypobétalipoprotéinémie : par mutation au niveau de l'Apo B100

**Diminution des LDL et Apo B**

**2/ secondaires** : Hyperthyroïdie = hypocholestérolémie.

Insuffisance hépatique : CT et TG bas.

Dénutrition, Hémopathie ,Cancer avec cholestérol bas.

**IV.SPHINGOLIPIDOSES :**

**Définition :** Maladies innées du métabolisme des sphingolipides. Résultent d'un déficit enzymatique entraînant l'accumulation de ces lipides dans les tissus qui en sont riches tels que le foie et le cerveau.( maladies congénitales).

1/ sphingomyelinoses : Maladie de Niemann Pick, Due à un déficit en sphingomyélinase. 2/ gangliosidoses: Maladie de Tay-Sach, due à un déficit en hexosaminidase3/Gluco-cérebrosidose: Maladie de Gaucher , Déficit en cérébrosyl- $\beta$ -glucosidase

4/ Céramidose: Maladie de Farber. Due à un déficit en céramidase acide.

5/ céramide trihexosidose : Maladie de Fabry. Déficit en galactosidase A

### **V.Athérosclérose :**

- Affection grave, caractérisée par l'apparition de plaques d'athérome
- 1ère cause de mortalité et d'invalidité dans les pays industrialisés
- Est plurifactorielle

C'est une lésion des parois des artères de gros et moyen calibre touche 3 grands territoires vasculaires : coeur, cerveau, membres inférieurs

Se complique de:

- Coronaropathie ischémique (IDM)
- Accidents vasculaires cérébraux (AVC)
- Artérites des membres inférieurs

L'épuration plasmatique du cholestérol par l'intermédiaire de l'apo B100 est saturable et régulée par le besoin cellulaire. Les LDL cholestérol non utilisé subissent des modifications biochimiques (oxydation par les radicaux libres, glycation de l'apo B...).

Les LDL modifiés ne sont plus reconnus par leurs récepteurs physiologiques. Ils seront épurés par la voie macrophagique dite « scavenger » éboueur non saturable et point de départ de l'athérosclérose.

Les macrophages sous endothéliaux sont capables d'internaliser le cholestérol LDL.

L'excès de LDLc capté par les macrophages est responsable de leur transformation en cellule spumeuses qui formeront des stries lipidiques puis la plaque d'athérome.

Les cellules spumeuses produisent des facteurs proinflammatoires et prothrombogènes qui accentuent le processus athérogénique et conduisent à la formation d'une plaque fibreuse riche en Cholestérol et fragile.

Les bords de cette plaque instable sont susceptibles de se détacher sous l'influence de facteurs mécaniques et d'entraîner un accident thrombo-occlusif

<p><b>2.2. Caractérisation des hyperlipidémies primitives</b></p> <p><b>selon la classification de Frederickson</b></p>
<p><b>Type I: Hyperchylomicronémie familiale (très rare)</b>  <b>Etiologie:</b> Défaut de synthèse de la LPL ou de l'APO CII (cofacteur de la LPL)  <b>Clinique:</b> Douleurs abdominales, Pancréatite, Xanthomatose éruptive, Hépto-splénomégalie, Lipémie rétinienne  <b>Biologie:</b> Chylomicron ↑↑↑; Chol +/-Normal ; TG Augmentés ↑↑↑, Aspect du sérum : Lactescent; Test de crémage +</p>
<p><b>Type IIa: Hypercholestérolémie essentielle ou pure (familiale, fréquente)</b>  <b>Etiologie:</b> Défaut de synthèse du récepteur aux LDL  <b>Clinique:</b> Arc cornéen, Xanthelasma, Xanthomes tendineux, Athéromatose, risque athérogène ++++  <b>Biologie:</b> LDL ↑↑↑; Chol ↑↑↑; TG Normaux, Aspect du sérum : Clair</p>
<p><b>Type IIb: Hypercholestérolémie mixte (fréquente)</b>  <b>Etiologie:</b> Défaut de synthèse du récepteur aux LDL et augmentation de la synthèse de l'Apo B  <b>Clinique:</b> Arc cornéen, Xanthelasma, Xanthomes tendineux, Athéromatose, risque athérogène ++++  <b>Biologie:</b> LDL ↑↑↑ et VLDL ↑↑; Chol ↑↑↑; TG ↑↑, Aspect du sérum : Opalescent</p>
<p><b>Type III: Dysbétalipoprotéïnémie (rare, apparaît chez l'adulte)</b>  <b>Etiologie:</b> Défaut de synthèse du récepteur E2  <b>Clinique:</b> Dépôts extravasculaires de cholestérol, Xanthomes des plis palmaires, xanthomes tubéreux, risque athérogène ++++  <b>Biologie:</b> IDL ↑↑↑ (broad-β-lipoprotéine); Chol ↑↑↑; TG ↑↑, Aspect du sérum : Opalescent</p>
<p><b>Type IV: Hypertriglycémie endogène (fréquente, apparaît chez l'adulte)</b>  <b>Etiologie:</b> Augmentation de la production des VLDL avec diminution de leur épuraison  <b>Clinique:</b> Xanthomatose éruptive majorée par diabète, goutte, obésité, alcoolisme  <b>Biologie:</b> VLDL ↑↑↑; Chol ± Normal; TG ↑↑, Aspect du sérum : Trouble</p>
<p><b>Type V: Hypertriglycémie mixte (très rare, apparaît chez l'adulte)</b>  <b>Etiologie:</b> Augmentation de la production des VLDL avec déficit en l'enzyme lipoprotéine lipase (LPL)  <b>Clinique:</b> Xanthomatose éruptive  <b>Biologie:</b> VLDL ↑↑↑; Chylomicrons ↑↑↑ ; Chol ↑; TG ↑↑↑, Aspect du sérum : Lactescent, test de crémage + opalescence du sérum</p>

### Remarque

*Les hyperlipidémies primitives selon Frederickson sont différentes des maladies héréditaires appelées sphingolipidoses, maladies "de surcharge", liées à des déficits enzymatiques altérant le catabolisme normal des sphingolipides (lipides membranaires) dans les lysosomes, causant des surcharges tissulaires. Les principales conséquences sont un retard mental, une dégénérescence neurologique, une hépatomégalie, des atteintes cardiaques et un décès précoce. Les principales sphingolipidoses sont: la maladie de Niemann-Pick, la maladie de Fabry, la maladie de Krabbe, la maladie de Gaucher, la maladie de Tay-Sachs et leucodystrophie métachromatique.*

### 2.3. Stratification du risque cardiovasculaire

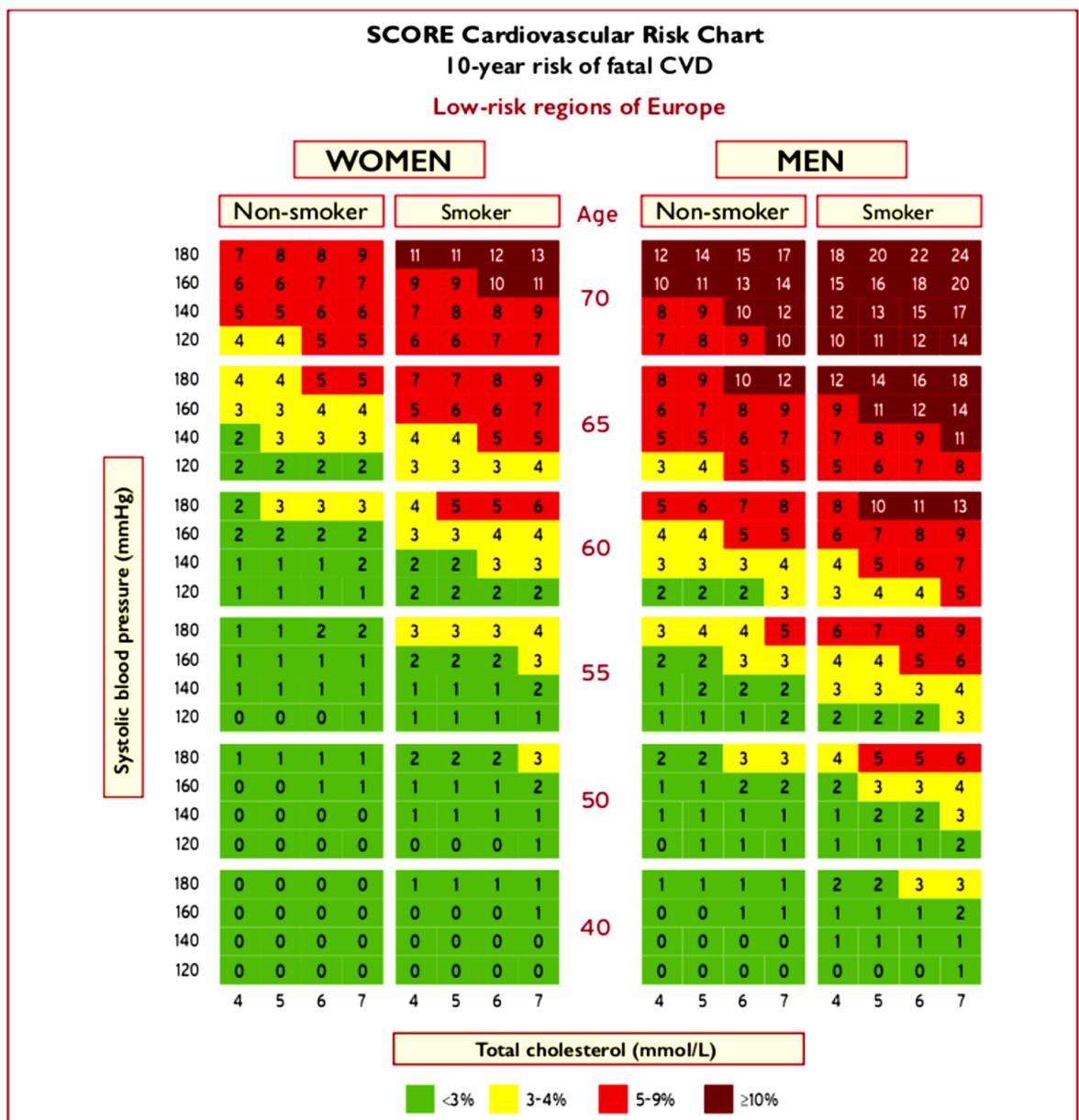
### 2.3.1. Critères du risque cardiovasculaire- Âge (Homme > 50, Femme > 60 ans)

- Antécédents familiaux de maladie coronaire précoce (IDM ou mort subite avant 50 ans chez un parent du 1er degré)
- Tabagisme (actuel ou arrêté depuis moins de 3 ans)
- Hypertension artérielle permanente, Diabète de type 1/ 2, insuffisance rénale
- Obésité: IMC  $\geq 30$  Kg/m<sup>2</sup> ou tour de taille > 102 cm (homme) et > 88 cm (femme)
- Hypercholestérolémie ou C-HDL < 0,40 g/L quel que soit le sexe

### 2.3.2. SCORE cardiovasculaire

Le **score** ou **SCORE** (Systematic Coronary Risk Evaluation) est une évaluation globale du risque cardiovasculaire, qui prédit le risque de mortalité sur une période de 10 ans. Il permet de proposer une stratégie préventive 1aie et thérapeutique adéquate. Le SCORE, selon les recommandations de l'ESC 2019 (European Society of Cardiology 2019), est comme suit :

- SCORE associant les facteurs de risque: âge, sexe, tension artérielle systolique, cholestérolémie et statut fumeur:



Chol. mmol/L	4	5	6	7
Chol. g/L	1,5	1,6	2,3	2,7

<b>Très haut risque CV</b>	<b>Prévention secondaire</b> Diabète avec atteinte d'organe ou >3 FDRCV ou diabète de type 1 (DT1) >20 ans Insuffisance rénale sévère DFG<30mL/min SCORE> 10% Hypercholestérolémie familiale avec maladie cardiovasculaire ou un autre FDRCV
<b>Haut risque CV</b>	Un FDRCV majeur : PA>180/110 ; TG>3.1g/L ou LDLc >1.9g/l Hypercholestérolémie familiale sans autre FDRCV Diabète sans atteinte d'organe, avec durée >10 ans ou avec autres FDRCV Insuffisance rénale modérée avec 30<DFG<59mL/min 5%<SCORE<10%
<b>Risque CV modéré</b>	Patients jeunes (DT1<35 ans ; DT2<50 ans avec durée du diabète<10 ans sans autre FDRCV 1%<SCORE< 5%
<b>Bas risque CV</b>	SCORE<1%

### 2.3.3. Objectifs thérapeutiques

La prévention du risque cardiovasculaire et de ses complications repose sur l'utilisation de thérapeutiques hypocholestérolémiantes, visant à réduire la concentration plasmatique des LDL (Statines), selon le score du patient. La haute autorité de santé (HAS) a établi des recommandations en 2017, alors que l'ESC 2019 vise des seuils de LDL encore plus bas.

<b>RISQUE/SCORE</b>	<b>HAS 2017</b>	<b>ESC 2019</b>
Risque Faible (score < 1%)	C-LDL < 1,9 g/L	C-LDL < 1,16 g/L
Risque modéré (score ≥ 1 et < 5 %)	C-LDL < 1,3 g/L	C-LDL < 1 g/L
Risque élevé (score ≥ 5 et < 10 %)	C-LDL < 1 g/L	C-LDL < 0,7 g/L
Risque très élevé (score ≥ 10%)	C-LDL < 0,7 g/L	C-LDL < 0,55 g/L

HAS: Haute autorité de santé

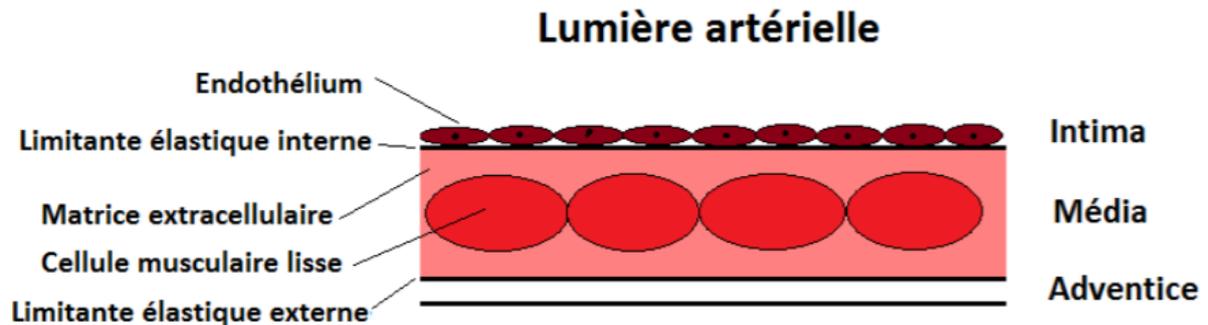
ESC: European Society of Cardiology

### 3. Athérogénèse

#### 3.1. Structure de la paroi artérielle

La paroi artérielle est composée de 3 tuniques; de l'intérieur vers l'extérieur:

- L'intima: formée de cellules endothéliales
- La média: formée de cellules musculaires lisses (CML)
- L'adventice (tunique extérieure): formée de tissu conjonctif et de fibres musculaires.

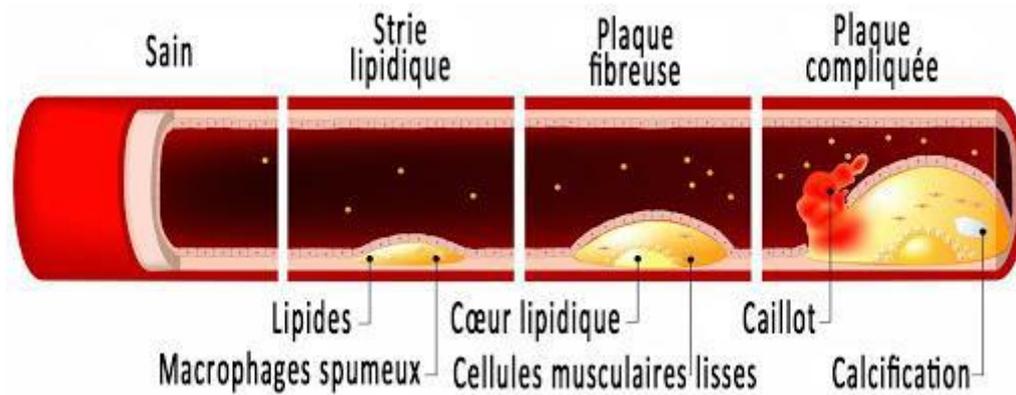


#### 3.2. L'athérosclérose

- L'athérosclérose est une atteinte des artères de moyens et de gros calibres; consécutive à une réponse inflammatoire chronique, suite à une lésion de la paroi artérielle interne (intima). Elle se caractérise par le dépôt d'une plaque composée principalement de lipides, associés à d'autres

composants (plaque d'athérome). A terme, ces plaques peuvent entraîner la lésion de la paroi artérielle (sclérose) et conduire à l'obstruction du vaisseau, ou encore se rompre, avec des conséquences graves, souvent mortelles. Les principaux facteurs de risque sont: l'hypercholestérolémie, l'âge avancé; la sédentarité, le tabagisme; l'hypertension artérielle et le diabète sucré. L'athérosclérose évolue dans l'ordre suivant:

- o **Formation de strie lipidique:** Dépôt des LDL plasmatiques et recrutement des cellules circulantes: monocytes, lymphocytes T et thrombocytes.
- o **Formation de la chape fibreuse:** Recrutement des cellules endothéliales (intima), des cellules musculaires (média) et de la matrice extracellulaire.
- o **Formation de la plaque compliquée:** Dépôts de caillots de sang et calcifications.



### 3.2.1. Formation des stries lipidiques

- Les LDL s'infiltrant et s'accumulent dans l'espace sous-endothélial. Les LDL sont par la suite oxydés par des radicaux libres oxygénés (RLO), produits par les cellules endothéliales endommagées.

- Les LDL oxydés induisent la libération de molécules d'adhésion qui adhèrent les monocytes et les lymphocytes T à la surface endothéliale. Les monocytes pénètrent dans l'espace sous-endothélial et se transforment en macrophages sous l'influence de différents facteurs. Les macrophages jouent 2 principaux rôles:

- Ils synthétisent et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires
- Ils fixent et internalisent les LDL oxydés, par leurs récepteurs éboueurs SR-AI et II, et accumulent "sans fin" le cholestérol des LDL, se transformant ainsi en cellules spumeuses.

### 3.2.2. Formation de la chape fibreuse

- Au début, les cellules musculaires lisses (CML) de la couche média, s'infiltrant dans l'intima par l'action des facteurs de croissance et de cytokines sécrétés par les monocytes-macrophages et par les cellules spumeuses.

- Ces CML prolifèrent et se transforment en cellules spumeuses, puis perdent leur collagène formant une chape fibreuse.

- Enfin, ces cellules meurent par nécrose ou apoptose, laissant des dépôts lipidiques entourés d'une chape fibreuse : la plaque athéroscléreuse est alors constituée.

### 3.2.3. Formation de la plaque compliquée

Dans le stade de la plaque compliquée, il se produit une calcification de la paroi avec l'apparition de nombreuses cellules inflammatoires. Trois complications apparaissent:

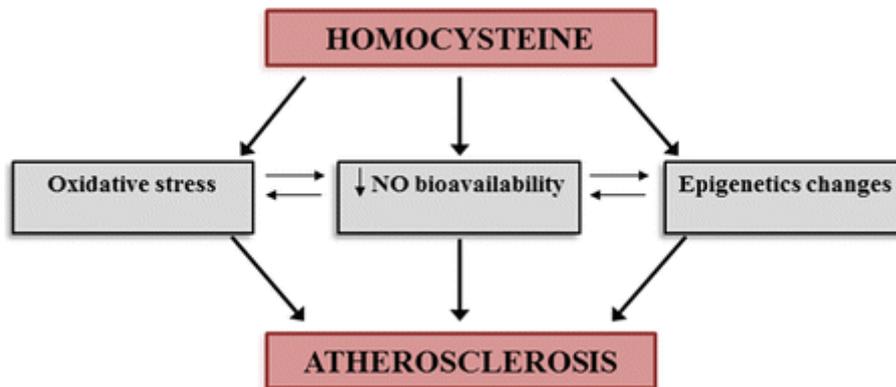
- le dysfonctionnement endothélial (diminution de la production du NO),
- la sténose (insuffisance de l'oxygénation des territoires vascularisés),
- la thrombose (formation d'un caillot de sang).

On différenciera la plaque compliquée stable de la plaque compliquée instable, selon sa composition. La plaque compliquée stable sera constituée d'une chape fibreuse épaisse et de peu de cellules inflammatoires, le coeur lipidique sera réduit assurant ainsi une certaine intégrité à la structure. Au contraire, une plaque instable possède de nombreuses cellules inflammatoires et une chape fibreuse très fine, associée à un coeur lipidique très important. La plaque instable constitue un réel danger, elle pourra se rompre en quelques instants.

### 3.3. Rôle des molécules biochimiques dans l'athérogénèse

#### 3.3.1. Rôle de l'homocystéine

L'homocystéine (Hcy) est un acide aminé soufré, intermédiaire dans le métabolisme de la méthionine (acide aminé essentiel). L'hyperhomocystéinémie (HHC) est un facteur de risque indépendant d'infarctus du myocarde ; de maladie thromboembolique veineuse; d'accident vasculaire cérébral ou de démence



L'HHC génère un stress oxydatif (formation de radicaux libres); réduit la biodisponibilité de l'oxyde nitrique NO (vasodilatateur) et induit des changements épigénétiques, principalement par hypométhylation (modification de l'expression des gènes). Toutes ces anomalies conduisent à des dommages vasculaires ; à l'initiation et/ou l'aggravation de l'inflammation; à la prolifération des CML de l'intima et à la thrombose vasculaire.

#### 3.3.2. Rôle des lipoprotéines

Les LDL, à des taux plasmatiques élevés, ne sont plus captées par les tissus périphériques (saturés en cholestérol), elles sont hautement athérogènes. Les HDL, collectent l'excès de cholestérol libre intracellulaire et le transportent vers le foie, abaissant le pool intracellulaire en cholestérol, permettant la captation tissulaire des LDL plasmatiques : antiathérogènes.

### 3.4. Exploration biologique de l'athérosclérose

L'utilisation de biomarqueurs prédictifs de l'athérosclérose en pratique clinique fait encore l'objet d'études, visant à préciser leur spécificité artérielle et leur intérêt dans l'évaluation et

le suivi de l'évolution des lésions athéromateuses. Ces biomarqueurs ne sont pas encore totalement validés, néanmoins, certains semblent prometteurs.

**a) Les marqueurs précoces de l'oxydation des lipides**

- Les marqueurs du stress oxydant (hydroperoxydes, aldéhydes, oxystérols, isoprostanes)
- Les lipides oxydés: LDL oxydées et phospholipides oxydés.

**b) Les marqueurs précoces de l'inflammation**

- Protéine C Réactive-ultrasensible (CRP<sub>us</sub>); Cytokines (Interleukines (IL6)).

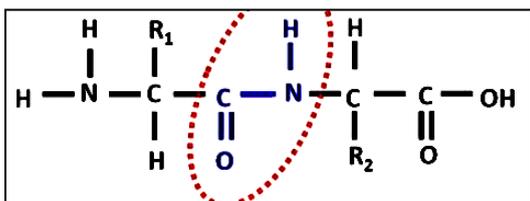
**c) Les marqueurs de la progression et de vulnérabilité de la plaque**

- Phospholipase A2 associée aux lipoprotéines (Lp-PLA2L) (associées aux LDL et à la Lpa) ; Myéloperoxydase (MPO) (enzyme du stress oxydant) et Métalloprotéinases (MPPs) (enzymes qui dégradent le collagène).

# Chapitre 3 : METABOLISME DE L'AZOTE ET DES PROTEINES

## I. Rappels sur les protéines

### 1. Les acides aminés



Les protéines sont des macromolécules azotées composées d'une séquence d'acides aminés reliés entre eux par des liaisons peptidiques. Tous les acides aminés possèdent un groupe amine -NH sur leur carbone principal, leur permettant d'établir la liaison peptidique. Certains acides aminés possèdent également un groupe amine sur leur chaîne latérale. L'azote est donc un constituant majeur des protéines.

Parmi les acides aminés retrouvés chez l'homme, on distingue (*à connaître*) :

- les AA **essentiels** ou **indispensables**, ne pouvant être synthétisés par l'organisme car nous ne possédons pas les enzymes nécessaires (contrairement à certains animaux ou végétaux), ce qui implique un **apport exogène** :

leucine, thréonine, lysine, tryptophane, phénylalanine, valine, méthionine, isoleucine (*astuce : Le Très Lyrique Tristan Fait Vachement Méditer Iseult*)

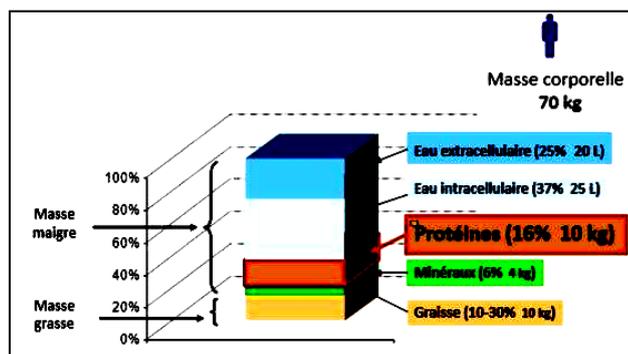
- les AA **semi-indispensables**, ne pouvant être synthétisés par le nouveau-né et l'enfant en bas âge car les enzymes requises ne sont pas encore matures, nécessitant un apport par l'**allaitement** :

histidine, tyrosine, cystéine, arginine, glutamine (*l'Histoire d'un Tyran C'est l'Argent et la Guerre*)

### 2. Importance vitale des protéines

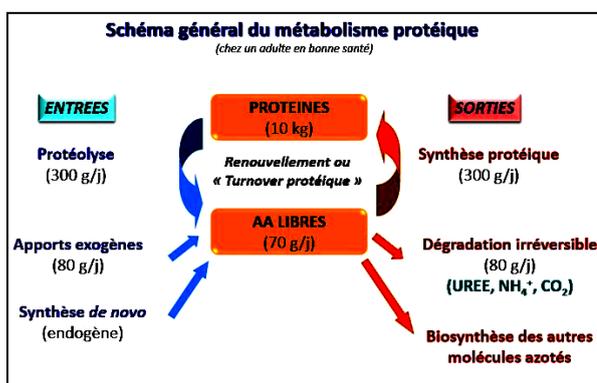
Les protéines font partie de la **masse maigre** avec l'eau extracellulaire et intracellulaire. Elles représentent une part importante de la masse corporelle d'un individu (environ 16%, soit 10 kg chez un homme de 70kg) et constituent la **2<sup>ème</sup> forme de stockage d'énergie**, juste après la graisse. De plus, elles ont une importance fonctionnelle du fait de leurs nombreux rôles (enzymes, récepteurs, hormones, molécules de structure...).

*Les chiffres ne sont pas à apprendre.*



## II. Le métabolisme protéique

### 1. Equilibre du métabolisme



On trouve un **pool libre** d'AA dans l'organisme, principalement intracellulaire mais aussi extracellulaire. Les protéines sont synthétisées à partir des AA puis dégradées pour redonner des AA. Ce cycle permet le **renouvellement protéique** ou « turnover » et repose sur l'équilibre entre **synthèse protéique** (anabolisme) et **protéolyse** (catabolisme) : les masses protéiques journalières synthétisées et dégradées sont équivalentes. Le pool d'AA libres est alimenté par la **protéolyse**, les **apports exogènes**, et la **synthèse de novo** (voie endogène) dans le cas des acides aminés non essentiels.

Les AA libres sont en partie consommés par la **protéosynthèse**.

Les AA excédentaires ne sont jamais stockés dans les cellules : le surplus est **dégradé** de manière **irréversible** en urée, ammonium et CO<sub>2</sub>. Ils sont aussi utilisés pour la synthèse d'autres molécules azotées (ex : hémoglobine, purines/pyrimidines).

Le **bilan azoté** ou balance azotée dépend de l'**équilibre** entre l'azote ingéré via les protéines consommées et l'azote excrété principalement sous forme d'urée. Il y a un équilibre entre la synthèse et la dégradation protéique, qui peut être perturbé en situation pathologique :

- en cas de synthèse supérieure à la protéolyse, le bilan azoté est **positif**, on est dans un **état anabolique**.
- en cas de protéolyse supérieure à la synthèse, le bilan azoté est **négatif**, on parle d'**état catabolique**.

## 2. Exploration du métabolisme protéique

L'évaluation du métabolisme des protéines est une pratique quotidienne en clinique. Le bilan azoté se calcule par la différence entre apports et pertes azotés. Cette excrétion se fait majoritairement par les urines (90%) mais aussi par le fèces.

Le bilan azoté peut être **mesuré** grâce à l'incorporation d'AA marqués à l'isotope stable, ce qui permet de tracer les AA au cours de leur métabolisme pour en déduire les quantités ingérées et éliminées.

*Ex : actuellement, la technique de référence consiste à réaliser une perfusion intraveineuse de  $^{13}C$ -leucine puis à mesurer le taux plasmatique d'un produit intermédiaire de son métabolisme (son alpha-cétoacide, c'est-à-dire le produit de sa désamination).*

Mais cette méthode a pour inconvénients d'être invasive et lourde à mettre en œuvre : elle est donc rarement utilisée en pratique clinique.

C'est pourquoi le bilan azoté est le plus souvent **estimé** par dosage de l'urée urinaire sur 24h, afin d'en déduire la quantité totale d'azote excrété (sachant que l'urée représente 85% de l'azote total excrété).

Dans les laboratoires de biochimie, on procède aussi quotidiennement au dosage plasmatique de nombreuses protéines (protidémie, albuminémie, créatininémie...).

## 3. Variations du renouvellement des protéines

Les protéines participent au renouvellement protéique de façon très variable, en fonction :

- de l'**importance quantitative** de la protéine qui varie selon les tissus
- de la **rapidité de renouvellement** de la protéine

Par exemple, le renouvellement dans le foie est quantitativement faible par rapport au muscle, mais il est plus rapide car le foie doit être capable de synthétiser rapidement les protéines nécessaires en réponse à un signal de régulation dans une situation donnée.

Le turnover protéique varie également chez un individu, en situation **physiologique** comme **pathologique**, en fonction :

- de l'**âge** : il est **plus important** pendant la jeunesse avec une **synthèse supérieure à la protéolyse** (15 g/kg/j chez le nouveau-né contre 4 g/kg/j chez l'adulte).
- de l'**état nutritionnel** : il est **réduit** au cours du jeûne car **la protéolyse est augmentée** par rapport à la synthèse afin d'utiliser les AA comme substrats énergétiques (néoglucogénèse).
- de l'**état pathologique** (syndrome inflammatoire, traumatisme, sepsis, brûlés) : le renouvellement est dans ce cas 3 à 4 fois **plus important**. La synthèse hépatique est augmentée, surtout en ce qui concerne les protéines de l'inflammation, mais il n'y a pas de gain protéique car l'organisme est en état catabolique. En effet, le muscle fournit par la protéolyse des substrats énergétiques en libérant des AA glucoformateurs (destinés à la néoglucogénèse). La **protéolyse est donc supérieure à la synthèse** en situation pathologique.

## III. Entrées des acides aminés

### 1. Apports exogènes

L'apport exogène en AA correspond à l'**apport alimentaire** en protéines qui subissent leur digestion au niveau du tractus digestif par les protéases, des enzymes clivant les liaisons peptidiques dans l'estomac et le duodénum.

Les aspects quantitatifs et qualitatifs sont tous les deux importants.

En ce qui concerne l'**aspect quantitatif**, les apports chez l'adulte sont de 70 à 100 g/j dans les pays développés. Les besoins en AA varient en fonction :

- des apports en **autres nutriments**
- de l'**activité physique**
- du **sexe** : ils sont légèrement supérieurs chez l'homme (55 g/j contre 45 g/j chez la femme)
- de l'**âge** : ils sont nettement plus élevés chez le nouveau-né (110 g/j)

En cas d'apport protéique insuffisant, on peut développer des états pathologiques de **malnutrition protéino-calorique**. On distingue deux formes cliniques de carence :

- la **carence protéique ou Kwashiorkor**: elle se développe chez l'enfant de 6 mois à 3 ans **après le sevrage**, principalement dans les pays en développement, lorsque l'apport alimentaire incomplet ne parvient pas à remplacer l'apport par allaitement. Elle se manifeste par une maigreur au niveau des membres, un ventre gonflé, un engorgement du foie (hépatomégalie) et un arrêt de la croissance.
- la **carence globale ou marasme nutritionnel** : elle correspond à une carence combinée en **protéines, vitamines et minéraux**, qui se manifeste par une anorexie.

Les patients récemment opérés, cancéreux ou brûlés ont des besoins protéiques beaucoup plus élevés car les pertes protéiques sont importantes, c'est pourquoi ils sont souvent sujets aux carences.

## 2. Apports endogènes

Les apports endogènes sont assurés par la **protéolyse** ou **catabolisme** protéique. Ils constituent la principale source d'AA pour l'organisme (à hauteur de 75%).

Le catabolisme varie selon :

- le type de protéine : sa fonction, sa localisation (intracellulaire/extracellulaire, mitochondriale...), ses modifications post-traductionnelles
- les conditions physiologiques ou pathologiques : état de stress, carence nutritionnelle, régulation hormonale

La protéolyse possède de multiples fonctions :

- le **ménage cellulaire** qui consiste en le renouvellement des protéines et l'élimination des protéines anormales et destoxines.
- la **genèse des peptides antigéniques** impliqués dans la réponse immunitaire (par lyse des protéines des agents pathogènes lors de la phagocytose afin de recycler le peptide antigène).
- la **production d'énergie** en situation de carence, réalisée notamment par le muscle pour libérer des AA glucoformateurs.
- la régulation de l'**abondance tissulaire des enzymes** : par exemple, la LDH est exprimée dans différents tissus, son activité dans chaque tissu peut être modulée par dégradation.

Ce phénomène **consomme beaucoup d'énergie** et est **finement régulé** par les conditions nutritionnelles et hormonales.

## 3. Les systèmes protéolytiques

Nous possédons plusieurs systèmes protéolytiques :

- le **système lysosomal** qui est très actif, surtout dans le **foie** et les **reins** (il représente environ 15% de la protéolyse). Il est **ATP-dépendant**.
- le **protéasome**, très actif dans le **muscle**, surtout au cours de l'état catabolique. Il est également **ATP-dépendant**.
- le **système Calpaïne-Calpastatine** qui est quant à lui plutôt **minoritaire** et **calcium-dépendant**. Ce système se trouve dans le **cytosol** et participe à la dégradation des protéines du **cytosquelette**.

### a. Le système lysosomal

Les lysosomes sont des organites présents dans le cytosol qui contiennent une grande variété d'enzymes de dégradation actives à pH acide ( $\approx 5$ ) : hydrolases, protéases, glycosidases, lipases, cathepsines...

Il existe 2 voies d'entrée dans le lysosome :

- **la voie hétérophagique (à gauche)**:

elle intervient dans la régulation des protéines **extracellulaires** et **membranaires**.

Elle permet par exemple

**l'internalisation de récepteurs par endocytose**. Les vésicules issues de la membrane et contenant les récepteurs rejoignent d'abord un endosome précoce, puis la protéine peut être **recyclée** à la membrane ou bien rejoindre un endosome tardif et enfin un lysosome pour y être **dégradée**.

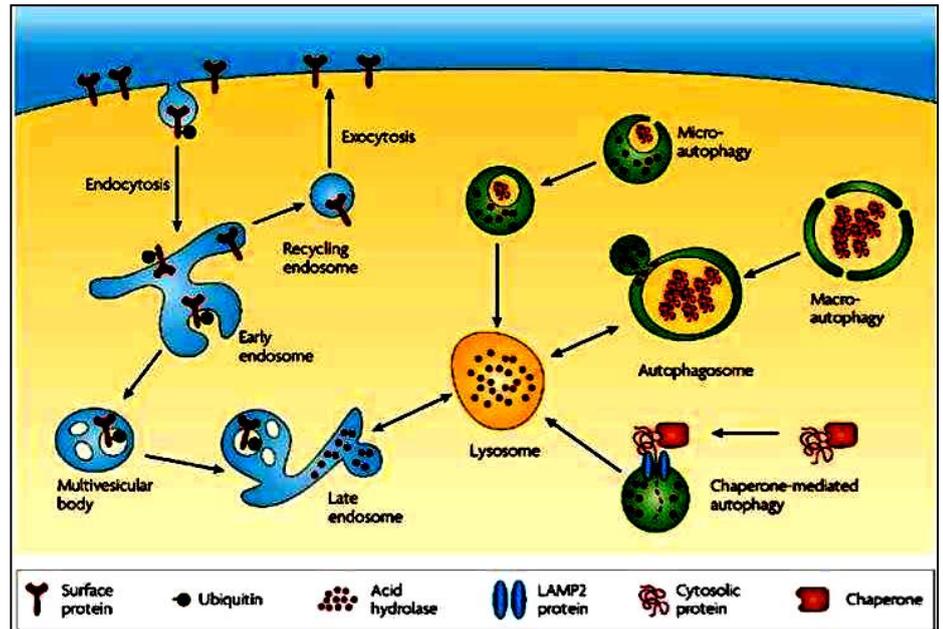
- **la voie autophagique (à droite)** :

elle intervient dans la régulation des protéines **cytosoliques** et comporte 3 mécanismes :

- la **micro-autophagie** : elle concerne les **petites protéines** qui vont être capturées avec une fraction de cytosol par **invagination** de la membrane d'une vésicule, qui va ensuite fusionner avec le lysosome contenant les enzymes protéolytiques.

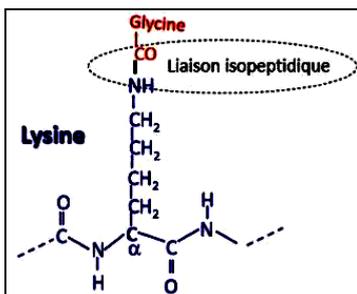
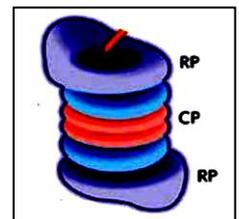
- la **macro-autophagie** : elle permet la dégradation des **protéines de grande taille** et même de certains **organites**. Les constituants sont enveloppés par plusieurs vésicules qui vont former un **autophagosome** destiné à fusionner avec le lysosome. Ces deux voies sont très peu spécifiques.

- l'**autophagie médiée par les protéines chaperonnes** : cette voie est **spécifique** car les protéines chaperonnes peuvent marquer une protéine anormale devant être dégradée, et l'amener jusqu'à une vésicule d'autophagie pour y faire entrer la protéine via un récepteur. Comme dans les autres voies, cette vésicule fusionnera ensuite avec le lysosome.



### b. Le système ubiquitine-protéasome

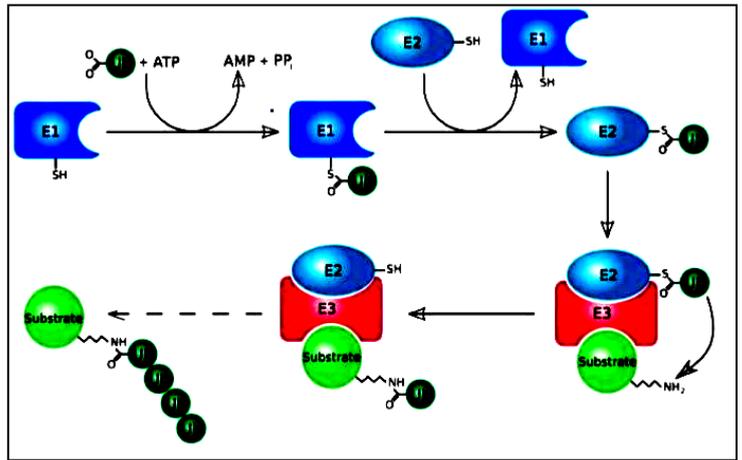
Le **protéasome** est un complexe multienzymatique **cytosolique** très actif, qui participe à la dégradation des **protéines intracellulaires** normales (*régulation des enzymes, protéines régulatrices*) ou anormales. Il représente la majorité de la protéolyse au niveau **musculaire**. Il est constitué de plusieurs unités : aux extrémités le complexe **19S** qui possède une activité **régulatrice** et au centre le complexe **20S** qui possède l'activité **catalytique** protéolytique.



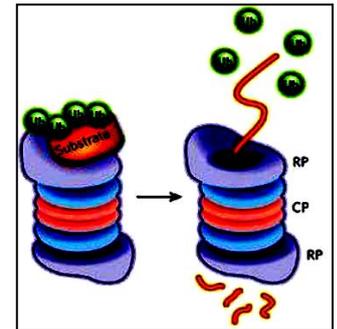
Ce système agit de manière **spécifique** car la protéine à dégrader doit auparavant être **taguée**, c'est-à-dire marquée par l'**ubiquitine**. C'est un peptide capable de se fixer sur un AA **lysine** d'une protéine en formant une **liaison isopeptidique** (entre le groupe carboxyle de sa glycine C-terminale et le groupe amine de la lysine). Cette liaison amide est identique à une liaison peptidique classique à ceci près qu'elle se situe sur une chaîne latérale et non sur le groupe amine principal. Une même protéine peut subir plusieurs ubiquitinations si elle possède plusieurs lysines (poly-ubiquitination).

L'ubiquitination est dépendante de 3 enzymes existant sous plusieurs isoformes:

- l'enzyme **E1**, qui participe à l'**activation** de l'ubiquitine en s'y liant via une liaison thioester en présence d'ATP (2 isoformes).
- l'enzyme **E2**, qui permet la **conjugaison** de l'ubiquitine en catalysant sa liaison isopeptidique avec la protéine (25 isoformes).
- l'enzyme **E3** ou ubiquitine ligase, qui a pour fonction la **reconnaissance** et la **ligation** du substrat sur lequel l'enzyme E2 va exercer son action catalytique (plus de 250 isoformes, ce qui témoigne de la haute spécificité de cet enzyme).



Une fois la protéine ubiquitinylée, elle peut être reconnue par la sous-unité 19S du protéasome (c'est la chaîne d'ubiquitine qui est reconnue et non pas la protéine en elle-même). L'ubiquitine est ensuite libérée pour être recyclée et la protéine entre dans le protéasome où elle perd d'abord sa conformation (perte de ses structures tertiaire et secondaire), puis elle est clivée sous sa forme primaire par la sous-unité 20S en AA qui sont libérés dans le cytosol.



### c. Les signaux de la protéolyse

Les mécanismes de ciblage permettant à la cellule de savoir quelle protéine dégrader et quand la dégrader ne sont pas tous connus, mais on sait que le ciblage de la protéolyse dépend entre autres du **pooids moléculaire**, du **degré de glycosylation** et du **point isoélectrique (pHi)** de la protéine.

De plus, les AA en position **N-terminale** peuvent moduler la durée de vie des protéines :

- les **AA stabilisants** comme **la méthionine, la sérine et la glycine** confèrent une demi-vie longue à la protéine.
- les **AA déstabilisants** comme **l'arginine, la lysine et l'histidine** (AA basiques) lui confèrent une demi-vie courte.

Enfin, la dégradation de certaines protéines peut être régulée par des **séquences signal** appelées **motifs de destruction PEST** (car riches en Pro-Glu-Ser-Thr) : ce sont de courtes séquences peptidiques présentes au sein des protéines et qui deviennent de plus en plus exposées au cours du vieillissement, ce qui favorise leur reconnaissance et donc la dégradation de la protéine.

## IV. Sorties des acides aminés

Le pool libre d'AA est consommé par la synthèse protéique en cas de besoin. Les AA excédentaires ne sont jamais stockés mais sont dégradés de manière irréversible par **catabolisme oxydatif**, en 2 étapes :

- la 1<sup>ère</sup> étape fait appel à un mécanisme **commun à tous les AA** et consiste en la perte du **groupement amine -NH<sub>2</sub>**, qui va être éliminé sous forme d'**urée** chez l'homme car l'ammonium NH<sub>3</sub> est toxique.
- la 2<sup>ème</sup> étape consiste en la dégradation de **la chaîne carbonée** et est **spécifique** de l'AA (car chaque AA possède une chaîne latérale différente). La dégradation du squelette carboné libère des produits réactifs qui pourront être réutilisés dans d'autres voies métaboliques : le **CO<sub>2</sub>** qui est réutilisé pour la carboxylation, le **glucose** qui peut être consommé par la glycolyse, **l'acétyl-CoA** qui initie le cycle de Krebs et les **corps cétoniques** qui représentent une source d'énergie. Le métabolisme des AA est donc lié aux autres métabolismes.

## 1. Dégradation du groupement amine

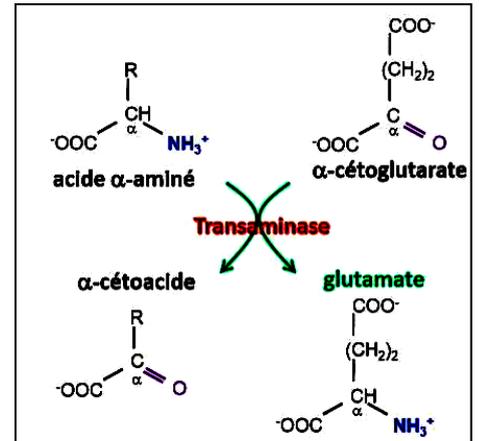
Le groupe aminé est retiré de l'AA par **transamination**, **désamination oxydative** ou **désamination NON oxydative**. Ces réactions vont donner un  **$\alpha$ -cétoacide**. Elles sont actives surtout dans le foie.

### a. Transaminations

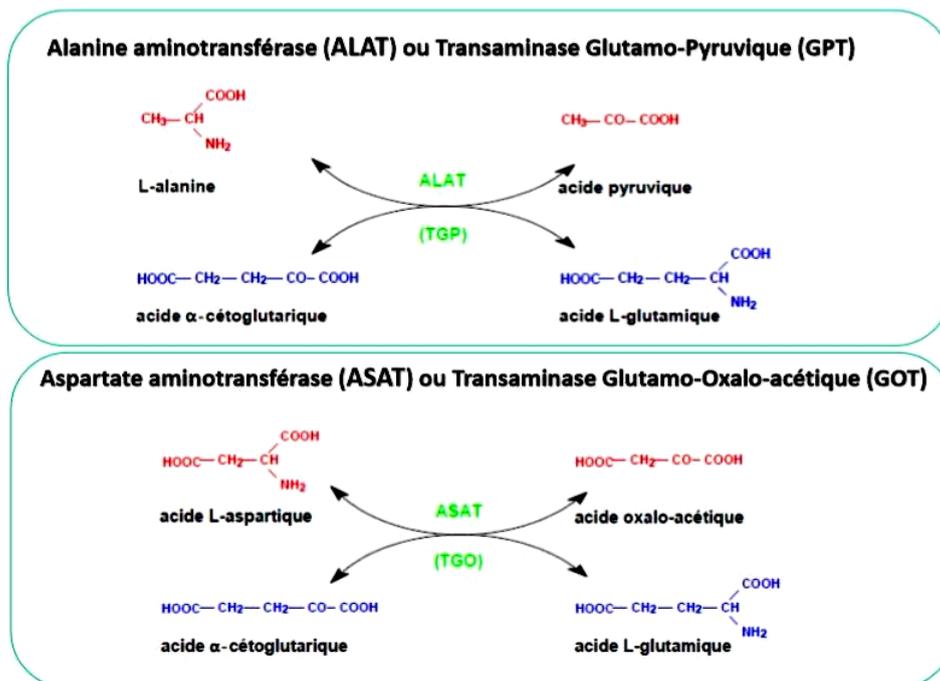
La majorité des AA ne peuvent être désaminés directement : c'est pourquoi la 1<sup>ère</sup> étape de leur catabolisme est la transamination. C'est une réaction **commune à tous les AA**. Elle correspond au transfert d'un groupe aminé d'un AA vers un  **$\alpha$ -cétoacide** (faisant partie des  $\alpha$ -cétoacides), ce qui va donner du **glutamate** et un autre  **$\alpha$ -cétoacide** (selon l'acide AA transaminé). Le glutamate pourra ensuite être désaminé directement.

La transamination est une réaction **réversible** catalysée par une **transaminase spécifique** du substrat. Les transaminases utilisent toutes le même coenzyme : le **phosphate de pyridoxal (PLP)**, dérivé de la vitamine B6 ou pyridoxine.

Cette réaction joue un rôle important dans la dégradation mais également dans la synthèse et la transformation des AA.



Exemple : les transaminases les plus souvent dosées en biochimie pour évaluer l'état hépatique sont l'**ALAT** et l'**ASAT**.



- l'**ALAT** (*alanine aminotransférase*) ou **TGP** (*transaminase glutamo-pyruvique*) catalyse la dégradation de l'**alanine** en pyruvate. Le groupe amine de l'alanine est transféré sur l' $\alpha$ -cétoglutarate qui est ainsi transformé en glutamate.

- l'**ASAT** (*aspartate aminotransférase*) ou **GOT** (*transaminase glutamo-oxalo-acétique*) catalyse la dégradation de l'**aspartate** en oxaloacétate selon le même mécanisme de transamination faisant intervenir l' $\alpha$ -cétoglutarate.

Ces réactions sont **réversibles** et produisent des composés intermédiaires du cycle de Krebs (pyruvate, oxaloacétate). Ces deux enzymes sont des marqueurs de la cytolysse hépatique : une élévation de leur taux sérique est signe de pathologie hépatique.

Les réactions de transamination sont à la base du **cycle de l'urée**.

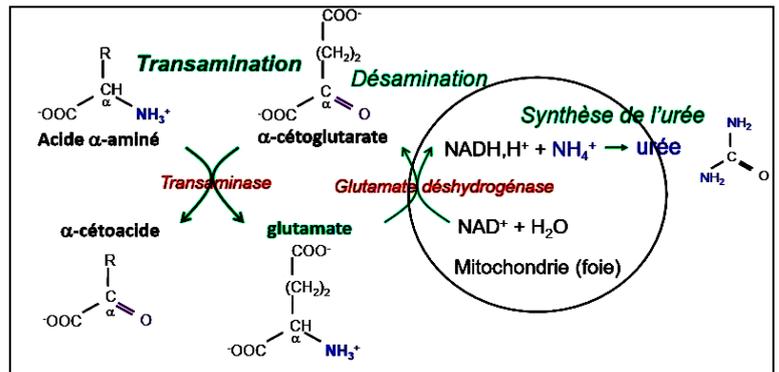
## b. Désaminations oxydatives

Une fois le glutamate formé, il peut être désaminé **directement** (contrairement aux autres AA) par la **glutamate déshydrogénase** en  $\alpha$ -cétoacétate. Cette réaction de **désamination oxydative** est un type d'hydrolyse qui a lieu dans les mitochondries du foie en présence du coenzyme  $\text{NAD}^+$ . Elle est **irréversible**.

La glutamate déshydrogénase est une enzyme **allostérique** quantitativement très importante dans la cellule hépatique. Elle catalyse une étape

cruciale car commune au catabolisme de tous les AA : elle est par conséquent très régulée.

Cette régulation dépend de l'**état énergétique** de la cellule. En cas de déficit énergétique, elle va être activée par l'**ADP** et le **GDP**, afin de stimuler le catabolisme des AA pour obtenir des substrats énergétiques. Si la cellule est en surcharge énergétique, elle sera riche en **ATP** et **GTP** qui vont inhiber l'enzyme.



## c. Désaminations non oxydatives

Certains AA porteurs d'un groupement  $-\text{OH}$  sur leur chaîne latérale peuvent être désaminés **directement** par des **déshydratases** qui utilisent le coenzyme **PLP** (un groupement prosthétique de l'enzyme).

La **sérine** est désaminée en pyruvate et la **thrénine** en  $\alpha$ -cétoacétate. Ces deux réactions libèrent de l'ammonium  $\text{NH}_4^+$ , composé toxique qui doit être éliminé.

## V. Élimination de l'azote

Chez l'homme, l'azote ne peut être éliminé directement sous forme d'ammoniac à cause de sa toxicité. Il est transformé pour être éliminé sous forme d'urée : on parle d'organisme **urotélique**.

*Les animaux aquatiques sont ammoniotéliques car l'ammoniac peut être dilué dans l'eau, ce qui réduit sa toxicité.*

*Les oiseaux et reptiles sont dits uricotéliques car ils excrètent l'azote sous forme d'acide urique.*

L'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) est une molécule **neurotoxique** : son caractère **liposoluble** lui permet de traverser librement la **barrière hémato-encéphalique** et de pénétrer en excès dans les cellules neuronales, ce qui peut causer des lésions cérébrales. Le mécanisme responsable de ces lésions n'est pas encore entièrement connu, mais il existe plusieurs hypothèses :

- le  $\text{NH}_3$  réagit avec l' $\alpha$ -cétoacétate par **transamination** pour donner du glutamate. En cas d'excès de  $\text{NH}_3$  dans les cellules cérébrales, l' $\alpha$ -cétoacétate est consommé en excès ce qui entraîne une **déplétion en  $\alpha$ -cétoacétate**, responsable d'un dysfonctionnement du cycle de Krebs et donc d'une phosphorylation oxydative insuffisante : la production d'**ATP** est trop faible, ce qui provoque la mort des cellules neuronales.

- l'excès de  $\text{NH}_3$  réagit avec le glutamate pour produire de la glutamine, ce qui entraîne une **déplétion en glutamate**, précurseur du neurotransmetteur **GABA**. La production de GABA diminue, compromettant ainsi la survie de la cellule.

- l'excès de production de **glutamine** est responsable d'une **augmentation de sa concentration**, surtout dans les **astrocytes**, ce qui provoque un influx d'eau dans le cytosol par osmose. Cet influx peut causer un œdème cérébral, entraînant parfois un **coma** chez le patient.

## 1. Origine de l'azote

L'azote peut être d'origine endogène ou exogène.

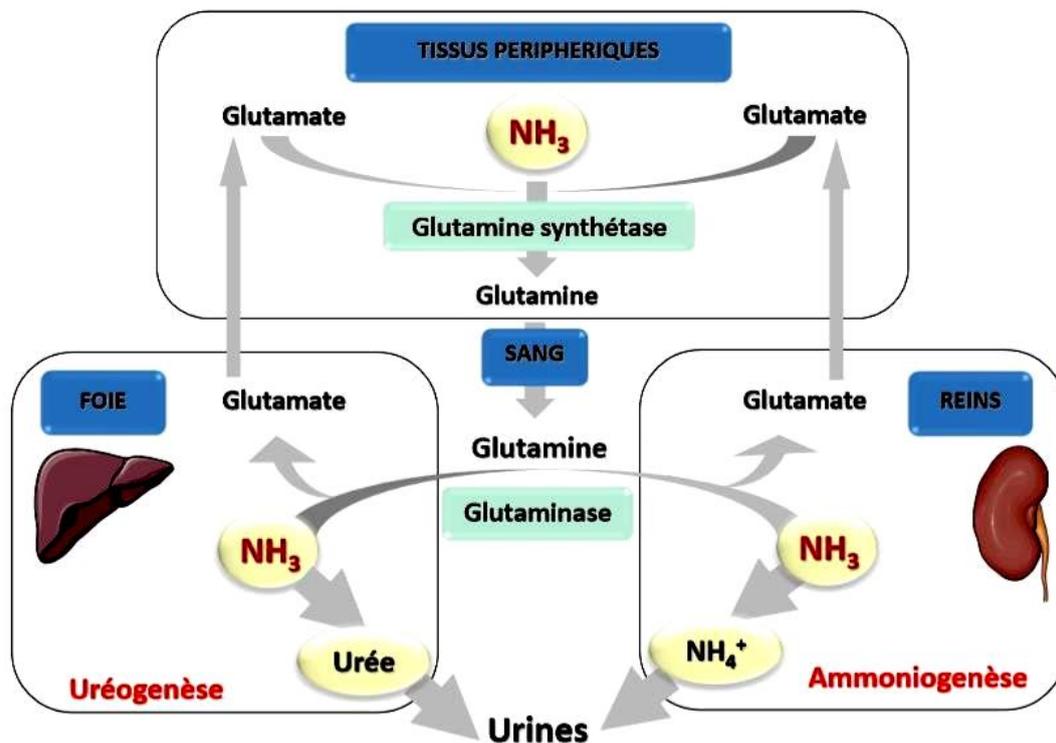
• Au niveau **endogène**, il provient :

- du catabolisme des AA : transaminations, désamination oxydative de la glutamine, désaminations non oxydatives et désamidation de la glutamine par la glutaminase
- de la désamination des bases puriques et pyrimidiques
- de la désamination des monoamines (sérotonine, histamine, dopamine, adrénaline)
- de la désamination du carbamyl phosphate

• Au niveau **exogène** (minoritaire), il provient des AA des protéines ingérées ou rétrodiffusées dans les intestins, ou bien de l'urée rétrodiffusée. L'azote est libéré dans les intestins par des **uréases et des désaminases bactériennes**.

La majorité (80%) du  $\text{NH}_3$  est absorbée par le foie via la veine porte et le reste est éliminé dans les selles sous forme d'ammonium  $\text{NH}_4^+$ .

L'ammoniac a besoin d'un **transporteur sanguin** pour rejoindre le foie : les tissus périphériques exportent l'azote vers le foie surtout sous forme de **glutamine** après combinaison de l'ammoniac et du glutamate, grâce à la **glutamine synthétase**, et aussi sous forme d'**alanine** pour le muscle. Puis dans le **foie**, la glutamine est hydrolysée par la **glutaminase** en glutamate et en ammoniac qui va participer au cycle de l'urée. Dans le **rein**, le  $\text{NH}_3$  est éliminé sous forme d'**ammonium**  $\text{NH}_4^+$  (15-20 % de l'azote urinaire total). Cette élimination dépend de l'équilibre entre les formes  $\text{NH}_3 + \text{H}^+$  et  $\text{NH}_4^+$ , lui-même régi par le pH.



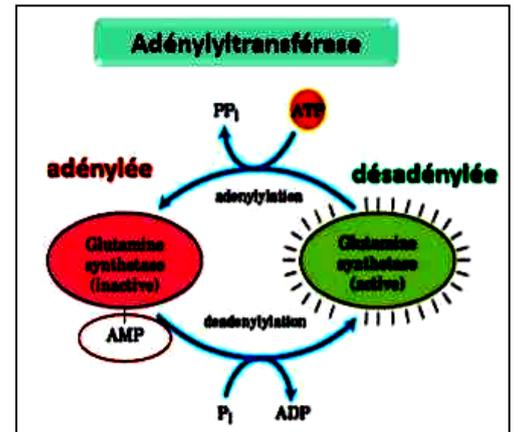
## 2. Glutaminogénèse et cycle de l'alanine

La glutamine est l'AA le plus abondant dans le plasma. Elle contient 2 groupements amines, l'un sur le carbone  $\alpha$  et l'autre sur la chaîne latérale. C'est un **transporteur d'azote** entre les tissus : entre le foie où a lieu l'**uréogénèse** et le rein, lieu de l'**ammoniogénèse**. La glutamine participe à la synthèse de nombreux composés azotés : c'est un substrat pour la production de bases nucléiques et un précurseur d'AA : Proline, Ornithine, Arginine.

## Synthèse de la glutamine :

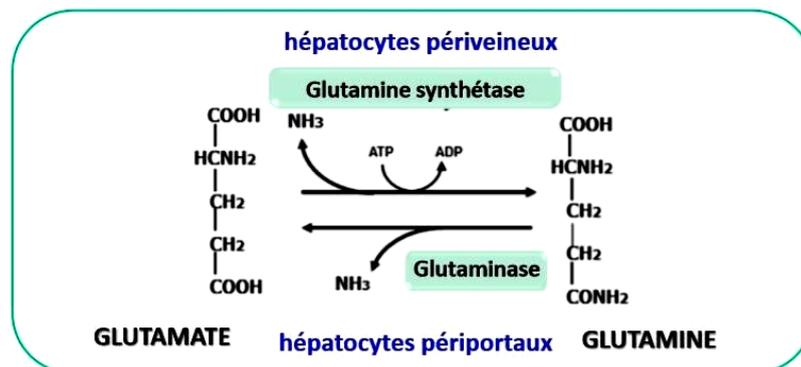
La glutamine est synthétisée à partir du glutamate qui acquiert un groupement amine grâce à la **glutamine synthétase**. Cette réaction est irréversible. La synthèse a lieu principalement dans le **foie** (uniquement dans les **hépatocytes périverneux**) et le **muscle** mais aussi dans tous les autres tissus, **sauf les tissus rénaux et intestinaux**.

La GS est une enzyme **allostérique ATP dépendante** qui a un rôle critique dans le contrôle du métabolisme de l'azote (car le glutamate est le produit ultime de la dégradation de tous les AA). Elle est très finement régulée par **rétro-inhibition cumulative**, c'est-à-dire qu'elle est inhibée par l'ensemble des produits terminaux du métabolisme de la glutamine (*ces métabolites ne sont pas à connaître*). Elle est aussi régulée par l'**adényl transférase**, qui catalyse l'ajout d'un AMP sur l'enzyme. La GS est inactive quand elle est adénylée et active quand elle est désadénylée.



## Dégradation de la glutamine :

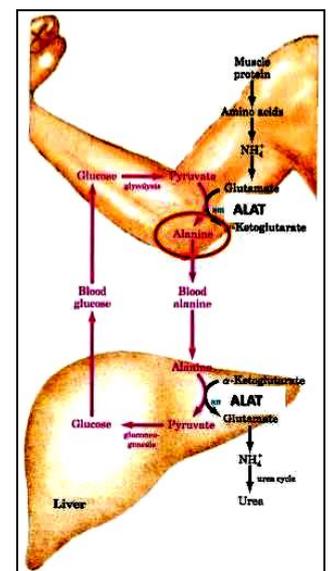
La glutamine est dégradée en glutamate par désamination grâce à la **glutaminase**, au niveau des **hépatocytes périportaux**. En effet, la synthèse et la dégradation ne peuvent pas avoir lieu dans la même cellule. La glutaminase hépatique est régulée négativement par **acidose** (elle est inactive pour un pH bas). Elle est activée par la **leucine**, les **ions phosphates** et les **bicarbonates**.



## Cycle de l'alanine :

Il désigne le circuit de l'alanine et des AA entre le muscle et le foie. L'alanine est le 2<sup>ème</sup> transporteur important de l'azote, surtout retrouvé dans le **muscle**. Lors d'un **jeûne** ou d'un **exercice physique prolongé**, le muscle utilise des **AA glucoformateurs** comme source d'énergie. Leur dégradation produit de l'azote qui va former du glutamate par transamination sur l' $\alpha$ -CG. Le glutamate va ensuite réagir par transamination avec le pyruvate pour former de l'**alanine**, sous l'action de l'**ALAT**. L'alanine est libérée dans la circulation sanguine puis est captée par le **foie** où a lieu la réaction inverse : l'alanine réagit avec l' $\alpha$ -CG sous l'action de l'**ALAT** pour former du glutamate et du pyruvate. Le pyruvate est ensuite utilisé pour produire du glucose par **néoglucogenèse hépatique**. Ce glucose est libéré dans le sang et peut rentrer dans le muscle pour participer à la **glycolyse**. Le glutamate est quant à lui désaminé, libérant de l'ammoniac qui va entrer dans le **cycle de l'urée**.

**Remarque :** le glutamate en excès issu de la dégradation musculaire des AA peut également former de la **glutamine** pour le transport du groupe amine jusqu'au foie.



### 3. Cycle de l'urée

L'élimination de l'**ammoniac** issu de la dégradation des AA se poursuit par le **cycle de l'urée**, également appelé cycle de Krebs-Henseleit, cycle de l'ornithine ou uréogénèse. C'est la voie préférentielle d'élimination de l'azote en excès (85% de l'azote éliminé). Il permet la formation d'une molécule d'**urée** et la régénération de l'**ornithine**.

Chez les mammifères, ce cycle se déroule uniquement au niveau du **foie**, dans les **hépatocytes périportaux**.

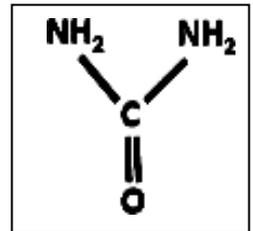
Le cycle de l'urée comporte **6 réactions** :

- **3 réactions** qui ont lieu dans la **matrice mitochondriale**
- **3 réactions** qui se déroulent dans le **cytosol**

Il y a donc nécessité d'avoir des transporteurs entre la matrice mitochondriale et le cytosol :

- **2 transporteurs citrulline-ornithine**
- **1 translocase glutamate-aspartate**

L'urée est une molécule très simple constituée d'un groupe carboxyle portant deux amines. Le 1<sup>er</sup> amine provient du **NH<sub>3</sub>** issu de la désamination de la glutamine par la glutaminase et le 2<sup>ème</sup> amine est issu de l'**aspartate**.



C'est un déchet « parfait » du métabolisme de l'azote car c'est une molécule neutre et très soluble (1800g/L d'eau), ce qui réduit le risque de formation de calculs rénaux par précipitation. De plus, l'urée est peu toxique et ne possède pas de fonction métabolique, ce qui permet d'éviter les interactions indésirables. Sa production est de 15-35 g/jour en moyenne, mais elle varie énormément en fonction des apports alimentaires.

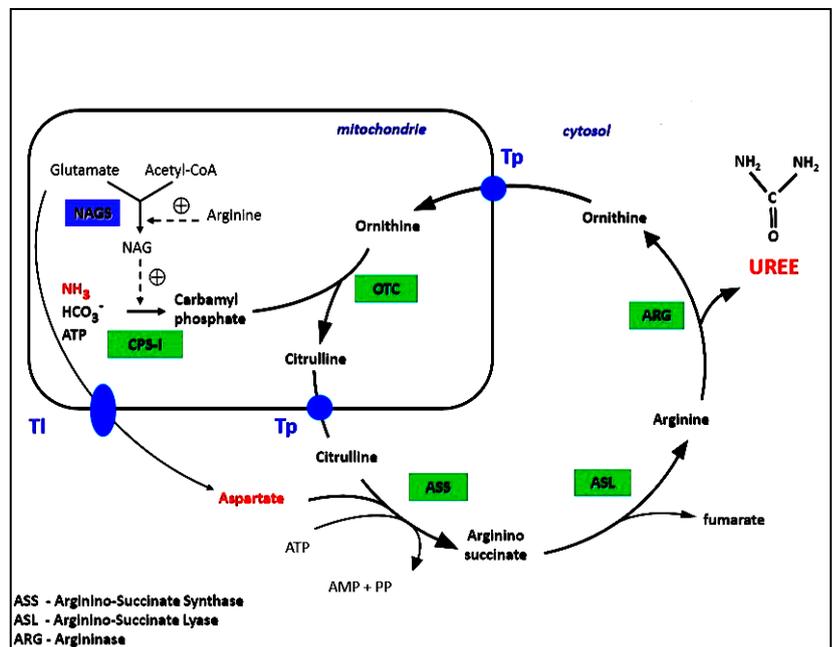
#### a. Réactions du cycle de l'urée

Les 3 étapes mitochondriales :

- la 1<sup>ère</sup> réaction ne fait pas vraiment partie du cycle de l'urée mais elle est importante. C'est une réaction entre le **glutamate** et l'**acétyl-CoA** qui est catalysée par la **NAGS** (*N-Acetyl Glutamate Synthase*) et produit du **NAG** (*N-Acetyl Glutamate*).

- le NAG n'entre pas dans le cycle, c'est un activateur de la **CPS-I** (*Carbamyl Phosphate Synthétase 1*), une enzyme qui catalyse la formation de **carbamyl phosphate** à partir de **NH<sub>3</sub>**, **HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>** et **ATP**.

- le carbamyl phosphate est une molécule simple mais très réactive : il va réagir avec l'**ornithine** sous l'action de l'**OTC** (*Ornithine Trans Carbamylase*) pour former la **citrulline**.



Les 3 étapes cytosoliques :

- la citrulline va passer la membrane mitochondriale via le **transporteur citrulline-ornithine** et se retrouver dans le cytosol. Elle y réagit avec l'**aspartate** provenant de la transamination du glutamate : sous l'action de l'**ASS** (*Argino Succinate Synthase*), une enzyme **ATP dépendante**, la citrulline et le glutamate forment l'**arginosuccinate**.

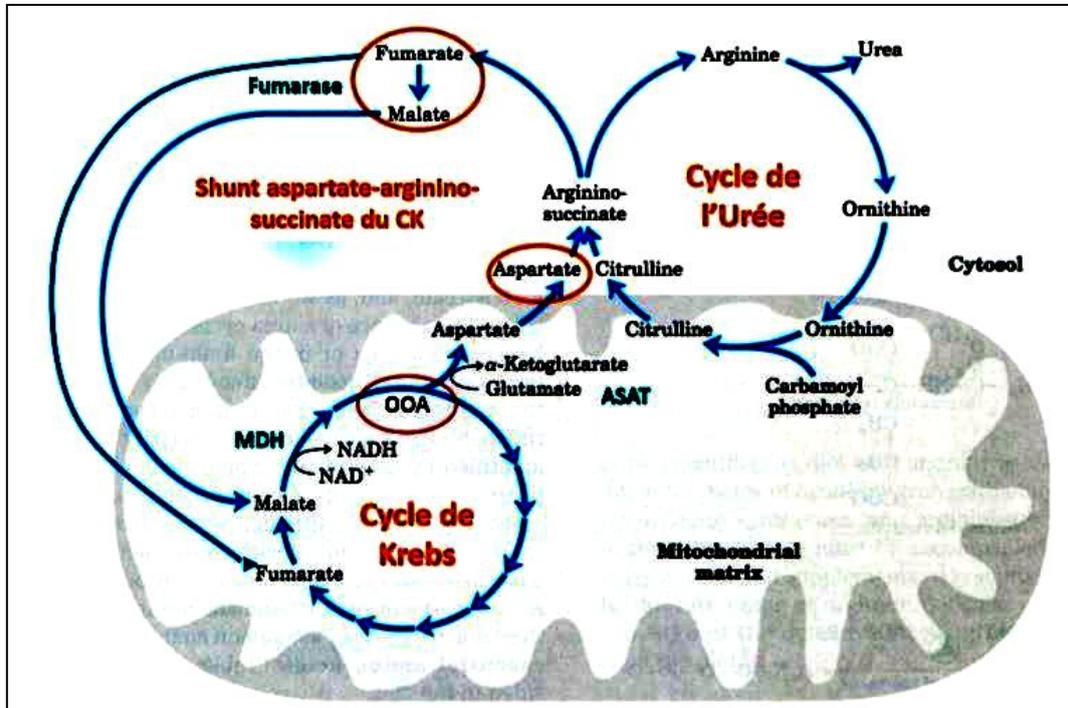
- l'arginosuccinate est ensuite hydrolysé par l'**ASL** (*Argino Succinate Lyase*) pour former du **fumarate**, un intermédiaire du cycle de Krebs, et de l'**arginine**, un AA basique non essentiel.

- l'arginine est ensuite dégradée par l'**Arginase** en **urée** et en **ornithine**, qui va retourner dans la mitochondrie via le transporteur citrulline-ornithine et recommencer le cycle en réagissant avec le carbamyl phosphate.

### Liens avec le cycle de Krebs :

Le cycle de Krebs se déroule dans la matrice mitochondriale alors que le cycle de l'urée se déroule à la fois dans la matrice et le cytosol. Ces cycles sont liés par 2 métabolites :

- le **fumarate** qui est présent dans le cytosol : il doit d'abord être transformé en **malate** pour entrer dans la mitochondrie, puis est transformé en **oxaloacétate** par la **Malate Déshydrogénase** (enzyme du cycle de Krebs).
- l'**oxaloacétate** peut être transformé en **aspartate** par une réaction de transamination avec le glutamate, catalysée par l'**ASAT**. L'aspartate peut ensuite rejoindre le cytosol et prendre part au cycle de l'urée en réagissant avec la citrulline.



### Bilan :



La synthèse d'urée nécessite deux molécules d'azote : une provenant de la désamination de la glutamine et une autre provenant de l'aspartate. Tous les substrats sont régénérés : l'aspartate est réutilisé et le fumarate entre dans le cycle de Krebs.

Cette synthèse nécessite un apport alimentaire important en **arginine** : c'est un AA non essentiel, mais le cycle de l'urée est le seul moyen de le synthétiser et nos besoins sont supérieurs à sa synthèse. L'arginine joue un rôle essentiel dans la régulation du cycle de l'urée.

### b. Régulation

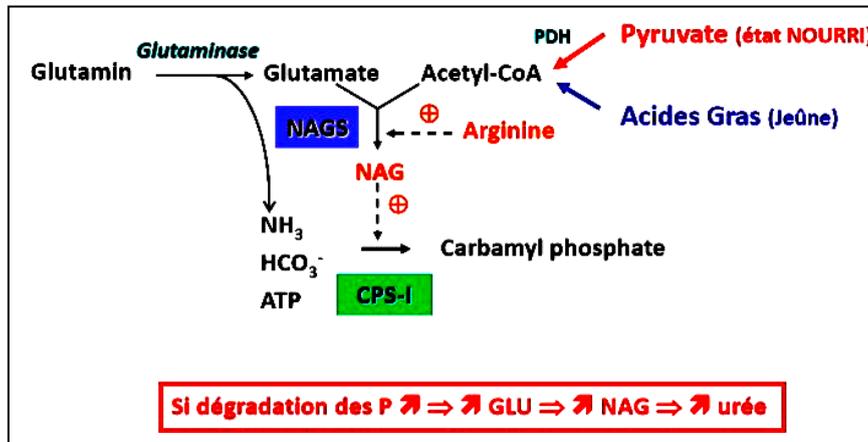
Le cycle de l'urée est régulé de 3 manières :

- par **allostérie**
- par la **disponibilité en substrat**
- par **régulation hormonale**

### Régulation allostérique :

La **CPS-I** est la 1<sup>ère</sup> cible de régulation. Elle est activée par le **NAG**, qui est synthétisé par la **NAGS**, elle-même activée par l'**arginine** (ce qui explique le besoin important en arginine). Le NAG est formé à partir du glutamate et de l'acétyl-CoA : une carence en acétyl-CoA ou en arginine va donc inhiber le cycle de l'urée.

A l'**état nourri**, l'acétyl-CoA est issu de la **glycolyse** : il provient de la déshydrogénation du **pyruvate** par la **PDH**. En période de **jeûne**, c'est le produit final de la  **$\beta$ -oxydation des AG**. En cas de **protéolyse importante**, la production de glutamate et de NAG va être augmentée, ce qui va **stimuler l'uréogénèse**.



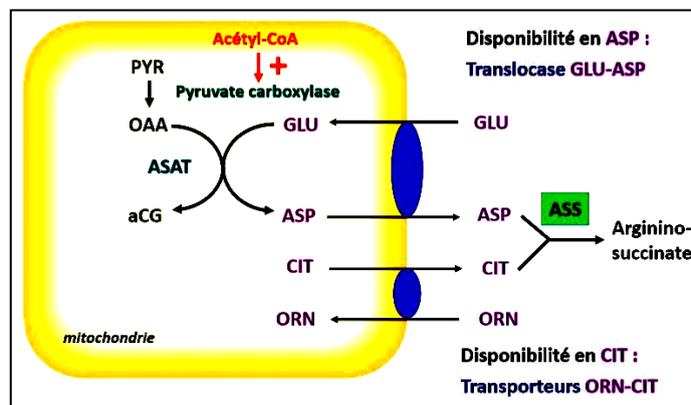
### Régulation par la disponibilité en substrat :

- La **CPS-I** est régulée par la disponibilité en substrats  $\text{NH}_3$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , et surtout en **ATP**.

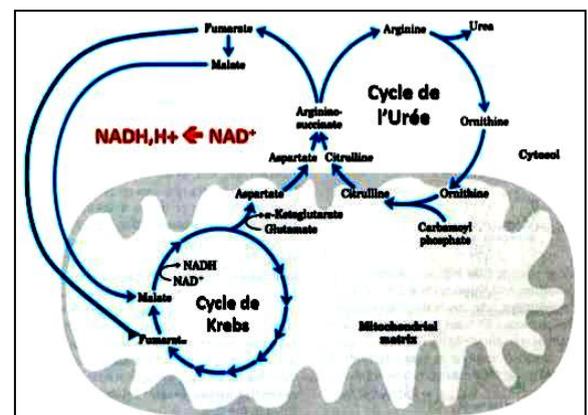
- L'**ASS** est le 2<sup>ème</sup> point de régulation. Ses substrats sont l'**aspartate** et la **citrulline**, présents dans la mitochondrie. La réaction est cytosolique, c'est pourquoi la disponibilité en substrats dépend de deux transporteurs de la membrane mitochondriale : la **translocase glutamate-aspartate** et le **transporteur ornithine-citrulline**.

L'aspartate est formé dans la mitochondrie par l'**ASAT** à partir de l'oxaloacétate et du glutamate.

L'oxaloacétate provient du cycle de Krebs, ou du pyruvate sous l'action de la **pyruvate carboxylase** (activée par l'acétyl-CoA).



- Le 3<sup>ème</sup> point de régulation est le **ratio  $\text{NAD}^+/\text{NADH}, \text{H}^+$** . Il reflète l'**état énergétique** de la cellule. La disponibilité en  $\text{NAD}^+$  est très importante car elle conditionne l'activité de la **chaîne respiratoire**. C'est un coenzyme accepteur de protons qui est nécessaire à de nombreuses enzymes, dont la **malate déshydrogénase**, qui transforme le malate en oxaloacétate au cours du cycle de Krebs. En cas de déficit en  $\text{NAD}^+$ , le cycle de Krebs ne peut donc pas fonctionner correctement, et le cycle de l'urée non plus puisque l'oxaloacétate est en déficit.



Lors d'une **intoxication alcoolique**, l'**ADH** (*Alcool DésHydrogénase*) dégrade l'alcool à l'aide du  $\text{NAD}^+$  : ce coenzyme est consommé prioritairement pour la détoxification alcoolique, ce qui provoque une **diminution de l'uréogénèse**.

Ainsi, les patients alcooliques ont du mal à éliminer l'ammoniac par la synthèse d'urée, ce qui favorise le développement de rétinopathies et de troubles neurologiques.

Le cycle de l'urée est régulé au cours des différents **états nutritionnels** :

- en **période post prandiale**, 50% de l'azote absorbé est transformé en urée. Les organes les plus importants dans ce processus sont l'intestin et le foie.

Au niveau **intestinal**, la **glutamine** et le **glutamate** sont **totalemtent oxydés** dans les entérocytes. Les autres AA sont absorbés et passent dans la circulation portale. Il y a ainsi un flux d'AA et d'ammoniac en direction du foie.

Puis au niveau **hépatique**, la glutamine est hydrolysée en glutamate +  $\text{NH}_3$  par la **glutaminase** des hépatocytes, avec une activité très élevée car cet enzyme est activé par l'ammoniac. L'**alanine** est transformée en **aspartate**, qui peut entrer dans le cycle de l'urée.

- en **période de jeûne modéré** (1 à 3 jours), le processus d'épargne protéique consomme les substrats uréogéniques.

La protéolyse n'est pas encore activée mais les **AA glucoformateurs** participent déjà à la **néoglucogénèse**.

- en **période de jeûne prolongé** (plus de 3 jours), la **protéolyse** est activée, ce qui stimule la synthèse de l'urée : le **bilan azoté** est négatif.

L'uréogénèse est aussi régulée par les **apports en azote** :

- apports **exogènes** : les **régimes hyperprotéidiques** stimulent le catabolisme protéique et le cycle de l'urée et donc la production d'urines concentrées.

- apports **endogènes** : on retrouve souvent un état d'**hypercatabolisme protéique** chez les patients en réanimation, brûlés ou en état traumatique. Les patients atteints d'un cancer ont des urines riches en urée.

Régulation hormonale :

- le **cortisol** est un **catabolisant**, il augmente la protéolyse et l'efflux musculaire, et par conséquent augmente l'uréogénèse.

- le **glucagon** est également un **catabolisant**, il augmente le transport hépatocytaire des AA et donc l'uréogénèse.

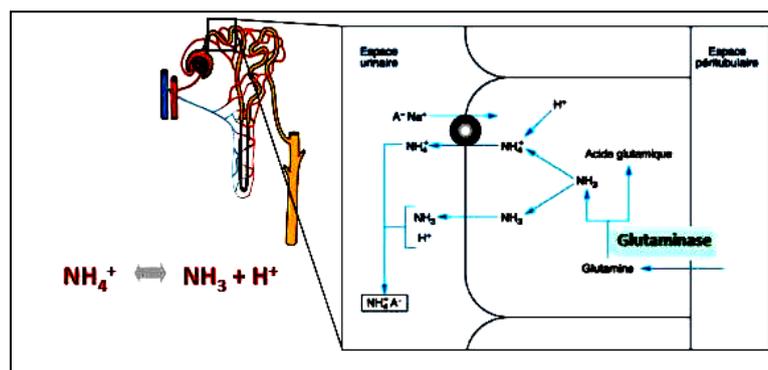
- l'**insuline** est un **anabolisant** qui agit fortement dans le muscle, elle oriente les AA vers la synthèse protéique, diminuant ainsi l'uréogénèse.

#### 4. Ammoniogénèse rénale

L'ammoniogénèse consiste en la biosynthèse d'**ammonium**  $\text{NH}_4^+$  par le **rein** au niveau des cellules du tubule proximal. Ce processus participe à la régulation de l'**équilibre acido-basique** en éliminant l'excès de protons.

La **glutamine** présente dans le sang rentre dans la cellule rénale en traversant sa **membrane basale**. Elle y est dégradée par la **glutaminase** en glutamate +  $\text{NH}_3$ . Le  $\text{NH}_3$  va réagir avec un proton  $\text{H}^+$  pour former l'ion  $\text{NH}_4^+$ , qui va être sécrété dans l'espace urinaire où il va réagir avec un anion. La molécule ainsi formée va être bloquée dans les urines car elle ne pourra pas être réabsorbée par les cellules rénales, et l'azote sera éliminé sous cette forme (représentant 20% de l'azote urinaire).

L'ammoniogénèse est augmentée en **conditions cataboliques**, en période de **jeûne**, lors de l'**acidose** pour éliminer des  $\text{H}^+$ , et en cas d'**insuffisance hépatique** afin de compenser la diminution de l'élimination d'azote par le foie.



## 5. Pathologies de l'élimination

L'ammoniaque est présent dans le sang en temps normal et correspond à la **forme en solution de l'ammonium** (NH<sub>4</sub>OH). Les valeurs normales de l'**ammoniémie** (taux sanguin d'ammoniaque) sont **plus élevées chez l'homme** (14-55 µmol/L) que chez la femme (11-48 µmol/L).

Le nouveau-né est en **hyperammoniémie physiologique** (> 100 µmol/L) car les enzymes impliquées dans l'élimination de l'azote ne sont pas encore matures. Cette hyperammoniémie transitoire est bien tolérée chez l'enfant, elle n'est pas pathologique.

En revanche, une élévation de la concentration sanguine de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> au-delà de 100 µmol/L est toxique chez l'adulte et correspond à une hyperammoniémie.

Si lors d'un dosage, on trouve une ammoniémie entre 50 et 100 µmol/L, cela correspond à la zone grise : il faut refaire le dosage pour écarter la possibilité d'une hyperammoniémie transitoire due à la consommation d'alcool.

Les manifestations de l'hyperammoniémie sont variées :

- **encéphalopathies** pouvant aller jusqu'à l'œdème cérébral (à cause du NH<sub>3</sub>, cf partie V)
- **atteintes digestives et hépatiques** très variées
- **troubles psychiatriques** (langage, psychose...)

Ces manifestations ne sont pas spécifiques de l'hyperammoniémie et se retrouvent à n'importe quel âge, de la période néonatale à l'âge adulte. De plus, on peut avoir un tableau aigu ou chronique. Le diagnostic en est donc compliqué.

Une hyperammoniémie peut être **primaire**, c'est-à-dire héréditaire, ou **secondaire**, c'est-à-dire acquise, due à une autre anomalie.

### Hyperammoniémies secondaires :

Elles peuvent être causées par :

- l'**insuffisance hépatique sévère**, qui est la cause d'hyperammoniémie secondaire la plus courante en clinique. Cette insuffisance rénale peut être due à une hépatite aiguë (virale ou toxique) ou à une cirrhose. La synthèse hépatique de l'urée est diminuée et l'ammoniaque s'accumule dans le sang.
- l'**acidose**, caractérisée par un défaut d'élimination urinaire du NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en raison d'une **insuffisance rénale**.
- les **anomalies héréditaires du métabolisme** qui ne concernent pas directement le cycle de l'urée, par exemple l'acidurie organique qui s'accompagne d'une acidose métabolique, un déficit de la β-oxydation des AG ou encore un déficit enzymatique de la chaîne respiratoire.
- certains **médicaments** qui provoquent une augmentation temporaire de l'ammoniaque dans la circulation sanguine (comme le valproate).
- la **prématurité** : les prématurés ont une hyperammoniémie due à leur immaturité hépatique et parfois à un défaut de perfusion.

### Hyperammoniémie primaires :

Ce sont des maladies **héréditaires** du métabolisme de l'urée, qualifiées d'erreurs innées du métabolisme.

Elles correspondent à des **déficits enzymatiques du cycle de l'urée** (on retrouve des mutations des gènes des 6 enzymes du cycle de l'urée) ou à des **déficits des transporteurs**.

Ces différentes mutations sont référencées dans la base de données de maladies génétiques de l'OMIM. Les déficits enzymatiques de l'uréogénèse sont des **maladies rares**. En effet, toutes les mutations de ces enzymes sont transmises sur un mode **autosomique récessif** (les deux parents doivent être porteurs mais ne sont pas forcément atteints), sauf celles de l'**OCT** qui sont transmises sur un mode **récessif lié à l'X** : les déficits en OCT ont ainsi une prévalence plus élevée par rapport aux autres déficits.

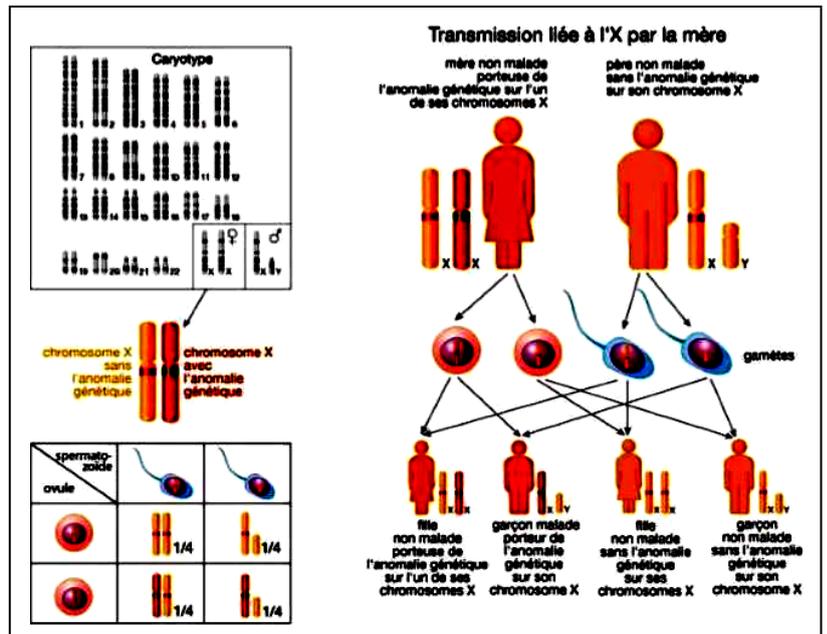
<b>Déficits en Enzymes du cycle de l'urée</b>		
OMIM# (Online Mendelian Inheritance in Man)	Transmission	Prévalence
237310 - NAGS	Ar	
237300 - CPS I	Ar	1/ 62000
311250 - OCT	Lié à l'X	<b>1/ 14000</b>
215700 - ASS	Ar	1/ 57000
207900 - ASL	Ar	1/ 70000
207800 - Arginase	Ar	1/ 363000
<b>Déficits des Transporteurs</b>		
238970 - ORNT1 (SLC25A15 ORN/CIT)		
603471 - CITRINE (SLC25A13 GLU/ASP)		

Concernant le mode de transmission RLX :

La mutation se trouve sur un des deux chromosomes X portés par la mère, qui n'a pas de symptômes : on dit qu'elle est **vectrice**. Le chromosome X du père est sain. Ils peuvent avoir :

- une fille saine: chromosome X sain de la mère + chromosome X du père
- une fille vectrice : chromosome X muté de la mère + chromosome X du père.
- un garçon sain : chromosome X sain de la mère + chromosome Y du père
- un garçon malade : chromosome X muté de la mère + chromosome Y du père.

On peut donc avoir deux parents sains qui vont se retrouver avec un enfant malade : le pédiatre doit être vigilant car la maladie n'a pas été diagnostiquée chez la mère, mais le nouveau-né peut être atteint, ce qui peut rapidement entraîner sa mort (1 jour après sa naissance).



Les **signes cliniques** des hyperammoniémies primaires sont répartis en 2 groupes :

- **révélation néonatale** : il y a un **risque léthal**, c'est pourquoi il faut bien surveiller les éventuels symptômes chez le nouveau-né au cours des premières 24h. Parmi les symptômes (peu spécifiques), on retrouve les vomissements, les léthargies (pouvant s'aggraver en coma), les mouvements anormaux et convulsions, l'hypothermie, l'hyperpnée ou encore l'hépatomégalie et la cytololyse (ces deux derniers symptômes ne sont pas visibles pendant les premières 24h).
- **révélation tardive et adulte** : ces hyperammoniémies sont moins létales que chez le nouveau-né, mais elles peuvent tout de même être **très graves**. Certaines mutations ne s'expriment pas dès la naissance : leur révélation tardive est liée à l'action d'un **facteur déclenchant** (adoption d'un régime hyperprotidique, infection, vaccination...).

Les signes cliniques chez l'adulte peuvent être :

- **chroniques** : signes digestifs et hépatiques, encéphalopathie chronique, signes neurologiques récurrents, signes psychiatriques
- **aigus** : signes neurologiques principalement, signes digestifs

#### Outils diagnostiques biologiques de l'hyperammoniémie

- l'**ammoniémie plasmatique** est un examen très simple réalisé sur prélèvement sanguin, mais de l'ammonium peut se former in vitro dans le tube par hydrolyse de la glutamine en glutamate + NH<sub>3</sub> à température ambiante, et conduire à un résultat faux positif, c'est pourquoi il est important de respecter des **conditions pré-analytiques** : le prélèvement doit être réalisé sur anticoagulants (héparinate, EDTA) et le tube doit être acheminé rapidement au laboratoire (en moins de 15 min) en étant préservé dans de la glace pour empêcher la formation de NH<sub>3</sub>. Il y a également un risque d'interférence analytique en cas de prélèvement mal réalisé : cela peut déclencher une hémolyse à l'origine d'une libération de l'ammoniac intracellulaire. Enfin, le tube doit être centrifugé et analysé le plus rapidement possible, ou congelé le cas échéant.

En cas de résultats intermédiaires (zone grise entre 50 et 100 μmol/L), on peut faire le **cycle de l'ammoniémie**, c'est-à-dire des dosages répétés au cours de la journée, avant et après les repas, pour caractériser l'évolution de l'ammoniémie sur une période plus étendue (surtout utilisé dans le cas des révélations tardives où l'ammoniémie s'élève progressivement au cours de la journée).

- la **chromatographie des AA plasmatiques et urinaires** permet d'évaluer le niveau des transporteurs de l'ammoniac (glutamine, proline, glycine, alanine) et des AA impliqués dans le cycle de l'urée.

-la **chromatographie des acides organiques urinaires (CAO)** permet d'orienter le diagnostic en cas d'aciduries organiques. Si elle est anormale, cela nous oriente vers un déficit de la  $\beta$ -oxydation. Si elle est normale, on va chercher à identifier sur la chromatographie l'acide orotique et l'uracile urinaires.

- l'**acide orotique urinaire** peut aussi être dosé : c'est une base pyrimidique synthétisée dans le cytosol. Il ne fait pas partie du cycle de l'urée mais il est produit à partir du carbamyl phosphate accumulé dans la mitochondrie, qui est lui-même produit à partir du  $\text{NH}_3$ . La présence d'acide orotique en excès dans les urines témoigne donc d'un excédent d'ammoniac. Son dosage permet d'établir un diagnostic différentiel des déficits en aval de la synthèse du carbamyl phosphate (NAGS, CPS, OTC).

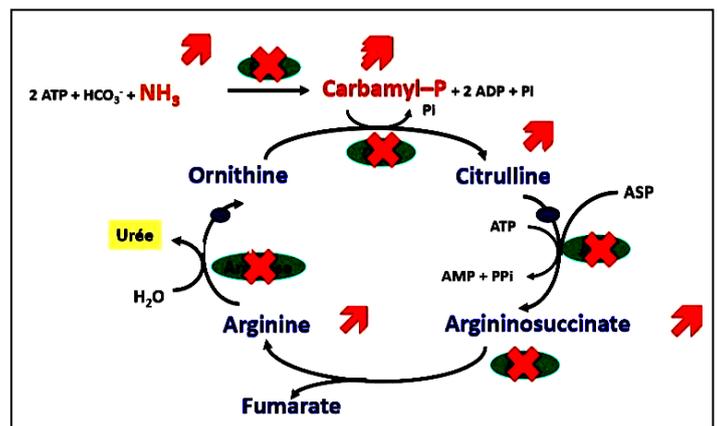
-les **dosages enzymatiques spécifiques** permettent d'évaluer l'activité des enzymes qui sont directement impliquées dans le cycle de l'urée afin de mettre en évidence un éventuel déficit. On peut réaliser ces dosages dans différents types de cellules : la CPS et l'OTC dans les cellules hépatiques ou intestinales, l'ASL et l'ASS dans les fibroblastes et l'Arginase dans les érythrocytes.

-on a recours à la **biologie moléculaire** afin de déceler une éventuelle mutation génétique lors d'une suspicion d'hyperammoniémie primaire.

### Diagnostic différentiel des enzymes du cycle de l'urée

Il suffit de doser les **métabolites intermédiaires** du cycle de l'urée. On sait que toutes les enzymes peuvent être mutées, provoquant une accumulation des métabolites en amont :

- CPS-I mutée : le  $\text{NH}_3$  ne sera pas correctement transformé en CP donc on aura une hyperammoniémie.
- OTC mutée : l'ornithine ne sera pas transformée correctement en citrulline, provoquant une accumulation de CP mais aussi de  $\text{NH}_3$   $\square$  hyperammoniémie.
- ASS mutée : de la même manière, on aura une hyperammoniémie et une accumulation de CP et de citrulline.
- ASL mutée : on aura une accumulation de  $\text{NH}_3$ , CP, citrulline et argininosuccinate.
- Arginase mutée : on aura une accumulation de tous les substrats de l'uréogénèse sauf l'ornithine.



### Prise en charge :

- La prise en charge **thérapeutique** d'une hyperammoniémie doit être rapide car elle peut entraîner des complications voire le décès, l'ammoniac étant neurotoxique. Elle consiste en :
  - l'**élimination des métabolites toxiques** si le taux d'ammoniac est très **élevé** : le patient est envoyé en réanimation pour épurer l'azote excédentaire par **hémodialyse**, ou bien l'épuration est réalisée via des **chélateurs intraveineux**, qui stimulent une voie métabolique alterne, comme le **phénylbutyrate** et le **benzoate**.
  - la **limitation de la néoformation des métabolites toxiques** si l'ammoniémie est **modérée** : l'apport d'azote est limité par l'adoption d'un **régime hypoprotidique**, mais l'**apport calorique doit être suffisant** (de type glucidolipidique) afin d'éviter une compensation par hyperactivation du catabolisme protéique qui aggraverait la situation en produisant encore plus d'azote.
  - un **apport important d'arginine** pour son action activatrice sur le cycle de l'urée afin de favoriser l'élimination de l'azote.
  - un **apport suffisant en AA essentiels**.
  - une **transplantation hépatique** en cas d'insuffisance hépatique sévère (seul traitement curatif).

● La prise en charge **diagnostique** doit également être **très rapide**, l'hyperammoniémie étant une urgence vitale. Si un patient montre des signes **neurologiques, hépatiques et digestifs** chroniques d'étiologie inconnue, il faut rapidement envisager la possibilité d'une hyperammoniémie à révélation tardive et réaliser un **dosage** de l'ammoniémie.

Les sujets issus de familles dans lesquelles on retrouve de l'hyperammoniémie sont susceptibles de porter la mutation : il faut absolument réaliser un **DPN** en prélevant un échantillon au niveau des villosités choriales ou dans le liquide amniotique. Tous les gènes impliqués sont répertoriés par l'OMIM et les mutations sont décrites pour toutes les maladies, ce qui rend le diagnostic facilement réalisable.

Il existe des centres spécialisés dans le conseil et la prise en charge des maladies rares, les **CRM** (*Centres de Référence Maladies Rares*), où sont réunis des spécialistes aux compétences cliniques et biochimiques importantes (prise en charge, analyse des métabolites, dosages enzymatiques, biologie moléculaire).

### Quand doser l'ammoniémie ?

- en cas d'accident aigu neuro-hépatodigestif
- en cas d'association ou succession de symptômes hépatodigestifs et neuropsychiatriques de présentation aiguë ou chronique
- en cas de tableau monosymptomatique qui ne fait pas sa preuve. On peut trouver les symptômes suivants :
  - vomissements, anorexie, cassure de courbe
  - anorexie et atteinte hépatique
  - retard psychomoteur, épilepsie
  - accès d'agitation, agressivité
  - syndrome confusionnel isolé
  - coma

## **Chapitre 4 : EXPLORATION DES PROTEINES PLASMATIQUES**

Les protides proviennent du mot grec **protos** ou premier, ce sont les constituants principaux de la cellule. Ils sont formés par l'enchaînement d'AA et renferment 16% d'azote

Les protéines représentent la plus grande partie des matières solides du plasma, pour la plupart synthétisées au niveau hépatique.

En dehors du fibrinogène, protéine fibreuse du plasma, ce sont toutes des protéines globulaires. En dehors de l'albumine qui est une holo protéine, toutes les autres sont des hétéro protéines pouvant contenir des lipides (lipoprotéines), des métaux (métalloprotéines) et surtout des glucides, la plupart des protéines plasmatiques sont en effet des glycoprotéines.

### **1-Les Besoins en protéines**

Pour un adulte les besoins journaliers sont de 1 à 1,1 g/kilo de poids corporel. Les besoins sont assurés par une alimentation mixte et équilibrée, on retrouve les protéines végétales des céréales telles que les glutélines et les protéines de l'alimentation carnée et lactée

### **2-Biosynthèse :**

Il existe deux principaux centres de biosynthèse : le foie et la lignée lymphocytaire. A l'exception des immunoglobulines, la majorité des protéines plasmatiques sont synthétisées par le foie

### **3-Digestion et absorption des protéines :**

La protéolyse digestive est assurée par des enzymes gastriques, pancréatiques et intestinales, grâce à des endo et exopeptidases qui catabolisent les protéines en AA.

□ Les endopeptidase, hydrolysent les liaisons peptidiques des protéines à l'intérieur des chaînes, les principales endopeptidase sont :

- la pepsine gastrique

- La trypsine

- La chymotrypsine

□ Les exopeptidases on reconnait :

- l'aminopeptidase qui libère l'acide amine situé en position N terminale

- la carboxypeptidase qui détache l'AA en position carboxylique

**Vitesse de renouvellement ou 1/2 vie des protéines :** à partir de la demi-vie d'une protéine, on peut prévoir le temps que cette protéine mettra pour varier quantitativement. La 1/2 vie de l'albumine est de 19 jours, IgG = 18 jours, haptoglobine = 4 jours.



Les protéines transporteuses d'hormones (hormone binding proteins) telles que **la transcortine** (cortisol binding protein)

### **3- L'inhibition des protéases plasmatiques**

**L' $\alpha$ 1 antitrypsine, l' $\alpha$ 1 anti chymotrypsine et l' $\alpha$ 2 macroglobuline** s'opposent à l'action de plusieurs protéases libérées lors de la réaction inflammatoire telles que **l'élastase** et **la collagénase** limitant l'action protéolytique sur le tissu conjonctif.

**4- La coagulation : Le fibrinogène** constitue la principale protéine de la coagulation ayant un intérêt dans l'exploration des dysprotéinémies

**5- L'immunité** : Assurée par **les immunoglobulines** et le système du complément sérique.

### **6- Rôle d'enzymes et cofacteurs d'enzymes :**

**7- Système tampon** : Le système protéines/protéinates :  $\text{PH} \leftrightarrow \text{P}^- + \text{H}^+$ . Ce système est non négligeable car les protéines sont en forte concentration dans le plasma. En cas d'alcalose, les protéines libèrent des protons. En cas d'acidose, les protéines fixent des protons.

## **IV- Méthodes d'investigation des protéines plasmatiques :**

Ces méthodes permettent d'obtenir une analyse simultanée de l'ensemble des protéines plasmatiques et de certaines fractions. Il existe des méthodes quantitatives, semi-quantitatives et qualitatives.

### **1- Dosage des protéines totales :**

La protéinémie (protidémie) correspond à la concentration des protéines totales (PT) dosées dans le plasma (ou le sérum). Elle s'exprime en g/l

#### **a) Conditions du prélèvement**

- prélèvement sanguin se fait après un jeun d'environ 10 à 12h.
- Le prélèvement peut se faire sur tube hépariné (plasma), mais en cas d'électrophorèse.
- le prélèvement doit être réalisé sur tube sec (sérum) pour éviter l'interférence du fibrinogène.

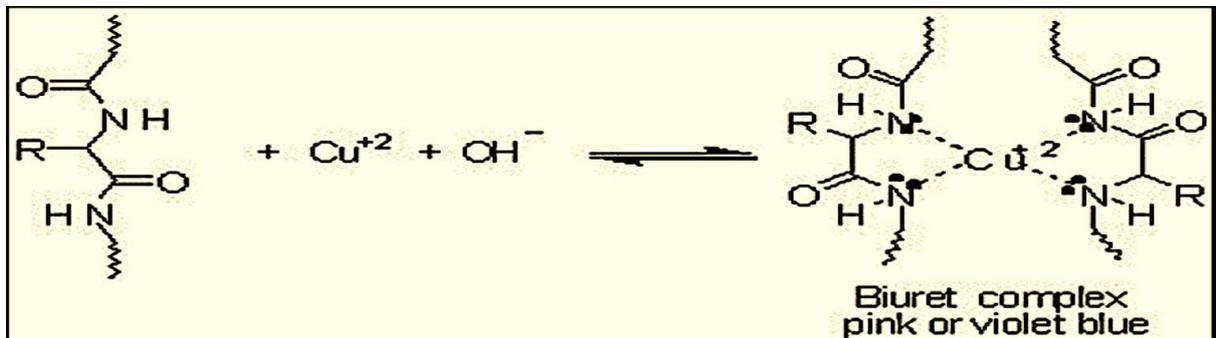
#### **b)- Méthode de dosage :**

La méthode colorimétrique de biuret est la plus utilisée de toutes les méthodes. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec le sulfate de cuivre en milieu alcalin pour donner une coloration violette dont l'intensité est mesurée à 550 nm, elle est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans l'échantillon. Cette méthode est simple et automatisable

#### **- Principe de la réaction**

Les ions cuivriques réagissent en solution alcaline (sulfate de cuivre) avec les liaisons peptidiques des protéines avec formation d'un complexe pourpre caractéristique. Le tartrate de

potassium et de sodium empêchent la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'iodure de potassium empêche l'auto réduction du cuivre



Cette méthode est simple et automatisable, peu onéreuse et stable. Par contre elle a l'inconvénient d'avoir un seuil de détectabilité (sensibilité) élevé, ce qui ne permet pas son dosage dans les liquides biologiques à faibles concentration en protéines.

**- Les valeurs normales des protéines plasmatiques :**

- Adulte : 65 à 80 g/l
- Prématuré : 40 à 60 g/l
- Nouveau-né à terme : 50 à 70 g/l
- Elles sont basses aussi chez la femme enceinte par hémodilution 60g/l.

**2- Dosage de l'albuminémie :**

La méthode de dosage est une méthode colorimétrique au vert de bromocrésol : en milieu tamponné à pH 4,2, le vert de bromocrésol se combine à l'albumine pour former un complexe coloré bleu vert dont l'absorbance mesurée à 583 nm est proportionnelle à la concentration de l'albumine dans l'échantillon.

Les valeurs de référence sont de 35 à 50 g/L.

**3-Fractionnement des différentes classes des Protéines plasmatiques**

**□ L'électrophorèse des protéines ou protéinogramme :**

L'électrophorèse est une méthode de séparation basée sur la migration différentielle de particules chargées sous l'action d'un champ électrique.

Les protéines sont des molécules amphotères avec une charge globale fonction du pH du milieu dans lequel elles vont se retrouver. Elle se réalise à un pH alcalin : les protéines ont donc une charge globale négative et on pourra de cette façon les séparer. On opère toujours en l'absence du fibrinogène (le travail se fait sur sérum). En effet, le fibrinogène contenu dans le

plasma provoque des trainées dans toutes les techniques électrophorétiques empêchant leur interprétation. L'électrophorèse se réalise sur :

- support solide= gel d'agarose,
- électrophorèse liquide= électrophorèse capillaire (automatisé).

La technique consiste à déposer quelques microlitres de sérum sur le support imprégné d'un tampon alcalin (pH 8.6), auquel les protéines s'ionisent comme des anions et migrent vers l'anode. On laisse migrer quelque temps en fonction du support choisi, ensuite on procède à une fixation et coloration .après transpiration du support, la lecture photo densitométrique de la coloration de chaque bande donne le tracé classique, où apparaissent les cinq pics

### - Groupe des albumines

- Albumine protéine majoritaire du sérum
- Pré-albumine qui n'est pas le précurseur de l'albumine mais qui migre avant elle sur le gel (plus loin qu'elle). La pré-albumine porte également le nom de transthyréine.

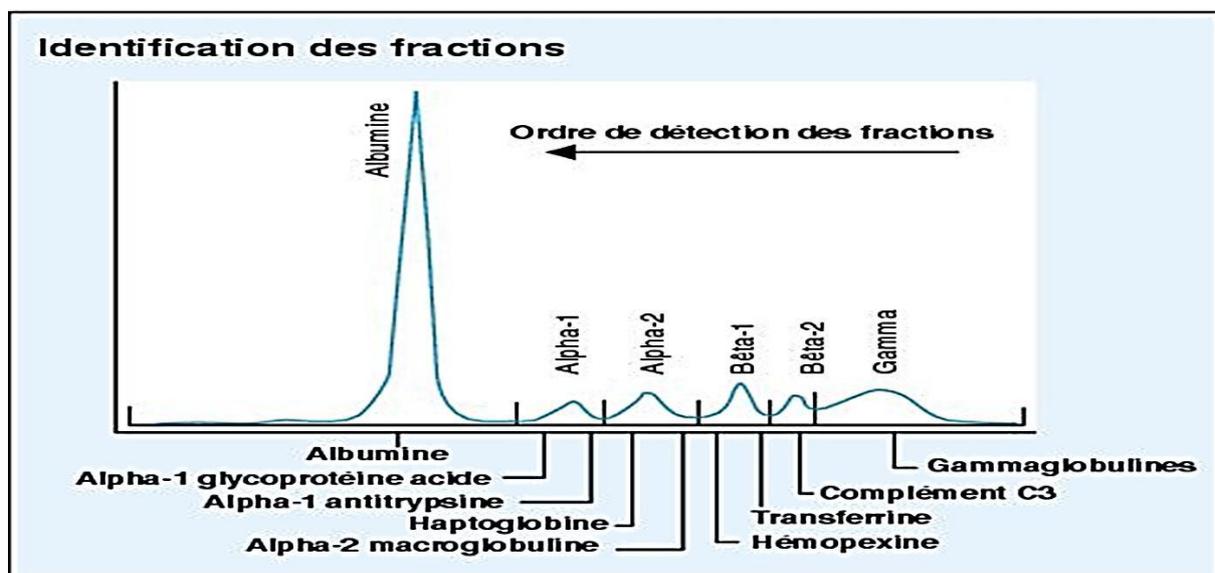
- **Alpha 1 globulines** :  $\alpha 1$  antitrypsine, orosomucoïde

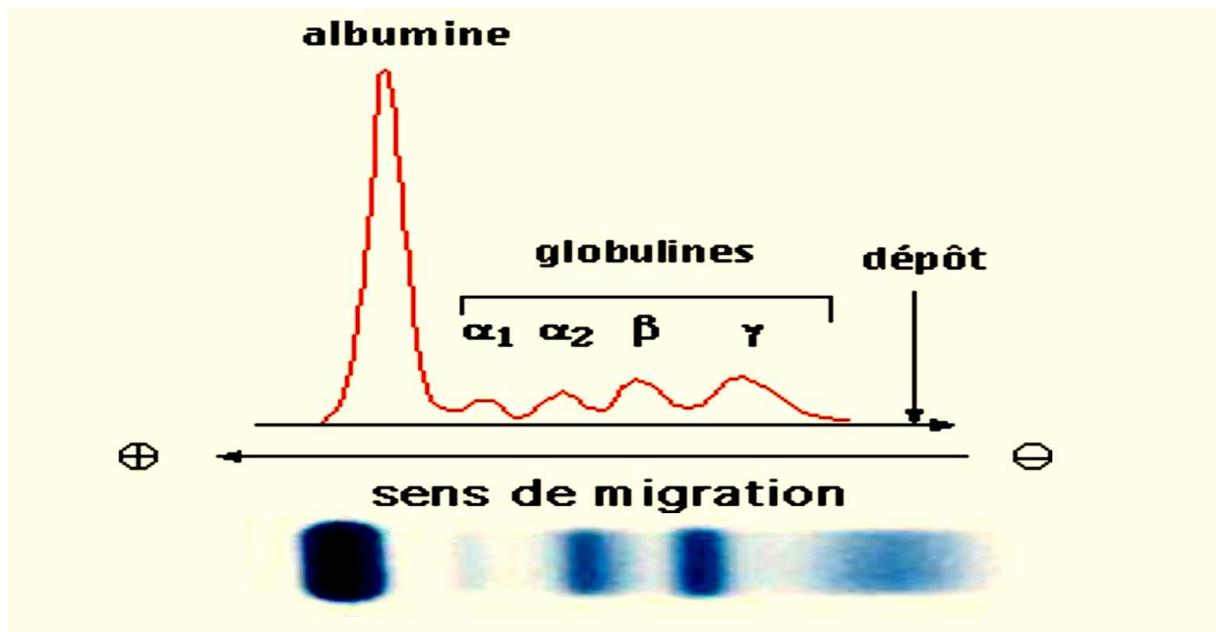
- **Alpha 2 globulines** : Haptoglobine

- **Bêta globulines** : Transferrine, Lipoprotéines de basse densité, Fraction C3 du complément

- **Gamma globulines** : Immunoglobulines : Ig G, A, M, D, E ; et la C-réactive protéine (CRP) qui va être visible uniquement en cas d'augmentation très importante, supérieure à 300 mg/L.

En électrophorèse capillaire : on aura 6 fractions : albumine,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ , et  $\gamma$  globulines - La fraction bêta se divise en bêta 1 et bêta 2. La transferrine migre en bêta 1, le facteur C3 du complément migre en bêta 2 et la lipoprotéine de basse densité migre avec le groupe des albumines.





Fraction	%	g/L
<b>Albumine</b>	<b>54 - 65%</b>	<b>38 - 46</b>
<b>α1</b>	<b>1,1 - 3,7</b>	<b>0,8 - 2,6</b>
<b>α2</b>	<b>8,5 - 15</b>	<b>6 - 10</b>
<b>β</b>	<b>8,6 - 15</b>	<b>6 - 10</b>
<b>γ</b>	<b>9,2 - 81</b>	<b>6,4 - 13</b>

Remarque: Le fibrinogène migre en  $\beta$  (une bande proche du point de dépôt), il peut apparaître sur l'électrophorèse si un anticoagulant est utilisé ou si le tube sec a mal coagulé. En cas d'hémolyse, on peut observer un pic d'hémoglobine migrant en  $\beta$  ou un pic d'hémoglobine liée à l'haptoglobine migrant en  $\alpha_2$ .

## V- Pathologies des protéines ou dysprotéinémies :

IL peut s'agir:

- D'affections révélées par une perturbation de la concentration des protéines totales.
- D'affections révélées par perturbation du profil électrophorétique.
- D'affections révélées par les variations individuelles des différentes protéines plasmatiques

### 1- Les hypo protéinémies

**a)- Les hypo albuminémies :** elles sont provoquées par des défauts de synthèse ou par des déperditions d'origine diverses

- Défaut de synthèse**

**-Des carences nutritionnelles :** par défaut d'apport protéique

- kwashiorkor et marasme
- malabsorptions et mal digestions
- cachexie cancéreuse

**-Des atteintes hépatocellulaires graves :** cirrhoses, ictères graves

**Déperditions**

- Par perte rénale : lors du syndrome néphrotique
- Perte digestives au cours des entéropathies exsudatives
- Perte cutanée dans les brûlures étendues

**b) - Les hypogammaglobulinémie :** elles peuvent être acquises ou congénitales

**-Hypo gamma ou agammaglobulinémies acquises :**

Les causes de diminutions sont comme ci-dessus pour l'albumine, les déperditions rénales ou digestives.

Pour les défauts de synthèse il peut s'agir d'hypo gamma iatrogène par radiothérapie ou traitement par les corticoïdes et immunosuppresseurs.

**-Hypo gamma ou agammaglobulinémies primitives**

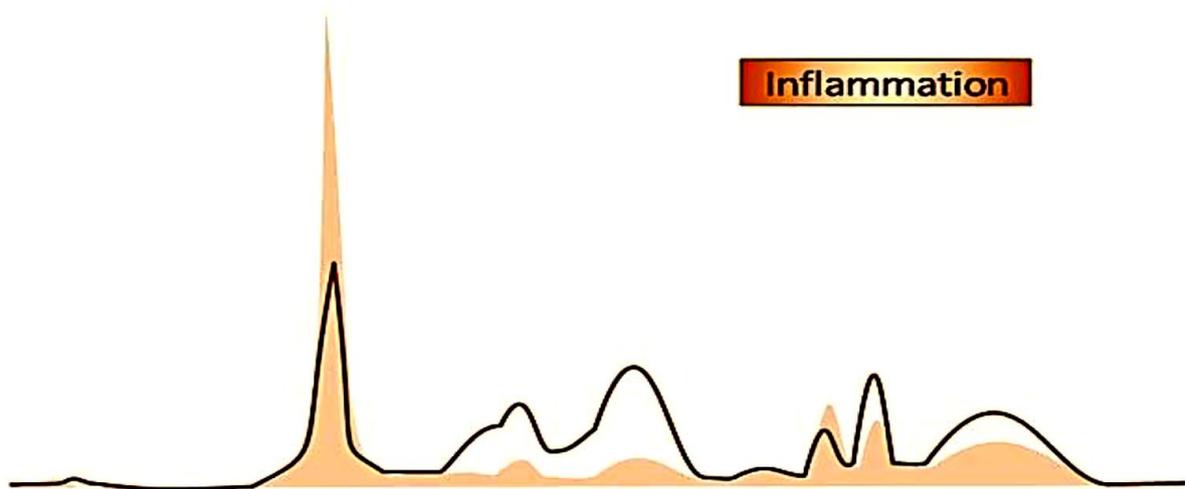
Il peut s'agir d'un déficit touchant soit l'immunité cellulaire ou humorale

**2- Les hyperprotéinémies :** sont définies par des taux  $> 75$  g/L. elles résultent soient :

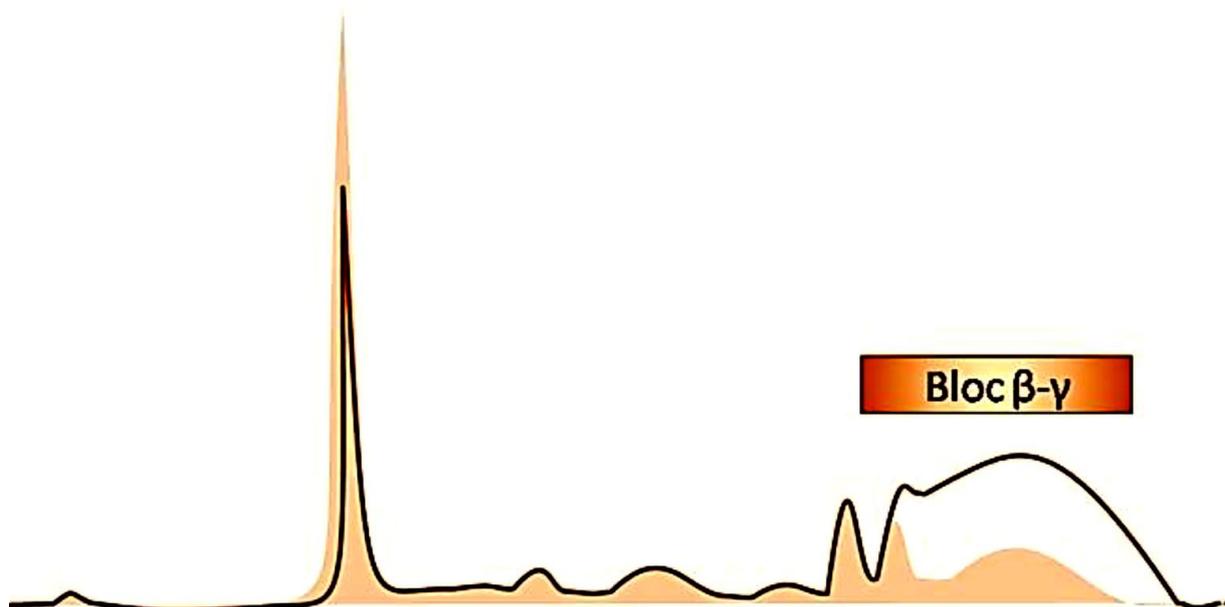
- D'une augmentation en quantité des immunoglobulines par une prolifération polyclonale (stimulation antigénique consécutive à une vaccination, une infection ou une maladie auto-immune) ou par prolifération monoclonale (pathologies malignes).
- D'une hyperfibrinémie qui s'observe surtout au cours d'un syndrome inflammatoire et peut aller jusqu'à 10 g/L (protéinémie  $\approx 85$  g/L).
- D'une hémococoncentration liée à une déshydratation (hyper albuminémie).

**a)- Les hyperglobulinémies :** elles s'observent très fréquemment dans des affections diverses et l'augmentation des globulines à l'électrophorèse affecte plusieurs zones, soit la zone gamma exclusivement.

**Dans les inflammations aiguës ou chroniques et dans les infestations parasitaires :** on note une élévation concomitante des  $\alpha_2$  et des gamma globulines avec un profil inflammatoire à l'électrophorèse des protéines.



- Inflammation aigue: augmentation des  $\alpha_1$  ( $\alpha_1$  antitrypsine, orosomucoïde) et  $\alpha_2$  (haptoglobine)
- Inflammation chronique: augmentation des  $\alpha_2$  et  $\gamma$  globulines et diminution de l'albumine qui masque partiellement l'hyperprotidémie réactionnelle (taux des protéines totales normal)
- **Dans les cirrhoses** : on retrouve le bloc  $\beta\gamma$  en **dos de chameau** très caractéristique. Elle est due à l'augmentation des IgA et IgM qui dépasse celle des IgG et qui se positionne à l'électrophorèse entre les bêta et les gamma globulines, avec diminution de l'albumine des  $\alpha$  et  $\beta$  globulines



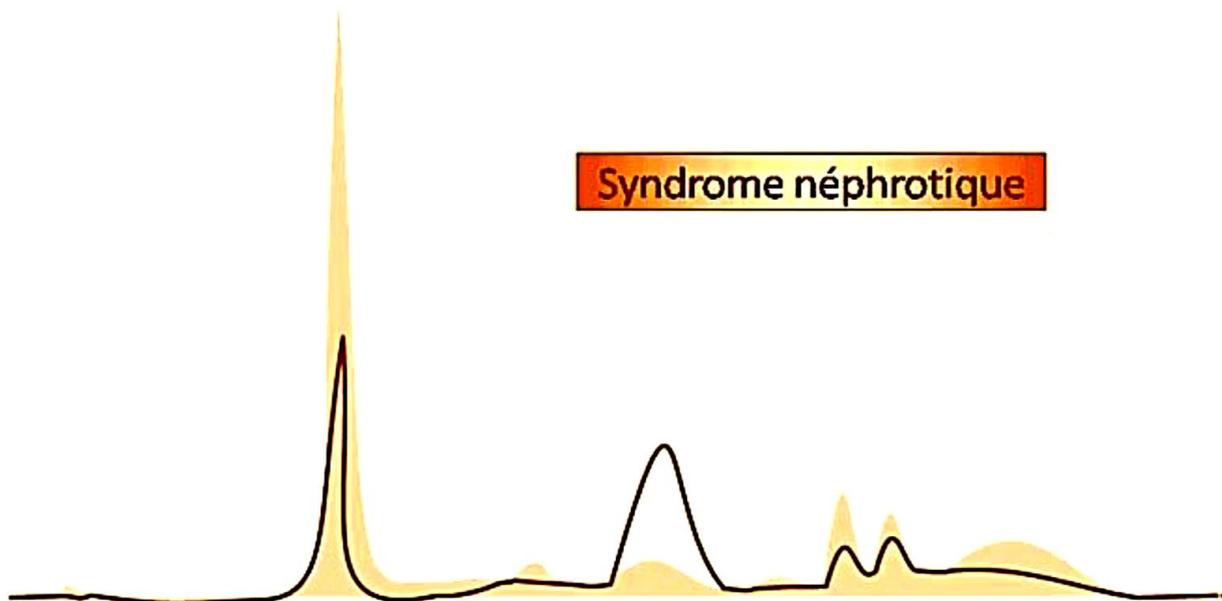
- **Dans le syndrome néphrotique** : on retrouve diminution de l'albumine et de l'ensemble des globulines sauf  $\alpha_2$  macroglobuline et les  $\beta$  lipoprotéines responsable d'un pic en  $\alpha_2$ . Diminution de certaines fractions par **fuite glomérulaire** des molécules de petite taille :  
 ↓ pré albumine

↓albumine

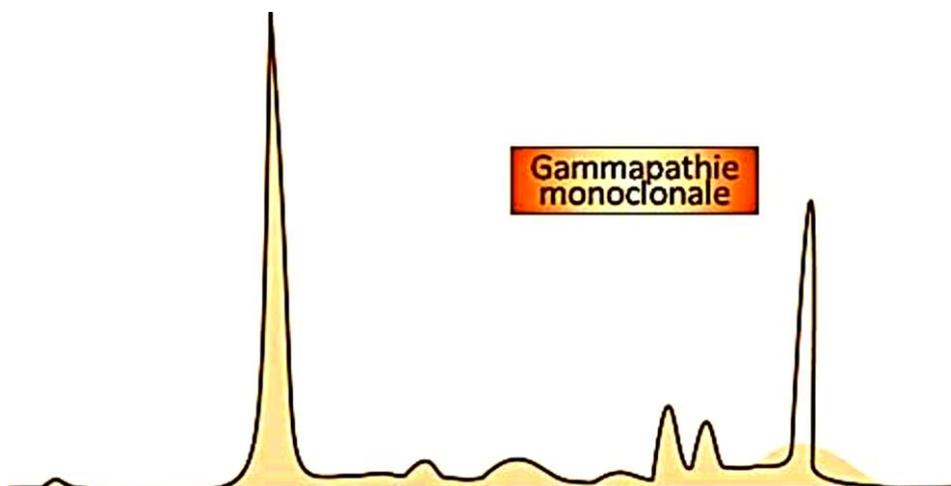
↓  $\alpha$ 1 antitrypsine et orosomucoïde migrant en  $\alpha$ 1

↓ de la transferrine migrant en  $\beta$

↓ des IgG migrant en  $\gamma$  Augmentation de la synthèse hépatique de macro protéines pour limiter la diminution de la pression oncotique et formation oedèmes. ↑  $\alpha$ 2 macroglobulines, haptoglobine, de la synthèse des LDL migrant en  $\alpha$ 2.



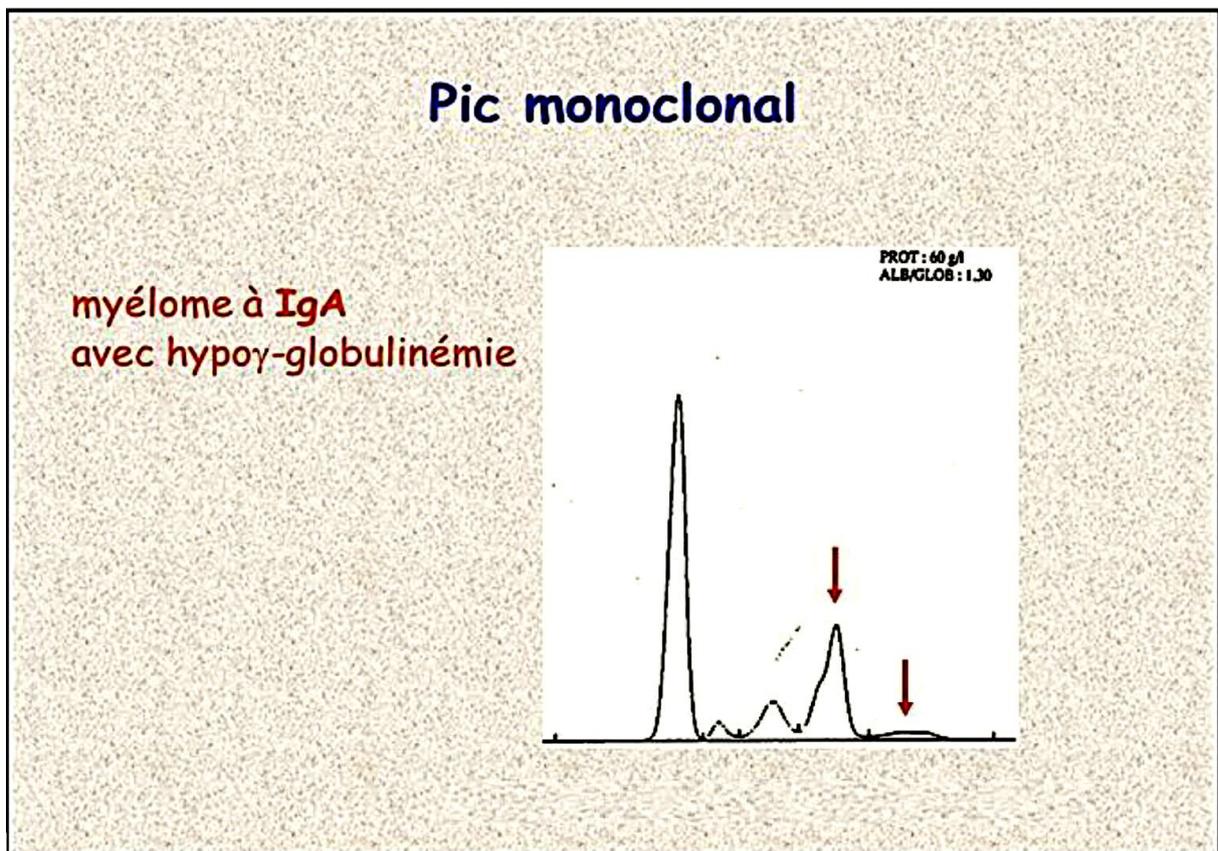
□ **Les dysglobulinemies monoclonales** : une dysglobulinémie monoclonale ou gammopathie monoclonale correspond à la synthèse d'une seule immunoglobuline par un clone cellulaire, qui peut être d'origine lymphocytaire ou plasmocytaire, en voie de multiplication anarchique. Sur le tracé électrophorétique elle se traduit par une bande mince, étroite et très homogène, se traduisant sur la courbe densitométrique par un pic aigu et étroit, dit **monoclonal**.



Plusieurs entités cliniques et biologiques sont définies :

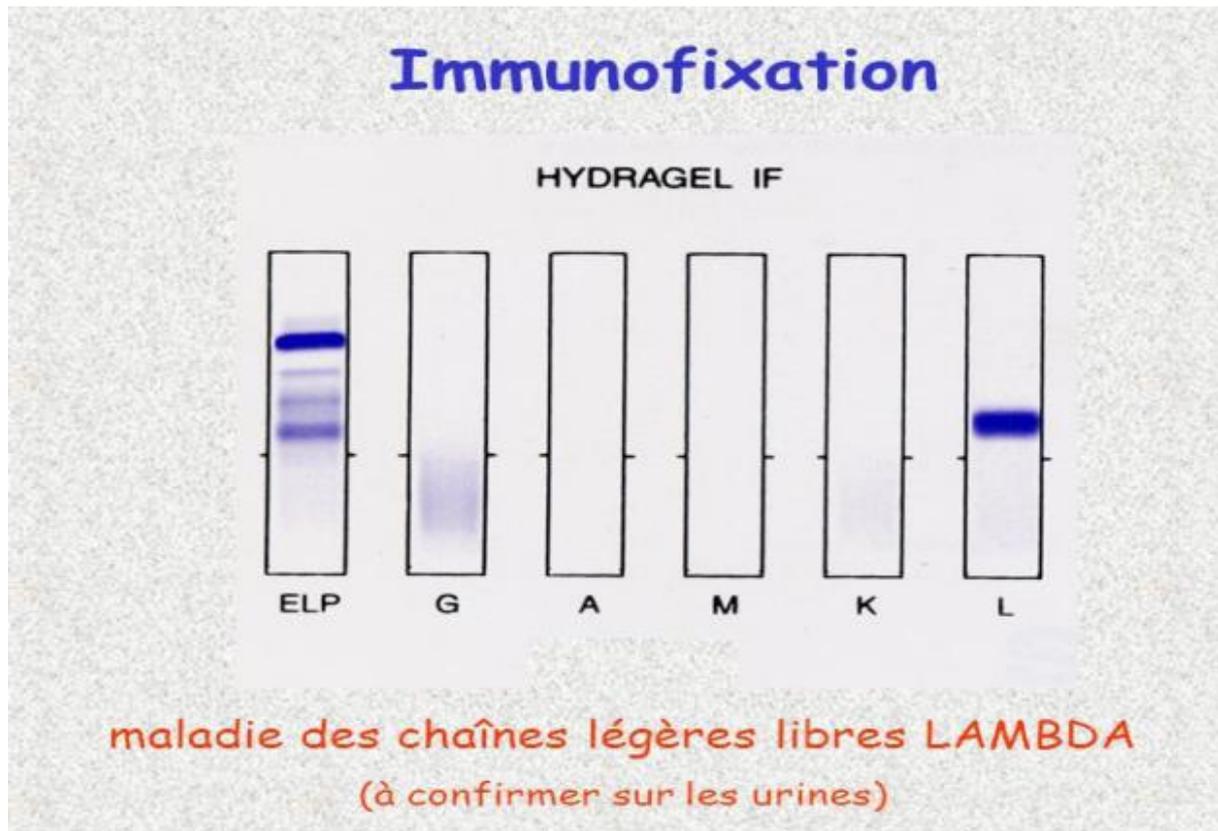
□ **Le myélome plasmocytaire ou maladie de Kahler :**

C'est un cancer de la moelle osseuse. Il s'agit d'un plasmocyte médullaire malin, fréquente chez l'adulte de plus de 40 ans, surtout de sexe masculin. Cliniquement des douleurs osseuses, altération de l'état général. Radiologiquement présence de géodes osseuses, déminéralisation osseuse diffuse. Biologiquement une protidémie élevée (100 à 120 g/L), vitesse de sédimentation élevée, calcémie élevée. Par processus d'ostéolyse Le protéinogramme montre un pic monoclonal en zone  $\gamma$  et parfois  $\beta$ . Le typage montre dans la plupart des cas une IgG (parfois IgA, IgD, IgE). Maladie de mauvais pronostic. Une hypogammaglobulinémie polyclonale d'accompagnement portant sur les trois classes G, A, M est constatée dans 30% des cas de myélome.

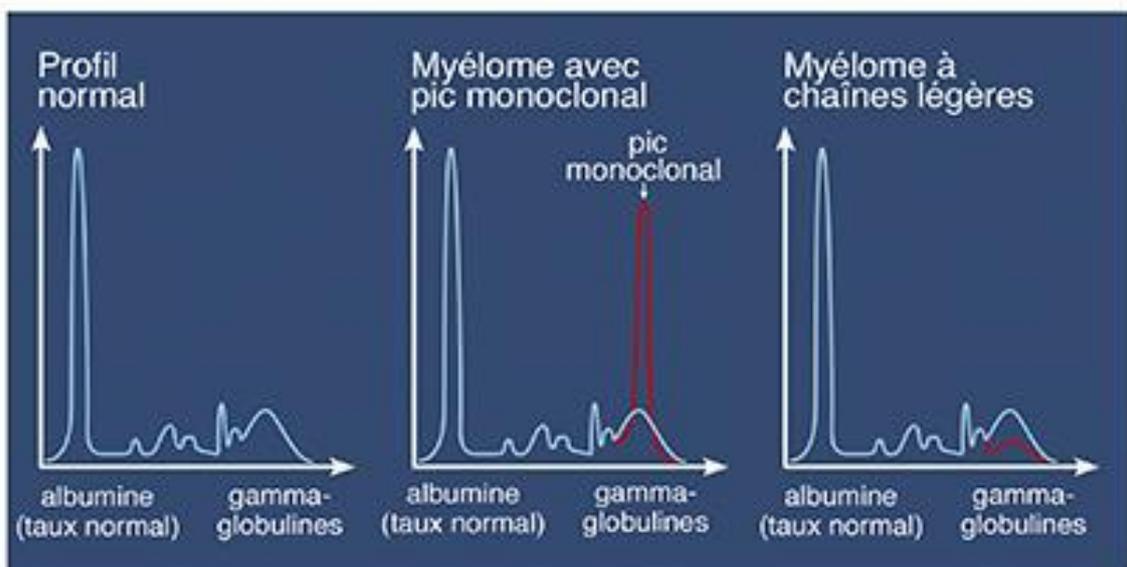


Environ 15 à 20 p. cent des patients produisent uniquement la portion "chaînes légères" de l'immunoglobuline. On parle alors de chaînes légères libres également connues sous le nom de protéines de Bene-Jones, en l'honneur du médecin et chimiste qui en a fait la découverte dans l'urine des patients atteints d'un myélome. Lorsque des protéines à chaîne légère se retrouvent dans l'urine, elles s'accumulent dans les reins et causent des lésions. Comme ces protéines ne sont pas détectées lors d'une analyse d'urine standard, l'électrophorèse des urines est nécessaire.

Le typage met en évidence les chaînes légères de type lambda ( $\lambda$ ) ou kappa ( $\kappa$ ).



## Électrophorèse des protéines sériques



Dans la moelle osseuse, on retrouve des foyers mésenchymateux avec nappe plasmocytaire et cellules jeunes, de type plasmocytoblastes

#### **La macroglobulinémie de Waldenström**

C'est une hémopathie maligne qui atteint le sujet âgé. Les signes cliniques sont voisins de ceux évoquant la maladie de Kahler, avec présence de ganglions, troubles de la coagulation et une anémie. Biologiquement, une protidémie élevée, pic monoclonal en zone  $\beta$ , le typage montre qu'il s'agit d'une **IgM**

Dans la moelle osseuse on retrouve une infiltration lympho-plasmocytaire ou reticulolymphoïde

#### **Maladies des chaînes lourdes**

Ce sont des dysglobulinémies rares, dans lesquelles les plasmocytes monoclonaux ont perdu la faculté d'associer normalement les chaînes lourdes et légères. Les chaînes lourdes sont alors augmentées dans le sang. Biologiquement, augmentation de la protidémie, l'électrophorèse montre une large bande anormale en zone  $\alpha_2$  ou  $\beta$  liée aux chaînes lourdes. Le typage montre surtout une IgA

#### **Gammopathie bénignes**

Avec profil du protéinogramme à type de myélome. L'évolution vers la malignité ne montre que 10 à 20% des cas. La surveillance a lieu par un dosage des immunoglobulines tous les trois mois.

### **1- Protéines de l'inflammation aigue :**

#### **a- Les protéines positives**

##### **La protéine C réactive : CRP :**

Il s'agit d'une glycoprotéine de masse moléculaire de 1200000 daltons, formée par l'union de 5 sous unités identiques. Elle porte son nom par sa propriété de précipiter au contact du polysaccharide C du pneumocoque.

Sa synthèse est hépatique, elle augmente sous l'action des cytokines pro-inflammatoires, principalement en réponse au médiateur IL-6. Sa demi-vie est courte d'environ 12 heures, son catabolisme a lieu par son adhérence aux parois des bactéries puis destruction. Elle assure les rôles suivants :

- activation du complément
- facilitation de la phagocytose des bactéries
- modulation de la multiplication des lymphocytes T

La CRP est aussi un témoin précoce de l'efficacité thérapeutique, lors d'une antibiothérapie.

**La valeur normale varie de 0 à 6 mg/L**

Au cours d'une inflammation aiguë, sa cinétique est rapide avec un délai de 6 à 10 heures, un maximum atteint à 24-36 heures et un retour à la normale en 3 à 4 jours (marqueur très précoce de la réaction inflammatoire et constitue un examen d'urgence dans certaines pathologies). Son augmentation est secondaire si récidive. La CRP augmente dans tous les processus inflammatoires sans exception. Elle augmente de façon importante lors des infections bactériennes (marqueur précoce de diagnostic et de suivi thérapeutique), des pathologies rhumatismales (polyarthrites rhumatoïdes, spondylarthropathies), digestives, des affections malignes et des nécroses ischémiques. Elle augmente de façon moins prononcée lors des infections virales (distinction infection virale/bactérienne), leucémie. L'intérêt de l'évaluation du taux de la CRP peut également avoir lieu au cours des inflammations chroniques à bas bruit comme l'athérogénèse.

□ **Orosomucoïde (ORO) :**

C'est une  $\alpha 1$  glycoprotéine, de faible poids moléculaire de 40000 dalton très riche en sucres et en acide sialique, ce qui lui confère aussi le nom de glycoprotéine acide alpha 1.

Sa synthèse est hépatique, elle a une demi-vie est d'environ 3 à 6 jours. Son catabolisme est hépatique. Son rôle est immunorégulateur, elle permet le recrutement d'autres protéines de la réponse inflammatoire. Elle assure le transporteur plasmatique (Médicaments, Hormones Stéroïdiennes).

**Sa valeur normale est de 0.6-1.2g/l**

Elle augmente au cours des inflammations aiguës, subaiguës et chroniques, en particulier au cours du rhumatisme articulaire aigu de l'enfant ou maladie de bouillaud. Son pic est à environ 2 à 4 jours après le début d'un syndrome inflammatoire. L'ORO est utilisée comme un marqueur d'évolution vers la chronicité avec des concentrations qui restent souvent élevées dans ce contexte physiopathologique.

□ **Pro calcitonine (PCT)**

La pro calcitonine est un précurseur de la calcitonine, hormone produite par les cellules C de la thyroïde. Sa concentration sérique est  $< 0,5 \mu\text{g/L}$ . La pro calcitonine est une protéine du syndrome inflammatoire. Toutefois, sa concentration plasmatique est particulièrement élevée au cours de la phase aiguë des processus infectieux. Elle augmente dès la 3ème heure suivant le début de l'infection. Des concentrations  $> 5 \mu\text{g/L}$  orientent vers une infection bactérienne quel que soit le syndrome inflammatoire qui peut être associé. Sa demi-vie de 24 heures et

permet le suivi de l'évolution de la pathologie infectieuse. L'intérêt de son dosage s'observe particulièrement au cours des sepsis, méningites bactériennes et infections respiratoires.

#### □ **L'haptoglobine**

C'est une  $\alpha_2$  glycoprotéine capable de fixer l'hémoglobine d'où son nom et permet la formation d'un complexe Hb-Hp dont la demie vie est  $< 20$  min et qui a la particularité d'avoir une action enzymatique de type peroxydasique dont est rôle est principalement la neutralisation de l'hémolyse intravasculaire

Elle est synthétisée par le foie et par les tissus en cours de régénération elle a une demie vie de 3 à 6 jours avec un retour à la normale en 10 à 15 jours Son catabolisme a lieu dans les hépatocytes et les macrophages le permet le maintien du capital martial de l'organisme par récupération du fer de l'Hb. Les valeurs normales sont de 1 à 2 g/L avec des valeurs très faible chez le nouveau-né, baisse lors de la pratique de certains sports (sports entraînant des traumatismes musculaires). Les variations pathologiques sont :

Un abaissement voir effondrement dans les hémolyses, lors d'une insuffisance hépatique sévère et d'un déficit congénital

Elévation dans les états inflammatoires, c'est un marqueur sensible de l'inflammation non spécifique, son taux peut s'élever jusqu'à 10g/l avec un pic à J3 (sa cinétique est très lente et suit de très près celle de l'orosomucoïde en réponse à un SI) mais n'a ni valeur diagnostique ni pronostique

#### □ **La Ferritine**

La ferritine est une protéine représentant la forme principale des réserves en fer au niveau du foie et de la rate.

Sa concentration sérique varie de 30 à 300  $\mu\text{g/L}$  chez l'homme et de 20 à 200  $\mu\text{g/L}$  chez la femme.

L'intérêt de son dosage est principalement en rapport avec les troubles du métabolisme du fer. Bien que la ferritine augmente au cours des syndromes inflammatoires, elle ne constitue pas un marqueur biochimique majeur de l'inflammation.

#### □ **Fraction C3 du complément sérique**

Les protéines du complément sérique sont synthétisées par l'hépatocyte et les macrophages. La fraction C3 est située au niveau du tronc commun entre deux voies d'activation, directe et alterne. Sa concentration sérique est de 0,15 à 2 g/L. Cette protéine augmente au cours d'un syndrome inflammatoire avec une cinétique lente similaire à celle de l'haptoglobine ou de l'orosomucoïde. L'intérêt de doser cette protéine porte surtout sur sa diminution au cours d'un syndrome inflammatoire confirmé, qui indique la présence de complexes immuns circulants.

### □ **Le fibrinogène**

Destiné essentiellement à se transformer en fibrine et à former le caillot au cours de la coagulation, le fibrinogène est également une glycoprotéine de la phase aigüe de l'inflammation. Sa synthèse est essentiellement hépatique, faiblement par les mégacaryocytes

Les valeurs normales sont de 2.5 à 3.5 g/l

L'intérêt de son dosage est mixte, dans tout processus inflammatoire, où son élévation accompagnera celle de la VS et les autres marqueurs de l'inflammation et en hémostase ou le TP explore particulièrement la fibrinof formation

### **b- Les protéines négatives**

Elles sont dites négatives car elles diminuent au cours d'un SI.

#### □ **Albumine (ALB)**

L'ALB est décrite dans la partie dysprotéinémies. Son taux diminue au cours des syndromes inflammatoires chroniques.

#### □ **Transferrine (TSF)**

Synthétisée par le foie, régulée par les réserves martiales de l'organisme. Demi-vie d'une semaine donc une cinétique assez lente. Son rôle biologique consiste en le transport du fer sous forme d'ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ). Les valeurs normales sont de 2 à 4 g/L. La TSF diminue lors du syndrome inflammatoire chronique, sub aigüe ou aigüe sévère et varie parallèlement à la cinétique de l'albumine. Elle migre dans la zone de bêta globulines, c'est la plus abondante des bêta 1 globuline. L'intérêt de son dosage réside surtout dans le diagnostic des carences en fer qui peuvent accompagner un syndrome inflammatoire. Dans ces cas la baisse de la concentration de la TSF n'est pas parallèle à celle de l'albumine.

### **V - Les méthodes de dosage**

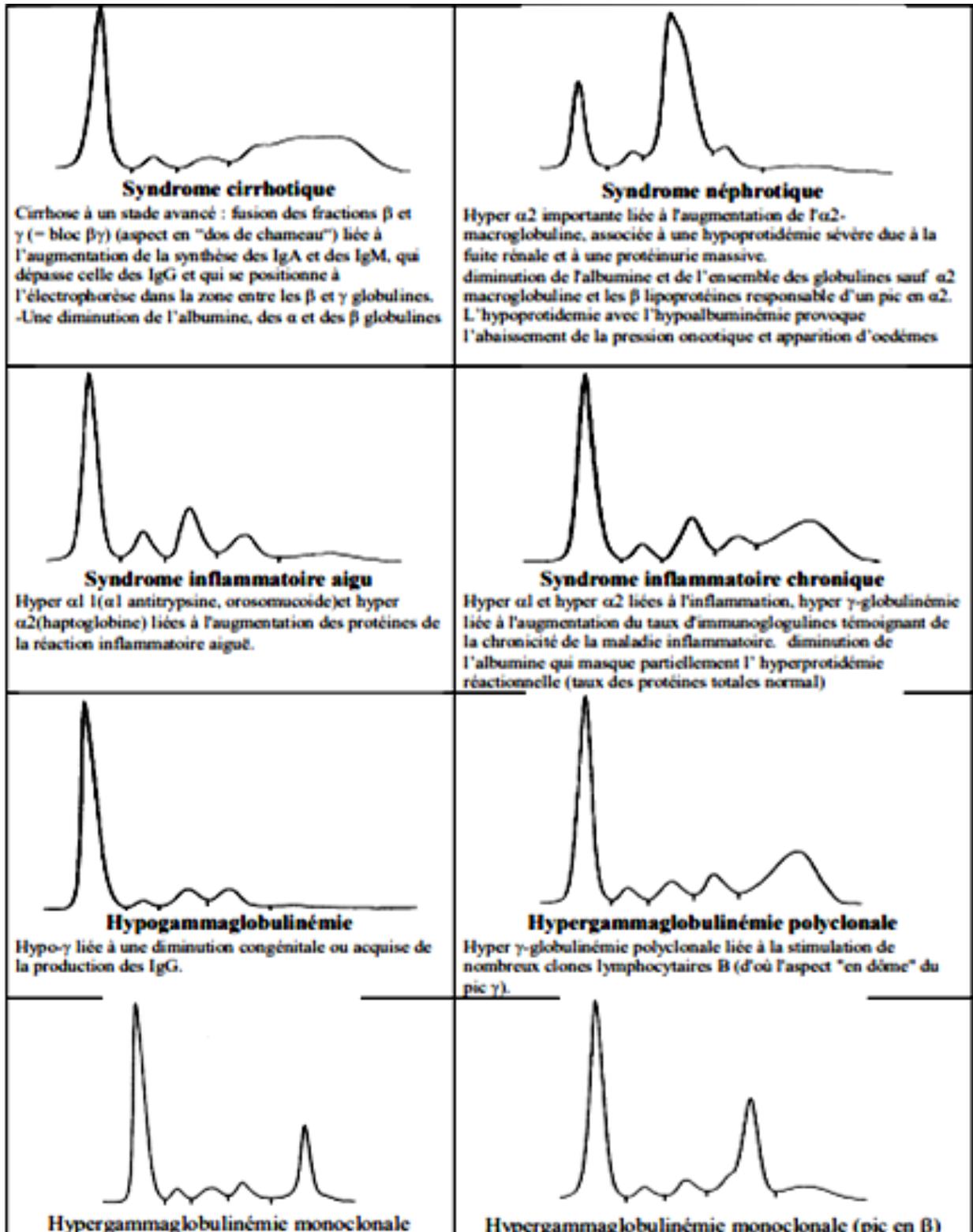
Le dosage quantitatif des protéines de l'inflammation fait appel aux techniques immunochimiques basées sur les réactions de type anticorps-antigène en milieux liquide. Les principales techniques utilisées sont :

□ L'immuno-néphélométrie (l'immuno-turbidimétrie) qui permet de détecter la formation de Complexes Immuns insolubles (CI). Ces CI provoquent une augmentation de la turbidité du milieu réactionnel. La turbidité est mesurée par le néphélomètre à rayon Laser. La lumière est d'autant plus diffractée que le précipité est dense (méthode très sensible et très reproductible). On travaille habituellement en excès d'Ac.

□ L'immunomarquage dont le principe est de fixer sur un des réactifs une substance qui permettra d'identifier l'immun complexe formé. Les marqueurs les plus utilisés sont :

□ les fluorochromes (fluorescéine ou rhodamine) composés fluorescents,

- les radio-isotopes (l'iode-125 et le tritium),
- les enzymes (la phosphatase alcaline ou la peroxydase du raifort),
- les substances luminescentes sont des composés qui émettent de la lumière à la suite d'une réaction chimique (oxydoréduction du luminol par de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).



## **Chapitre 5 : LES CONSTITUANTS AZOTES NON PROTEIQUES DU PLASMA.**

### **I - BILIRUBINE**

**A. Propriétés physico-chimiques :** La bilirubine est un pigment biliaire jaune produit lors de la dégradation de l'hémoglobine. Elle est insoluble dans l'eau et doit être conjuguée à la glucuronic acid dans le foie pour être excrétée dans la bile.

**B. Origine et devenir de la bilirubine :** La bilirubine est produite principalement à partir de l'hémoglobine des globules rouges détruits. Elle est libérée dans la circulation sanguine sous forme de bilirubine non conjuguée (indirecte) puis est captée par le foie pour être transformée en bilirubine conjuguée (directe) et excrétée dans la bile.

### **C. Valeurs sémiologiques :**

**1°) Méthodes de dosage :** La bilirubine peut être mesurée en utilisant diverses méthodes, notamment la méthode de Jendrassik-Grof et la méthode de Van den Bergh.

**2°) Valeurs normales :** Les valeurs normales de la bilirubine totale varient généralement de 0,2 à 1,2 mg/dL.

### **3°) Les hyperbilirubinémies :**

**a) Définition de l'ictère :** L'ictère est une coloration jaune de la peau et des muqueuses due à l'accumulation de bilirubine dans le sang.

#### **b) Classification des ictères :**

- Ictères à bilirubine non-conjuguée : Cela peut inclure l'ictère simple du nouveau-né, les ictères hémolytiques, et les ictères dus à des déficits enzymatiques de l'hépatocyte.

Markdown

- Ictères à bilirubine conjuguée :

- Ictères cytolytiques : Ils sont généralement dus à des lésions hépatiques qui entraînent la fuite de bilirubine conjuguée dans le sang.

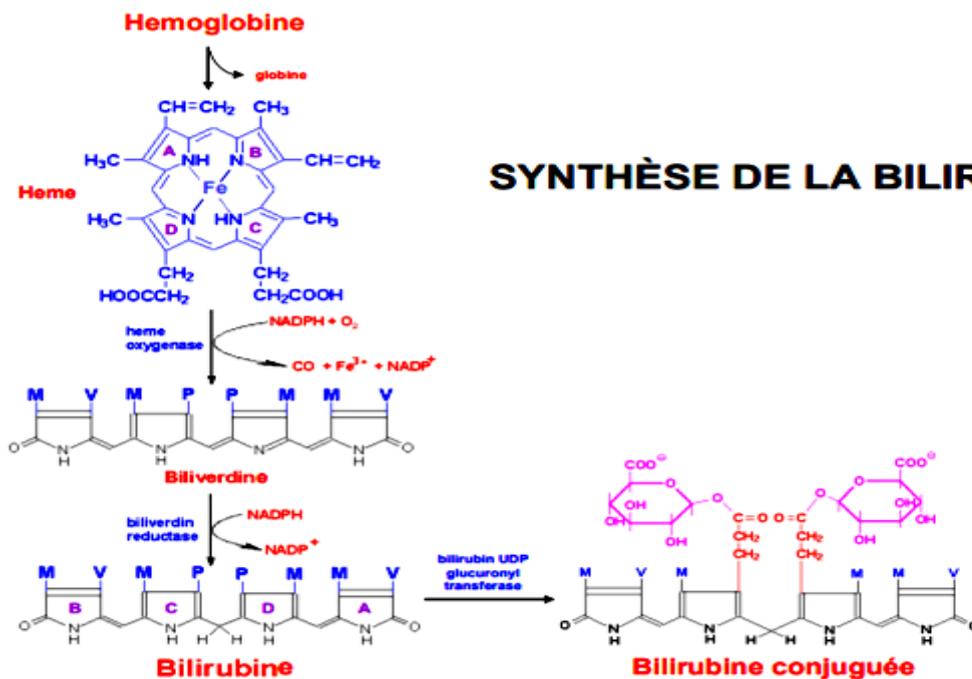
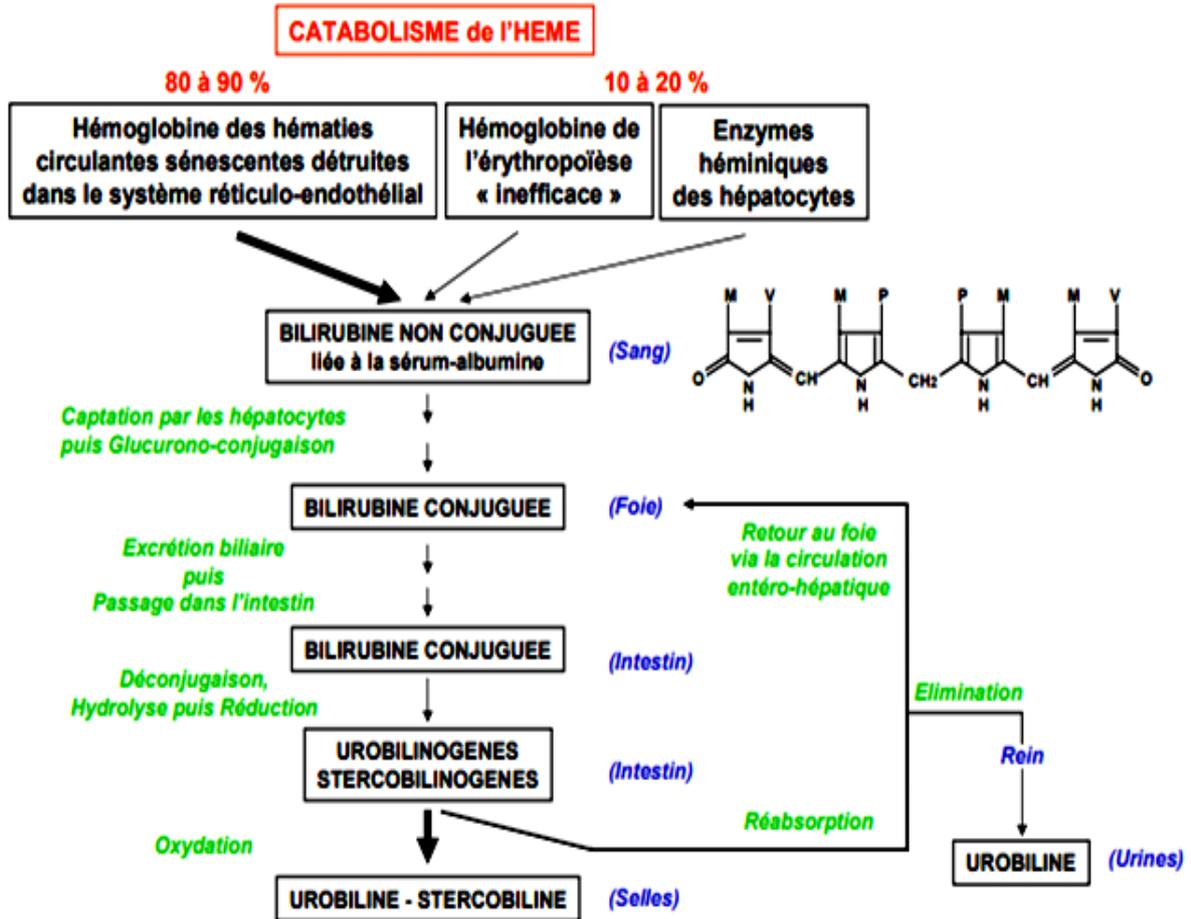
- Ictères cholestatiques :

- Intra-hépatiques (IH) : Liés à une altération de l'excrétion de la bilirubine conjuguée dans le foie.

- Extra-hépatiques (EH) : Liés à une obstruction des voies biliaires.

- Déficit héréditaire de l'excrétion de la bilirubine conjuguée : Il s'agit d'une affection rare.

# ORIGINE et DEVENIR de la BILIRUBINE



## II - URÉE

**A. Propriétés physico-chimiques :** L'urée est un composé organique composé d'azote et de carbone. Elle est soluble dans l'eau.

**B. Origine et devenir de l'urée :** L'urée est produite principalement dans le foie à partir de l'ammoniac, un produit du métabolisme des protéines. Elle est excrétée par les reins dans l'urine pour éliminer l'excès d'azote du corps.

**C. Valeurs sémiologiques :**

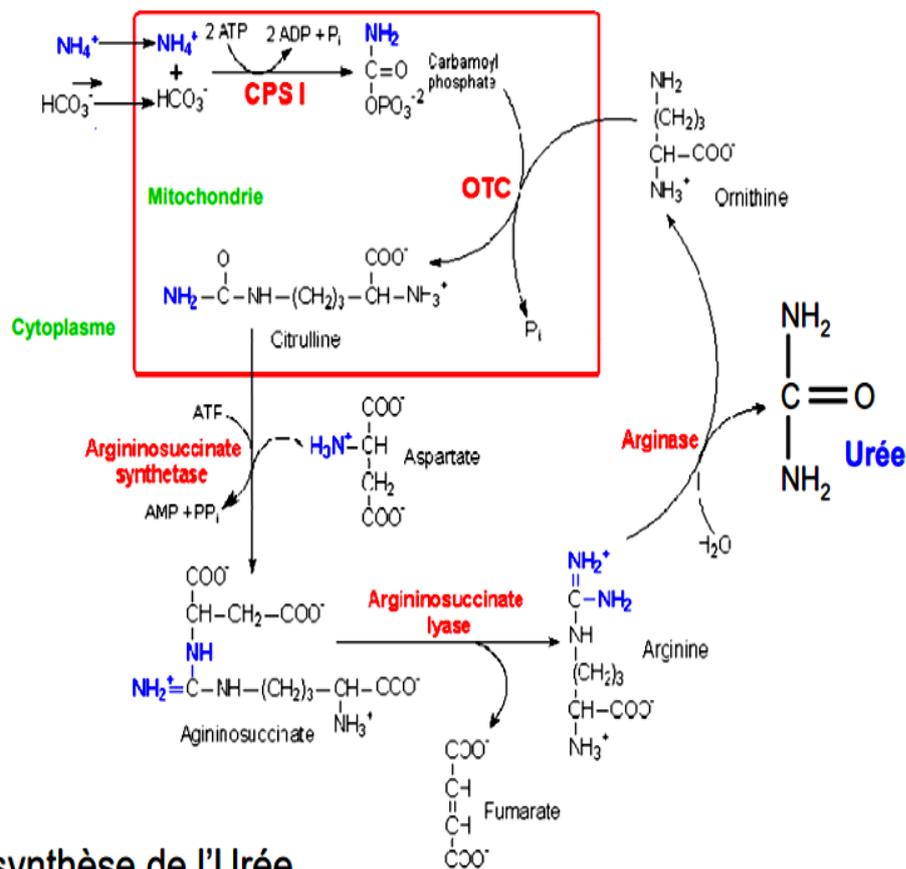
1°) Méthodes de dosage :

- a) Méthode colorimétrique.
- b) Méthode à l'uréase.

2°) Valeurs normales : Les valeurs normales de l'urée varient en fonction des laboratoires, mais elles se situent généralement entre 10 et 40 mg/dL.

3°) Variations physiopathologiques :

- a) Variations physiologiques : L'urée peut augmenter temporairement après un repas riche en protéines.
- b) Variations pathologiques : L'insuffisance hépatique et les insuffisances rénales peuvent entraîner des niveaux anormaux d'urée.



Biosynthèse de l'Urée

### III - CRÉATININE

**A. Propriétés physico-chimiques :** La créatinine est un dérivé de la créatine, présente dans les muscles, et est un indicateur du métabolisme musculaire.

**B. Métabolisme de la créatinine :** La créatinine est produite en continu dans les muscles et est excrétée par les reins.

**C. Valeurs sémiologiques :**

1°) **Méthodes de dosage :** La créatinine peut être mesurée par diverses méthodes, notamment la méthode de Jaffé.

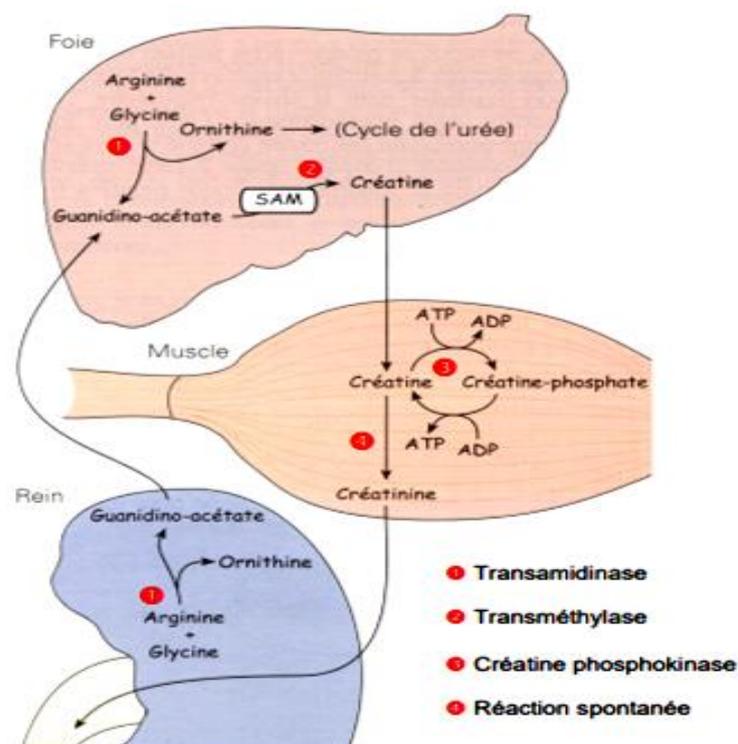
2°) **Valeurs normales :** Les valeurs normales de la créatinine sérique varient en fonction de l'âge, du sexe et de la masse musculaire, mais elles sont généralement comprises entre 0,6 et 1,2 mg/dL.

3°) **Variations physiopathologiques :**

a) Variations physiologiques : Les niveaux de créatinine peuvent varier en fonction de la masse musculaire.

b) Variations pathologiques : L'insuffisance rénale peut entraîner une augmentation significative de la créatinine sérique.

#### Métabolisme de la Créatinine



## IV - ACIDE URIQUE

**A. Propriétés physico-chimiques :** L'acide urique est un composé cristallin, et il est le produit final de la dégradation des purines.

**B. Origine et devenir :** L'acide urique provient de la dégradation des purines dans le corps et est normalement excrété par les reins.

**C. Valeurs sémiologiques :**

1°) **Méthodes de dosage :** L'acide urique peut être mesuré en utilisant des méthodes colorimétriques.

2°) **Valeurs normales et variations physiologiques :**

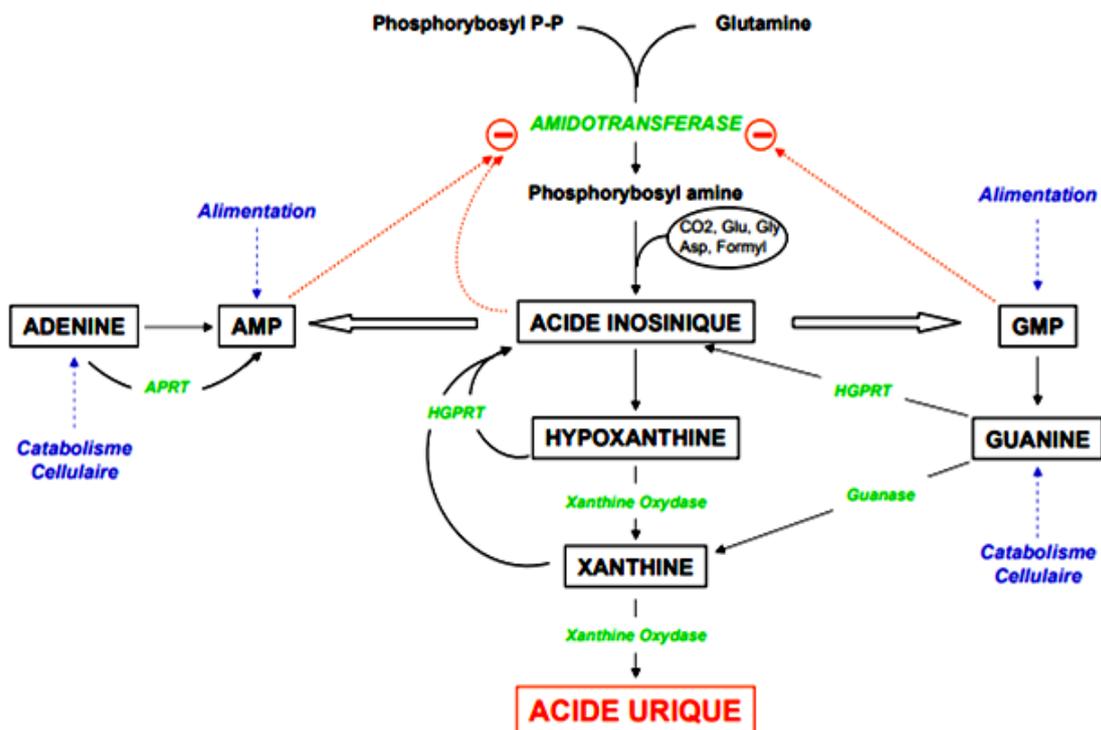
a) Les valeurs normales d'acide urique varient en fonction de l'âge et peuvent être plus élevées pendant la grossesse.

3°) **Variations physio-pathologiques :**

a) Variations physiologiques : Les niveaux d'acide urique peuvent augmenter en cas de régime riche en purines.

b) Variations pathologiques : Les hyperuricémies peuvent être primitives (comme l'hyperuricémie idiopathique commune) ou secondaires (liées à une augmentation de la production ou à une diminution de l'élimination rénale). Une hypo-uricémie peut également être observée dans certaines conditions.

### METABOLISME des PURINES



## Chapitre 6 : LES ENZYMES PLASMATIQUES.

### I) Introduction :

Les enzymes sont des molécules biologiques douées d'activités catalytiques.

La détermination de l'activité enzymatique plasmatique à une grande valeur dans le diagnostic et dans le suivi de nombreuses pathologies. La plupart des enzymes plasmatiques sont au départ intracellulaire.

### II) Origine et répartition :

Les enzymes plasmatiques sont divisées en deux groupes :

- Celles qui exercent leur fonction dans le plasma : enzymes spécifiquement plasmatiques.
- Celles qui sont de passage dans le plasma par diffusion transmembranaire, renouvellement cellulaire, sécrétion tissulaire, ou lors de l'activité musculaire: Enzymes non spécifiquement plasmatiques

### A) Les Enzymes Spécifiquement Plasmatiques :

Ces enzymes accomplissent leurs fonctions physiologiques dans le plasma. Elles sont présentes à un taux constant.

- La Lipoprotéine Lipase (LPL) : Hydrolyse des triglycérides plasmatiques.
- Les Enzymes de la coagulation.
- Les Enzymes de la fibrinolyse.
- La Céruléoplasmine.

### B) Les Enzymes Non Spécifiquement Plasmatiques :

Ces enzymes n'ont pas de fonction plasmatique, et sont présentes en faible quantité dans le sang, en conséquence d'une activité cellulaire normale.

**a/ Enzymes d'excrétion:** synthétisées par des glandes exocrines :

- Phosphatase acide de la prostate ;
- Phosphatase alcaline du foie ;
- Amylase du pancréas ;
- Lipase du pancréas.

### b/ Enzymes cellulaires :

Elles appartiennent à tous les métabolismes, leur nombre est considérable.

La libération d'enzymes est peu importante dans les conditions physiologiques.

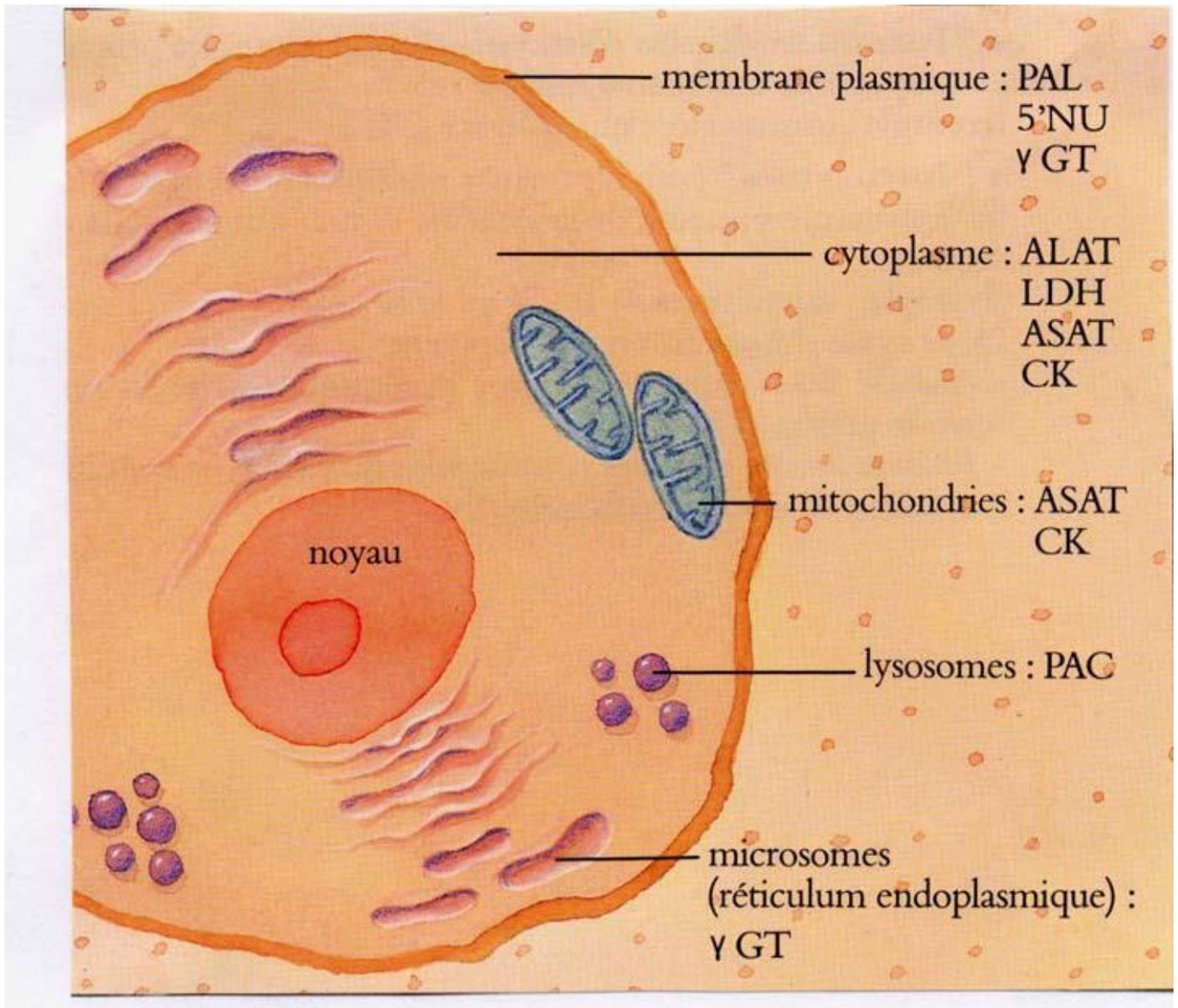
En cas de dommage cellulaire (altération des membranes cellulaires), la libération d'enzymes s'accroît et la concentration plasmatique devient pathologique.

Cependant de telles augmentations enzymatiques ne sont pas toujours dues à des dommages tissulaires. Les autres causes possibles sont :

- L'augmentation de l'activité cellulaire.
- La prolifération cellulaire (ex : néoplasie).
- L'augmentation de la synthèse enzymatique (induction).
- L'obstacle à la sécrétion.

□ Diminution de la clairance.

### Localisation cellulaire des enzymes :



### Enzymes d'intérêt clinique :

Enzymes fréquemment déterminées en pratique courante :

#### 1/Les Aminotransférases ou Transaminases :

Elles sont responsables du transfert du groupement aminé d'un acide aminé à un acide  $\alpha$ -cétonique en présence de phosphate de pyridoxal (vit B6).

Les plus importantes sont :

□ **L'ASAT : aspartate aminotransférase** (anciennement TGO) cytosolique et mitochondriale retrouvée dans de nombreux tissus notamment dans le coeur, le foie, muscle squelettique, érythrocyte, poumon, rein et pancréas.

ASAT < 40 UI/L.

En cas d'atteinte tissulaire modérée, c'est l'asat cytosolique qui prédomine dans le plasma. La forme mitochondriale est libérée lors d'atteintes sévères.

□ L'activité ASAT est très élevée en cas de dommages tissulaires importants (hépatite aigue, écrasement musculaire, hypoxies tissulaires).

□ Une augmentation modérée de l'ASAT 5 à 10 x la valeur normale (accompagnée de celle de l'ALAT) fait suite à un IDM, une atteinte musculaire, une atteinte hépatobiliaire autre que celles s'accompagnant d'une cytolyse importante (hépatite chronique, cholestase, carcinome hépatocellulaire), et lors d'une hémolyse.

□ **l'ALAT : alanine aminotransférase** (anciennement TGP) uniquement cytosolique retrouvée en grande quantité dans le foie (+++) et en faible quantité dans un grand nombre de tissus. ALAT <45 UI/L.

Lors d'une cytolyse hépatocellulaire, l'activité ALAT est > à celle de l'ASAT .

Si nécrose cellulaire (la cytolyse affecte les organites, l'ASAT mitochondriale est libérée et le rapport ALAT/ASAT tend vers 1 (augmentation proportionnée d'ALAT et d'ASAT).

## **2/ Phosphatase Alcaline : PAL**

La PAL catalyse l'hydrolyse de liaisons ester phosphorique, elle est présente en grande quantité dans le foie, l'os (ostéoblastes), l'épithélium intestinal, les tubules rénaux et le placenta.

Les PAL qui prédominent dans le plasma d'un sujet sain sont d'origine hépatique et osseuse. (90 à 200 UI/L)

On observe une augmentation physiologique lors de la puberté (pic de croissance osseuse), la période post prandiale chez les groupes B et O (absorption intestinale), et le dernier trimestre de la grossesse.

Activité élevée à la naissance.

La clairance plasmatique se fait par excrétion au niveau de la bile, par conséquent toute cholestase conduit à une accumulation plasmatique de cette enzyme.

Deux causes principales d'une augmentation de l'activité de la PAL plasmatique : a/ les pathologies hépatobiliaires :

Toute cholestase intra hépatique (cancéreuse, médicamenteuse) ou extra hépatique (calcul biliaire, cancer de la tête du pancréas)

b/ pathologies osseuses : (Maladie de Paget, ostéomalacie), tumeurs osseuses

La PAL est aussi augmentée en cas d'affections inflammatoires de l'intestin.

## **3/ La $\gamma$ -Glutamyl Transférase : GGT ou $\gamma$ GT.**

La GGT est une enzyme qui catalyse le transfert d'un groupement  $\gamma$  glutamyl vers un accepteur d'acides aminés. (métabolisme du glutathion)

Retrouvée dans le foie+++, rein, pancréas et intestin.

La GGT plasmatique d'un sujet sain est essentiellement hépatique. Taux <45UI/L

□ L'activité GGT est très élevée en cas de cholestase intrahépatique ou d'obstruction biliaire extra hépatique.

□ Augmentation importante lors de carcinome hépatocellulaire et métastases hépatiques.

□ L'augmentation est modérée en cas de cytolyse hépatocellulaire.

La GGT est l'un des marqueurs les plus sensibles d'une atteinte hépatocellulaire.

Sa détermination peut être utile pour préciser l'origine de l'augmentation des PAL, la GGT est normale lors de pathologies osseuses.

L'activité GGT élevées chez les consommateurs abusifs d'alcool et la détermination enzymatique est utile pour le suivi du sevrage alcoolique.

-Certains médicaments inducteurs enzymatiques élèvent le taux de GGT en l'absence de pathologie hépatique (anticonvulsivants, la rifampicine...)

#### **4/ La Lactate déshydrogénase : LDH**

Cette enzyme tétramérique est formée de 2 types de sous unités : H (heart) et M (muscle), ce qui permet de distinguer 5 iso-enzymes .

La LDH catalyse l'oxydation du lactate en pyruvate (réaction réversible). Valeurs de référence : 200 à 400 UI/L

C'est une enzyme cytosolique ubiquitaire, donc de spécificité faible, elle doit être associée à d'autres marqueurs biologiques.

L'activité est importante dans le foie, le muscle squelettique, le coeur, le rein et les érythrocytes. Dans le muscle cardiaque et globules rouges LDH-1(H4),

Dans le foie et muscle squelettique LDH-5(M4) et LDH-4(HM3).

Les iso enzymes LDH-2, LDH-3 et LDH-4 se trouvent dans les autres tissus.

L'activité LDH est augmentée dans : les atteintes aiguës du foie, du muscle squelettique, des reins et des anémies hémolytiques et mégalo-blastiques.

Nombreux processus néoplasiques s'accompagnent d'une augmentation de la LDH dans le plasma et malgré le manque de spécificité, la bonne sensibilité de ce test fait qu'il est souvent utilisé comme un marqueur de surveillance en onco-hématologie.

La LDH peut avoir une valeur pronostique importante chez les patients présentant un lymphome, une augmentation est un marqueur de mauvais pronostic.

#### **5/ $\alpha$ -Amylase :**

Deux iso enzymes existent ; l' $\alpha$ -Amylase salivaire (ptyaline), sécrétée par les parotides dans la cavité buccale, l' $\alpha$ -Amylase pancréatique sécrétée par le pancréas exocrine dans le duodénum.

Elles dégradent les glucosanes qui contiennent des liaisons ( $\alpha$ 1-4) .

L'Amylasémie augmente en cas de :

Pancréatite aiguë ++++

Pancréatite chronique ++

Parotidite : exp virale : oreillons

#### **6/ La Lipase :**

Sécrétée par le pancréas, joue un rôle dans la digestion des triglycérides dans la lumière intestinale. **Une Hyperlipasémie est observée lors des pancréatites et du cancer du pancréas. Valeur** de référence =7 à 60 UI/l .

Les pathologies hépatobiliaires et intestinales entraînent une augmentation modérée de la lipase et de l'amylase. De même que l'insuffisance rénale par défaut d'élimination.

7/ créatine kinase : CK

Enzyme dimérique ( sous unité M :muscle et B : brain),Possède 3 isoenzymes ( CK-MM, CK-MB et CK-BB).

Elle catalyse la phosphorylation de la créatine avec un ATP:

Créatine+ATP <—————> Créatine Phosphate + ADP

Dans l'infarctus du myocarde : ↑ CK-MB+++

Dans les myopathies :

-la polymyosite et la dystrophie de Duchenne : - LDH normales

CK totale 10 à 20 x la valeur Normale. (CKMM+++).

-Rhabdomyolyse :↑ CKMM+++, ↑ CKMB+