



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Benyahia - Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie Moléculaire et Cellulaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Sémiologie Biochimique

Polycopié de cours

Master I Biochimie

Préparé par Dr DERAÏ El-hadjela

MCB

2017/2018

Ref.....

Intitulé du Master : Biochimie

Semestre : 2

Intitulé de l'UEF 3 : Biochimie et Sémiologie biochimique

Intitulé de la matière2 : sémiologie biochimique

Crédits : 8

Coefficients : 4



Objectifs de l'enseignement : *Les anomalies biochimiques se traduisent soit par l'apparition de molécules de structure anormale, soit par des variations de la quantité de certaines molécules présentes dans le sang, l'urine, les tissus. L'étude de ces modifications peut aider à déduire la nature de la maladie causale, dans ce cas le biochimiste aide à faire le diagnostic des maladies et de suivre les progrès du traitement par le retour à la normale.*

Connaissances préalables recommandées : *Connaissances déjà acquises en biochimie, en enzymologie et en physiologie cellulaire en L2 et en L3*

Contenu de la matière :

1. Principales enzymes d'intérêt clinique

- 1.1. Phosphatases et variations pathologiques
- 1.2. Transaminases et variations pathologiques
- 1.3. Lactate déshydrogénase et ses isoenzymes
- 1.4. Créatine kinase (Rôle, Valeurs usuelles, Variations pathologiques, Détermination de l'activité)
- 1.5. Amylase (Rôle, Valeurs usuelles, Variations pathologiques, Détermination de l'activité)
- 1.6. Lipase (Rôle, Valeurs usuelles, Variations pathologiques, Détermination de l'activité)
- 1.7. δ -glutamyl transférase (Valeurs usuelles, Variations pathologiques, Détermination de l'activité)
- 1.8. Aldolase (Rôle, Valeurs usuelles, Variations pathologiques, Détermination de l'activité)

2- Métabolisme, régulation et variations pathologiques du calcium et du phosphore

2-1-calcium (Besoins calciques et apports alimentaires, Absorption intestinale, Répartition dans l'organisme, Élimination) 2.2. Phosphore (Besoins en phosphates et apports alimentaires, Absorption, Répartition dans l'organisme, Élimination) 2-3. Régulation du métabolisme phosphocalcique. Variations pathologiques

3- Métabolisme des glucides, régulation et variations pathologiques

1-Métabolisme des glucides, 2-Valeurs usuelles de la glycémie, 3- Variations pathologiques

4-Le métabolisme azoté, régulation et variations pathologiques de quelques principales protéines plasmatiques

1-Le métabolisme azoté (Besoins et apports protéiques, Digestion et absorption intestinale, Utilisation métabolique, Néoglucogénèse, Catabolisme et élimination azotée, 2. Régulation hormonale, 3-Variations pathologiques de quelques principales protéines plasmatiques

5-Métabolisme des lipides et des lipoprotéines et variations pathologiques

-Structure des lipoprotéines, Métabolisme des lipoprotéines, Variations pathologiques

Travail Personnel: Analyse d'article, exposé, poster

Mode d'évaluation : *Evaluation continu et examen écrit*

Références E. Christian Laterre .*Sémiologie des maladies nerveuses*. Ed. De Boeck, 2008. Jean Bariéty,Loïc Capron,Gilles Grateau *Sémiologie clinique*, ed. Elsevier Masson. 2009

TABLE DES MATIERES

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre 1: Principales enzymes d'intérêt clinique

(Rôle, Valeurs usuelles, Variations pathologiques, Détermination de l'activité)

1. Phosphatases et variations pathologique	2
1.1. Phosphatases alcalines.....	2
1.2. Phosphatases acides	5
2. Transaminases et variations pathologiques.....	6
3. Lactate déshydrogénase	10
4. Créatine kinase	14
5. Alpha amylase	18
6. Lipase.....	21
7. Gamma-glutamyl-ltransferase	24
8. Aldolase	27

Chapitre 2: Métabolisme, régulation et variations pathologiques du calcium et du phosphore

1. Calcium	32
1.1. Besoins calciques et apports alimentaires	32
1.2. Absorption du calcium	32
1.3. Répartition dans l'organisme	32
1.4. Élimination	33
1.5. Rôle du calcium.....	33
1.6. Méthodes de dosage du calcium.....	34
2. Phosphore	34
2.1. Besoins en phosphates et apports alimentaires	34

2.2 .Absorption.....	35
2.3. Répartition dans l'organisme	35
2.4. Élimination	35
2.5. Rôle du phosphore.....	36
2.6. Méthodes de dosage du phosphore.....	36
3. Régulation du métabolisme phosphocalcique	37
3.1. Sites de régulation	37
3.2. Hormones régulatrices.....	37
4. Exploration du métabolisme phosphocalcique.....	43
5. Variations pathologiques.....	44
5.1. Variations de la calcémie	44
5.2. Variations de la phosphatémie	45
5.3. Perturbations métaboliques de l'os	46

Chapitre 3: Métabolisme des glucides, régulation et variations pathologiques

1. Origine du glucose sanguin.....	47
1.1. Origine exogène	47
1.2. Origine endogène	48
2. Régulation	49
2.2. Régulation endocrine.....	49
3. Exploration de la glycorégulation	52
3.1. Epreuves sans stimulation.....	52
3.2. Epreuves avec stimulation	55
4. Épreuves d'hypoglycémie.....	56
5. Dosages et épreuves complémentaires	56
5.1. Insulinémie.....	56
5.2. Le C-Peptide	57
6. Teste de surveillance et de conséquences du diabète sucré	58
6.1. HbA _{1c}	58
6.2. Fructosamines	58

6.3. Microalbuminurie.....	59
7. Autres Examen.....	59
7.1. Corps cétoniques	59
7.2. Lactate et pyruvate	60
8. Variations pathologiques	60
8.1. Hypoglycémies	60
8.2. Hyperglycémie	60

Chapitre 4 : Le métabolisme azoté, régulation et variations pathologiques de quelques principales protéines plasmatiques

1. Métabolisme.....	62
1.1. Besoins et apports protéiques	62
1.2. Sources exogènes et endogènes des protéines	63
1.3. Digestion des protéines alimentaires	63
1.4. Absorption intestinale des acides aminés	64
1.5. Utilisation métabolique	64
1.6. Excrétion azotée	65
2. Régulation hormonale du métabolisme azoté	66
2.1. Facteurs anabolisants	66
2.2. Facteurs catabolisants	66
3. Exploration du métabolisme des protéines	67
3.1. Protéines totales	67
3.2. Electrophorèse des protéines	67
3.3. Immunoélectrophorèse	74
3.4. Immunofixation	74
4. Etude de la protéinurie	74
5. Principaux profils pathologiques	75

Chapitre 5 : Métabolisme des lipides et des lipoprotéines et variations pathologiques

1. Structure des lipoprotéines	78
2. Métabolisme des lipoprotéines	80
3. Exploration	82
3.1. Aspect du sérum	82
3.2. Dosage du cholestérol total	83
3.3. Dosage des triglycérides	83
3.4. Dosage du cholestérol HDL.....	83
3.5. Évaluation du cholestérol des LDL	84
3.6. Dosage des apolipoprotéines A-I et B.....	84
3.7. Dosage de la Lp(a)	84
3.8. Fractionnement des lipoprotéines	84
4. Pathologies du métabolisme des lipoprotéines.....	85
4.1. Les hyperlipidémies.....	86
4.2. Les hypolipoprotéïnémies	88

Références bibliographiques

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition du calcium plasmatique.....	33
Figure 2: Fonctions biologiques de la parathormone.....	39
Figure 3: Fonctions biologiques de la calcitonine.....	40
Figure 4: Métabolisme de la vitamine D	41
Figure 5: Régulation de la synthèse du calcitriol	41
Figure 6: Fonctions biologiques du calcitriol	42
Figure 7: Schéma de synthèse de la régulation de la glycémie	51
Figure 8 : Représentation schématique du métabolisme protéique du corps entier.....	65
Figure 9 : Protéinogramme d'un sujet normal.....	74
Figure 10 : Structure d'une lipoprotéine	78
Figure 11 : Métabolisme des lipoprotéines	82

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Iso-enzymes des PAL	3
Tableau 2 : Iso-enzymes de la lactate déshydrogénase	10
Tableau 3 : Variations pathologiques du CK	17
Tableau 4 : Variations pathologiques de l'amylase et la lipase	23
Tableau 5 : Récapitulatif de l'origine des enzymes	30
Tableau 6 : Enzymes augmentées selon les organes touchés	31
Tableau 7: Exploration statique du bilan phosphocalcique	44
Tableau 8 : Pathologies du métabolisme phosphocalcique	45
Tableau 9 : Caractéristiques des transporteurs de glucose (GLUT) chez l'homme	48
Tableau 10 : Classification étiologique des diabètes sucrés	61
Tableau 11 : Principales protéines plasmatiques	68
Tableau 12 : Caractéristiques des immunoglobulines	73
Tableau 13 : Les quatre principales lipoprotéines et leurs fonctions	79
Tableau 14: Les principales apolipoprotéines	80
Tableau 15: Ultracentrifugation de flottation	85
Tableau 16 : Causes fréquentes d'hyperlipidémie secondaire	86
Tableau 17 : Classification des dyslipoprotéïnémies familiales selon Fredrickson	87



Introduction

Ce travail est essentiellement destiné aux étudiants de la faculté des sciences de la nature et de la vie spécialistes en biochimie et à tous ceux qui désirent s'initier à cette spécialité.

La biochimie ou chimie biologique est la science qui étudie la structure, les propriétés et les transformations des constituants chimiques des êtres vivants, (biochimie structurale et métabolique ou biochimie générale), ainsi que les variations qualitatives et quantitatives d'origines pathologiques (biochimie clinique).

Ainsi définie, la biochimie permet de connaître et de comprendre la nature et le fonctionnement normal et physiopathologique des êtres vivants.

La biochimie sémiologique ou la sémiologie biochimique est l'étude des signes biochimiques regroupant tous ce qui est analyses biochimiques, comme les analyses de sang, d'urine, de sperme ou encore de matières fécales.

La sémiologie biochimique observée au cours de la grande majorité des affections confère à la biochimie clinique une très grande importance diagnostique, pronostique et le suivi de l'évolution des maladies, car les anomalies biochimiques se traduisent soit : par l'apparition de molécules de structure anormale, soit par des variations de la quantité de certaines molécules présentes dans le sang, les urines et les tissus.

L'étude de ces modifications peut aider à déduire la nature de la maladie causale, dans ce cas le biochimiste aide à faire le diagnostic des maladies et de suivre les progrès du traitement par le retour à la normale.

L'interprétation des résultats des données biochimiques statiques (sémiologie biochimique) ou dynamiques (exploration fonctionnelle biochimique) exigent la connaissance de la qualité des techniques et la recherche constante des tests mieux adaptés à la découverte de nombreuses conséquences biochimiques de la maladie.

L'objectif général de ce support de cours est de donner un aperçu clair et simple sur les différents marqueurs biochimiques et leurs intérêts sémiologiques, l'exploration biochimique des différentes fonctions biologiques et leurs anomalies.

A la fin du cours, l'étudiant doit être capable de décrire les principales voies métaboliques en identifiant les métabolites et les enzymes d'intérêt clinique, connaître les notions de base des processus analytiques utilisés pour évaluer ces marqueurs et intégrer les résultats de laboratoire dans leur contexte physiopathologique.

Chapitre

Principales enzymes d'intérêt clinique

(Rôle, Valeurs usuelles, Variations pathologiques, Détermination de l'activité)

1. Phosphatases et variations pathologique	2
1.1. Phosphatases alcalines.....	2
1.2. Phosphatases acides	5
2. Transaminases et variations pathologiques.....	6
3. Lactate déshydrogénase	10
4. Créatine kinase.....	14
5. Alpha amylase.....	18
6. Lipase.....	21
7. Gamma-glutamyl-ltransferase	24
8. Aldolase	27



Chapitre 1: Principales enzymes d'intérêt clinique

La mesure de l'activité des différentes enzymes du sérum humain a pris depuis quelques années une grande importance. Ces enzymes se trouvent normalement dans le sérum en faible quantité et à des taux bien déterminés. L'intérêt de la détermination des enzymes est multiple :

- Déceler une maladie avant même qu'elle ne soit cliniquement percevable ;
- Préciser l'organe lésé ;
- Et enfin pour certaines enzymes leur taux est un bon marqueur de l'évolution de la maladie.

Les enzymes du plasma sont toutes d'origine cellulaire, on peut distinguer:

- Celles qui exercent une fonction dans le plasma (enzyme de la coagulation...)
- Celles qui sont de passage dans le plasma; leur présence dans le plasma est physiologique. Elle traduit alors la diffusion transmembranaire des enzymes, conséquence de leur renouvellement cellulaire et du travail musculaire. Cette diffusion, normalement peu importante, est cependant suffisante pour être détectable et quantifiable. Elle est en outre, très proche d'un sujet à l'autre, ce qui a permis de définir pour chaque enzyme une concentration physiologique.

En revanche une augmentation de leur concentration plasmatique est pathologique, ainsi la sémiologie enzymatique générale a permis de démontrer quatre notions :

1. Une cytolysse entraîne l'apparition brusque et importante dans le plasma des enzymes solubles ou liées aux organites cellulaires.
2. Une simple souffrance cellulaire en l'absence de cytolysse vraie peut par son retentissement membranaire, entraîner l'augmentation de la diffusion de ces enzymes.
3. Une simple modification métabolique peut être suffisante pour retentir sur la perméabilité de la membrane et favoriser le passage des enzymes.
4. Même en l'absence d'atteinte de la cellule, un accroissement de la synthèse de telle ou telle enzyme peut intervenir et augmenter son passage transmembranaire (augmentation de la synthèse dans la cholestase ou l'inflammation).

1. Phosphatases et variations pathologiques

Les phosphatases sont des phosphomonoestérases qui coupent la liaison ester phosphorique par hydrolyse en libérant de l'acide phosphorique.

Le pH optimum de ces phosphatases varie selon l'origine organique de l'enzyme. Il existe dans le sérum deux types de phosphatases, celles qui agissent à pH acide et les phosphatases qui agissent à pH alcalin. Cela explique leur dénomination.

1.1. Les phosphatases alcalines

1.1.1. Définition et rôle biologique

La phosphatase alcaline (PAL) est une glycoprotéine dimérique de masse voisine de 170Kda avec une *demi-vie* de 3 - 7 jours, sa structure renferme quatre atomes de zinc et son activité catalytique dépend de la présence de magnésium dans le milieu. Les PAL catalysent l'hydrolyse d'esters phosphoriques en milieu alcalin, selon la réaction générale :



Son pH optimum d'action est voisin de 10.

1.1.2. Répartition

Les phosphatases alcalines sont présentes dans tous les tissus humains : la bile et les ostéoblastes en sont particulièrement riches. Les phosphatases alcalines du sérum peuvent avoir plusieurs origines tissulaires : foie, intestin, os, placenta.

1.1.3. Intérêt du dosage

La détermination de l'activité présente un intérêt dans l'exploration des affections touchant le foie ou les canaux biliaires (cas de cholestase) et dans les maladies s'accompagnant d'une hyperactivité ostéoblastique.

1.1.4. Méthodes de mesure de l'activité enzymatique

• Méthode cinétique colorimétrique

Les PAL catalysent l'hydrolyse du para-nitrophénylphosphate (PNPP) en para-nitrophénol (PNP) et acide phosphorique. Le PNP de coloration jaune est libéré proportionnellement à l'activité de PAL et est mesurée par photométrie en milieu alcalin. La réaction est la suivante :



Il s'agit du suivi de l'apparition du para-nitrophénol à 405 nm (substrat paranitrophényl phosphate).

• Méthode colorimétrique en point final

On mesure le para-nitrophénol en fin de réaction

1.1.5. Iso-enzymes des PAL

La séparation et l'identification des iso-enzymes sont réalisées par les techniques électrophorétiques. Il existe plusieurs types de gel

- **L'électrophorèse en gel d'agarose à pH alcalin:** permet de distinguer toutes les iso-enzymes à part les fractions hépatiques et osseuses qui ont une migration électrophorétique voisine.

- **L'électrophorèse en gel d'affinité :** permet de séparer et quantifier les différentes iso-enzymes de la PAL de manière automatisée et sans prétraitement. Elle révèle six fractions ; deux hépatiques : (H1 et H2), trois intestinales : (I1, I2 et I3) et une osseuse (Tableau 1).

La séparation des iso-enzymes hépatiques et osseuse est rendue possible grâce à de lectines contenue dans le gel qui a une forte affinité pour l'acide sialique de la fraction osseuse.

La PAL osseuse peut-être mesurée isolément par des techniques immuno-enzymatiques ou radio-immunologiques.

Tableau 1 : Iso-enzymes des PAL (Gilles *et al.*, 2002)

Iso-enzyme	% PAL sérique
Osseuse	20 à 75%
Hépatique H1	15 à 72%
Hépatique H2	1 à 14%
Intestinale (I1+I2+I3)	0 à 14 %

1.1.6. Valeurs normales attendues

Les limites supérieures de référence de concentrations d'activités PAL plasmatique chez les adultes sont les suivantes :

- PAL : Femmes: 98 U/L - Hommes : 115 U/L

1.1.7. Variations physiopathologiques

1.1.7.1. Variations physiologiques

L'activité des PAL varie en fonction de :

- **l'âge** : Chez l'enfant et jusqu'à l'adolescence, les phosphatases alcalines d'origine osseuse sont prédominantes et représentent 90 % de l'activité totale des PAL. Les taux plus élevés chez l'enfant sont liés à la croissance osseuse.
- **Le sexe** : Les PAL sont d'environ 20% plus élevées chez l'homme que chez la femme.
- **La grossesse** : Les phosphatases alcalines placentaires apparaissent chez la femme enceinte aux environs de la 20^e semaine de grossesse et augmente jusqu'au terme, pour atteindre à l'accouchement, une valeur égale à 2 ou 3 fois la normale.
- **Les médicaments** : Certains médicaments entraînent une modification de l'activité totale des PAL : Augmentation avec les anticoagulants et les antiépileptiques ; et baisse avec les contraceptifs oraux et les hypolipémiants.

1.1.7.2. Variations pathologiques

L'augmentation des PAL est observée dans :

- **Les pathologies osseuses** : Le passage dans le sérum de phosphatase alcaline d'origine osseuse est un reflet de l'activité des ostéoblastes (hyperactivité ostéoblastique), elle est élevée dans des affections où une destruction osseuse s'accompagne de phénomènes de reconstruction:
 - Les métastases osseuses avec activité ostéoblastique élevée, maladie osseuse de Paget, hyperparathyroïdie avec atteinte osseuse.
- **Les pathologies hépatobiliaires** : L'augmentation de l'activité des phosphatases alcalines, reflet d'une cholestase, peut être plus ou moins importante. Elle n'est pas une conséquence directe de l'obstruction, mais résulte d'une augmentation de synthèse. L'obstruction intra-hépatique ne provoque en général qu'une majoration modérée des phosphatases alcalines. Un obstacle extra-hépatique à l'écoulement biliaire engendre une hyperactivité phosphatasique plus nette.

Par contre on note **une hypophosphatésémie** dans les maladies suivantes :

Les hypophosphatésémies congénitales, l'hypoparathyroïdisme et l'ictère hémolytique.



1.2. Phosphatases acides

1.2.1. Définition et rôle biologique

Les phosphatases acides (PSA) sont des phosphomonoestérases de type II, leur activité optimale est comprise entre pH 4,5 et pH 6. Les phosphatases acides se trouvent dans la prostate, le foie, les reins, la rate et les globules rouges.

Le taux sérique des phosphatases acides totales n'est guère différent chez l'homme et chez la femme, ce qui prouve qu'à l'état normal, la phosphatase acide d'origine prostatique passe peu dans le sérum. L'activité phosphatasique acide du sérum provient surtout des érythrocytes ou des os.

1.2.2. Valeurs usuelles

Phosphatases acides totales : 2 à 10 UI.

Phosphatase acide prostatique : < 3,5 UI (Technique au p-nitrophénylphosphate, cinétique à 37 °C). Elle est déterminée de façon indirecte après inhibition de son activité par le tartrate à pH 5 ou par dosage spécifique immunologique.

Les phosphatases acides augmentent fortement dans le cancer de prostate en particulier avec métastases osseuses.

2. Transaminases et variations pathologiques

2.1. Définition

Les transaminases ou aminotransférases sont des enzymes intracellulaires qui catalysent le transfert d'un groupement amine d'un acide aminé sur un acide cétonique. Cette réaction aboutit à la formation d'un nouvel acide aminé et d'un nouvel acide cétonique.

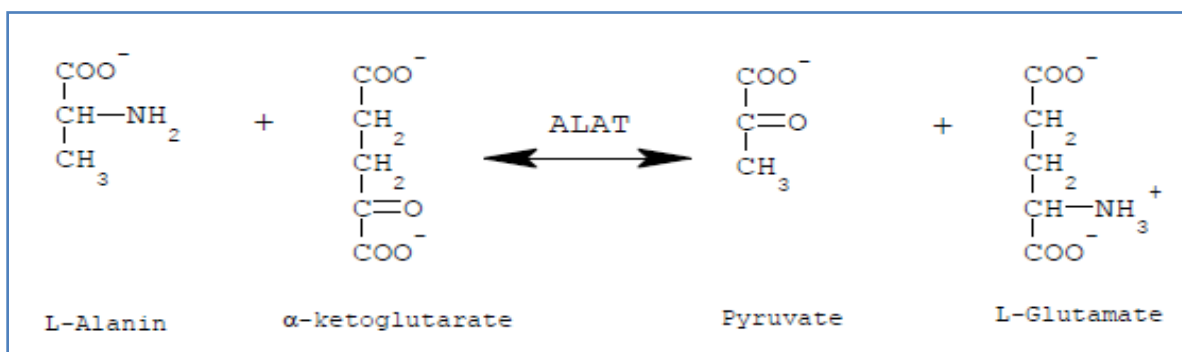
La transamination est un processus très général de dégradation et de synthèse des acides aminés.

De nombreuses transaminases sont connues mais deux d'entre elles présentent un intérêt sémiologique :

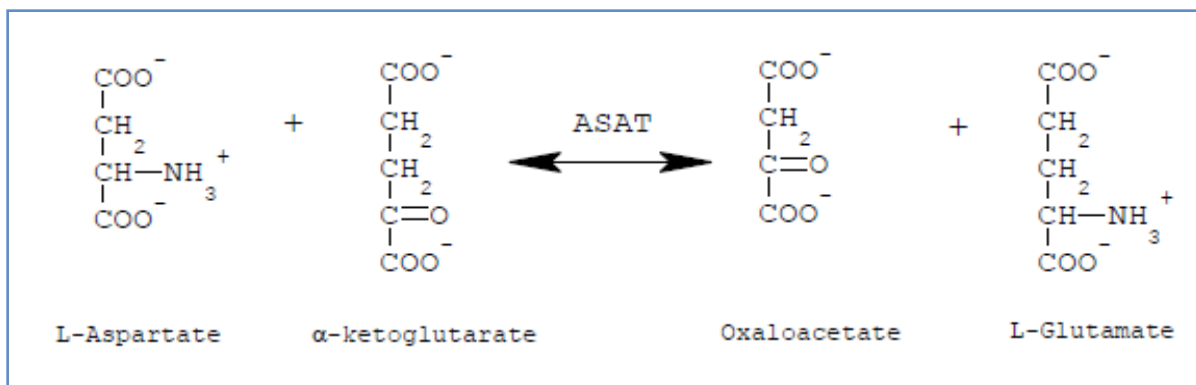
- L'alanine aminotransférase (**ALAT**), ancienne (**GPT** glutamate pyruvate transaminase ou transaminase glutamique pyruvique **TGP** : EC 2.6.1.2 avec un $T_{1/2}$ de 47 ± 10 heures).
- L'aspartate aminotransférase (**ASAT**), ancienne (**GOT** glutamate oxaloacétate transaminase ou transaminase glutamique oxalo-acétique **TGO** : EC2.6.1.1 avec un $T_{1/2}$ de 17 ± 5 heures).

2.2. Rôle biologique des transaminases (ALAT et ASAT)

L'ALAT catalyse les réactions de transamination qui font intervenir l'acide glutamique et l'acide pyruvique :



L'ASAT catalyse les réactions de transamination qui font intervenir l'acide oxaloacétique et l'acide glutamique selon la réaction suivante :



2.3. Répartition

Ces deux enzymes libérées dans le plasma par cytolysse, sont très répandues dans les tissus, principalement au niveau du foie et des muscles lisses (cardiaques) et striés (squelettiques) mais aussi au niveau du pancréas, du cerveau et des reins.

L'ALAT se retrouve surtout dans le tissu hépatique et à un moindre degré, dans le myocarde et les autres tissus, c'est la raison pour laquelle, à la phase initiale d'une nécrose hépatocytaire avec importante cytolysse, le taux de l'ALAT sera plus élevé dans le sang que celui de l'ASAT.

L'ASAT quant à elle est essentiellement présente dans le cœur mais on la retrouve aussi dans le foie, le rein et les muscles.

2.4. Intérêt du dosage

Le dosage des transaminases est utilisé pour détecter des lésions hépatiques, il peut aussi être demandé seul ou avec d'autres tests en cas d'exposition aux virus des hépatites, de consommation excessive d'alcool, d'antécédents familiaux de maladies hépatiques, de prise de médicaments ou des substances pouvant générer des lésions hépatiques.

2.5. Détermination de l'activité enzymatique des transaminases

La mesure se fait par dosage de l'activité enzymatique sérique en (UI/L) après ajout du substrat et les cofacteurs au sérum.

Le résultat dépend des conditions techniques : température, quantité de substrat ajouté,...

L'activité ASAT est mesurée à pH 7,65 et l'activité ALAT à pH 7,15 (37°C) ; la décroissance de l'absorbance est suivie en cinétique à 339 nm. Du phosphate de pyridoxal (PP), coenzyme indispensable à l'activité des aminotransférases est ajouté dans le milieu réactionnel, permettant ainsi de mesurer la totalité des molécules d'enzymes présentes, qu'elles soient sous forme d'apoenzyme ou liée à son cofacteur.

Les valeurs préliminaires des limites supérieures de référence de concentrations d'activités des aminotransférases chez les adultes sont les suivantes :

- ASAT : femmes: 31 U/L- hommes : 35 U/L
- ALAT : femmes: 34 U/L- hommes : 45 U/L

2.6. Variations physiopathologiques

2.6.1. Variations physiologiques

- **L'âge** : plus la personne est âgée, plus les valeurs seront élevées.
- **Le sexe** : les valeurs sont plus élevées chez l'homme.
- **Le poids corporel** : les valeurs seront plus élevées chez un sujet gros

2.6.2. Variations pathologiques

L'élévation des transaminases est nette dans plusieurs affections particulièrement hépatiques et cardiaques (jusqu'à 100 fois la valeur normale dans les hépatites aiguës). On observe une augmentation des transaminases dans les affections suivantes :

Les affections cardiaques (telles que l'infarctus du myocarde, myocardite... etc), les affections hépatiques (les hépatites aiguës, hépatites chroniques...), les affections pancréatiques (pancréatite aiguë biliaire ou éthylique) et les affections musculaires (les polymyosites, les dystrophies musculaires etc).

2.6.2.1. Affections cardiaques

La mesure de l'activité des transaminases est très utile pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde. L'évaluation de la TGO y est la plus importante. Mais, bien que la TGP ait un rôle moindre puisque d'origine principalement hépatique, une augmentation de la TGO et TGP donne une indication du degré de l'atteinte hépatique éventuelle, pouvant être consécutive à une insuffisance cardiaque post-infarctus.

Lors d'un infarctus du myocarde, l'augmentation de la TGO commence à la 6^{ème} heure, se poursuit jusqu'à la 36^{ème} heure et retourne à la normale au bout de 5 à 6 jours.

On trouve également une augmentation des TGO dans les embolies pulmonaires et les infarctus rénaux.

2.6.2.2. Affections hépatiques

Dans les affections hépatiques, la demande d'analyse n'est pas limitée à une transaminase mais aux deux, TGO et TGP.

Dans les hépatites aiguës, l'augmentation des TGO mais surtout des TGP commence avant même que l'ictère ne soit déclaré.



L'augmentation du taux des TGP traduit en effet une cytolysé hépatique qui permet de suivre l'évolution de la maladie et une rechute éventuelle.

L'augmentation des transaminases est le seul signe biologique des hépatites anictériques.

Dans les hépatites chroniques, l'augmentation des transaminases est modérée, elle traduit l'atteinte parenchymateuse par nécrose cellulaire.

Les obstructions des voies biliaires provoquent une augmentation modérée des transaminases.

Le retour à la normale est rapide.

Remarque

- **ASAT** : Cette enzyme est moins sensible et moins spécifique que l'ALAT pour le foie.

- **Rapport ASAT/ALAT** :

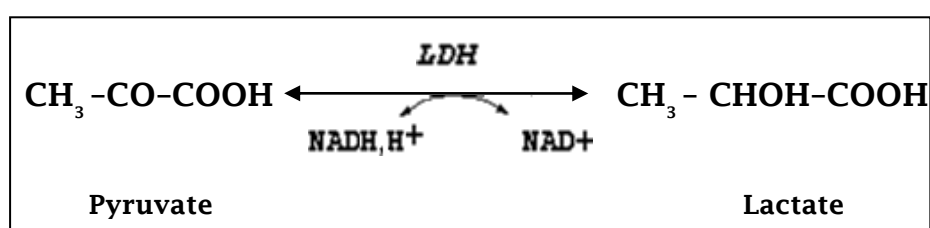
- <1 dans la majorité des lésions hépatiques aiguës
- >2 dans l'hépatite alcoolique
- >2 parfois dans la cirrhose

- En pratique, en cas d'élévation modérée des transaminases, il faut prendre garde à une élévation qui prédomine sur les ASAT. Il peut s'agir d'une cytolysé hépatique provoquée par l'alcool ou survenant au stade cirrhose. Il peut aussi s'agir d'une élévation des transaminases d'origine musculaire, en cas de doute il faut doser la créatine kinase.

3. Lactate déshydrogénase

3.1. Définition et rôle biologique

La lactate déshydrogénase (LDH, EC1. 1. 1. 27) est une enzyme qui catalyse l'oxydation du lactate en pyruvate en présence de NAD^+ avec formation de NADH, H^+ et réversiblement, l'équilibre réactionnel étant fonction du pH, des iso-enzymes et de la teneur en oxygène. Elle catalyse la transformation du pyruvate en lactate dans la dernière étape de la glycolyse en anaérobiose, alors qu'elle permet la formation de pyruvate à partir du lactate lors de la gluconéogenèse.



Il s'agit d'un tétramère de 135 KDa composé de deux sous-unités H (Heart, cœur) et/ou M (Muscle).

3.2. Iso-enzymes

Ils sont dans ce cas au nombre de cinq, puisque la molécule résulte de l'association de quatre sous unités et que ces sous unités sont de deux types différents (Tableau 2) :

- La sous unité H, spécifique du cœur (H: Heart)
- La sous unités M, spécifique du muscle (M : muscle), mais également localisée dans le foie et les hématies.

Tableau 2 : Iso-enzymes de la lactate déshydrogénase (Beaudeux et Durand, 2011)

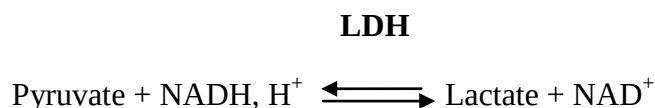
Iso-enzyme	Sous-unités	Répartition
LDH1	H ₄	Myocarde, rein, érythrocytes
LDH2	H ₃ M	Myocarde, rein, érythrocytes
LDH3	H ₂ M ₂	Poumons et d'autres tissus
LDH4	HM ₃	Foie, muscle squelettique
LDH5	M ₄	Foie, muscle squelettique

Comme l'intérêt de ce fractionnement, dans le cadre d'un diagnostic précoce de l'infarctus, était la mise en évidence d'une argumentation de la fraction 1, il a été proposé la détermination de la fraction iso-enzymatique cardiaque LDH 1 ou α HBDH (α hydroxy butyrate déshydrogénase) dont la réalisation simple permet son intégration dans le cadre de l'urgence. Elle est cependant d'apparition relativement tardive ce qui limite fortement l'intérêt de sa détermination.

3.3. Méthodes de dosage

Le dosage de LDH et de HBDH sont enzymatiques en mesurant la formation ou la consommation de NADH, H^+ .

Le principe réactionnel de la détermination de l'activité LDH dans le plasma est le suivant :



Le milieu réactionnel est tamponné à pH 9,40 (37°C) et l'activité LDH est mesurée en cinétique par le suivi de la diminution d'absorbance à 339 nm.

Les valeurs préliminaires des limites supérieures de référence des concentrations de l'activité LDH plasmatique chez les adultes sont les suivantes:

Femmes: 247 U/L, Hommes: 248U/L

La distinction des iso-enzymes se fait par électrophorèse sur gel d'agarose. Les iso-enzymes ont été classées par ordre de mobilité électrophorétique (proximité de l'anode: LDH 1).

3.4. Variations physiopathologiques

3.4.1. Variations physiologiques

L'activité de la LDH varie en fonction de

- **L'âge** : Dans le sang du cordon des nouveaux- nés, l'activité de la LDH totale est nettement supérieure à celle des adultes dans un rapport de 2,7 pour la limite supérieure des valeurs physiologiques. Chez l'enfant (à partir de 4 ans), l'activité de la LDH décroît régulièrement jusqu'à l'âge de 18ans.
- **La grossesse** : Au cours de la grossesse, l'activité de la LDH augmente graduellement de façon non négligeable. Elle reste élevée après l'accouchement et retourne à sa valeur habituelle après le post-partum.



• **Les médicaments :** L'activité de la LDH totale est peu sensible à la prise de médicaments, d'une façon générale. La plupart des variations sont inférieures à 10% et seuls les antiépileptiques provoquent chez les hommes une augmentation d'activité de 25%. La prise de contraceptifs oraux diminue par contre l'activité de la LDH d'environ 2 à 12%, cet effet étant de plus marqué avec l'âge des patientes.

L'activité de la LDH est nettement augmentée dans le cas de consommation importante et régulière d'alcool.

3.4.2. Variations pathologiques

• Infarctus du myocarde

Lors d'un infarctus du myocarde, l'augmentation du taux de LDH débute à la 10^{ème} heure, atteint son maximum de la 48^{ème} heure à la 72^{ème} heure, le retour à la normale s'effectue en 15 jours. Cette augmentation concerne principalement la LDH 1 et donc la HBDH.

• Maladies hépatiques :

La LDH5 est une enzyme de cytolysé hépatique; son élévation traduit une nécrose ou tout au moins une souffrance cellulaire hépatique. Au cours des hépatites aiguës quelles que soient leurs étiologies, l'élévation de la LDH5 peut être importante, elle est beaucoup plus constante et importante, en cas d'hépatite toxique qu'en cas d'hépatite virale, dans ce dernier cas, en l'absence de complications, son taux redevient normal environ deux semaines après le début de l'ictère, par contre, lors d'ictères obstructifs, son éventuelle élévation reste très modérée.

D'autres lésions hépatiques peuvent se traduire par une augmentation du taux de LDH5 sérique : cancers hépatiques, secondaires ou primitifs ; retentissement hépatique d'affections cardiaques ; souffrance cellulaire hépatique survenant au cours de l'évolution de maladies chroniques du foie.

• Maladies musculaires

Certaines myopathies peuvent s'accompagner d'une augmentation de la LDH : dystrophie musculaire, poly-myosite et traumatisme musculaire.

• Désordres hématologiques

La plus forte augmentation de la LDH s'observe au cours des anémies pernicieuses et mégalo-blastiques, dans ces cas, le retour de LDH à la normalité constitue un indice sensible de l'efficacité du traitement.



On note une augmentation de LDH au cours des poussées aiguës d'une anémie hémolytique. Les formes chroniques ne s'accompagnent en général pas de variations marquées de LDH.

• **Autres variations pathologiques**

Une atteinte pulmonaire sévère (embolie pulmonaire, infarctus pulmonaire, œdème aigu du poumon, pneumopathie infectieuse) ou un infarctus rénal, s'accompagnent d'une élévation de l'activité LDH dans le plasma.

L'élévation touchant les iso-enzymes intermédiaires 2 et 3 en cas d'infarctus pulmonaire et les iso-enzymes 1 et 2 dans l'infarctus rénal.

Enfin une augmentation de l'activité LDH peut accompagner de nombreux processus néoplasique.

Lors de l'évolution des cancers, des résultats variables ont été observés. Dans certains cas, on signale l'élévation des iso-enzymes lents (4 et 5), dans d'autres, des élévations des iso-enzymes intermédiaires (3). Ces variations restent modérées et ne peuvent guère avoir d'intérêt que pour juger l'évolution des cancers.



4. Créatine kinase

4.1. Définition et rôle biologique

La créatine phosphokinase (CPK) ou simplement la créatine kinase (CK) est aussi dénommée ATP créatine N phosphotransférase (EC 2.7.3.2).

Il s'agit d'une enzyme à double localisation cellulaire cytosolique et mitochondriale qui catalyse la phosphorylation réversible de la créatine en créatine-phosphate (le transfert d'un phosphate de l'ATP sur la créatine), permettant ainsi le stockage d'énergie en vue de la contraction musculaire selon la réaction suivante :



Rappelons que ce phosphagène ou créatine phosphate participe activement à la contraction musculaire en tant que fournisseur de deuxième rang pour l'ATP nécessaire. Le premier rang est l'ATP présent sur les fibres de myosine en contact avec l'actine et le troisième rang est l'ATP fabriqué par la glycogénolyse et la glycolyse.

4.2. Les iso-enzymes de la créatine kinase

La CK existe sous forme de plusieurs iso-enzyme cytosoliques. Chaque iso-enzyme est un dimère résultant de l'association de deux monomères différents M et B, (M pour Muscle) et (B pour Brain) en raison du tissu dans lequel ils ont été isolés pour la première fois.

Trois iso-enzymes différentes peuvent être obtenues par association deux à deux de ces sous-unités: CK-MM (CK3), CK-MB (CK2) et CK-BB (CK1), qui diffèrent en particulier par leurs répartitions tissulaires et sur le plan analytique, par leur mobilité électrophorétique.

Globalement, une activité créatine kinase a été mise en évidence dans les organes suivants: aorte, cerveau, cœur, estomac, foie, intestin, muscle, pancréas, placenta, poumons, prostate, rein, sein, thyroïde et utérus.



4.3. Répartition des iso-enzymes

La CK intervient dans la contraction musculaire par des échanges de phosphate dans les tissus. La localisation tissulaire des iso-enzymes est variable :

La CK-BB est présente dans le cerveau mais aussi dans le tractus gastro-intestinal, le système respiratoire, la vessie, elle est aussi très présente chez le fœtus.

La CKMB est retrouvée en grande proportion dans le muscle cardiaque tandis que la CK-MM est très largement représentée dans le muscle strié squelettique.

4.4. Indications du dosage

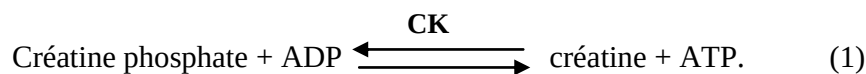
- Le dosage de la créatine kinase est l'examen à demander en urgence lorsqu'on suspecte un infarctus du myocarde récent.
- La recherche d'une myopathie : la forme de Duchenne, myosites et dermatomyosites

4.5. Méthodes de dosage

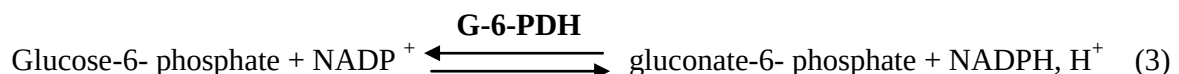
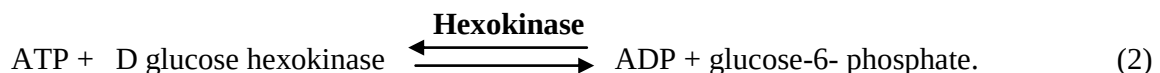
• Détermination de l'activité créatine kinase

La détermination de l'activité CK sérique totale se fait par cinétique enzymatique.

Trois réactions successives ont été proposées: La créatine kinase catalyse la réaction suivante :



La vitesse de production de l'ATP peut être dosée par une réaction auxiliaire (2) et une réaction indicatrice (3) aboutissant à la formation de NADPH.



G-6-PDH : Glucose-6- phosphate déshydrogénase.

La vitesse de formation du NADPH est proportionnelle à l'activité catalytique de la CK.

Elle est déterminée par mesure de l'augmentation d'absorbance à 340 nm.

• Séparation des iso-enzymes

Elle se fait par électrophorèse sur gel d'agarose à pH alcalin avec révélation colorimétrique des fractions

4.6. Valeurs usuelles

Les valeurs de référence de la CK totale varient selon les conditions expérimentales utilisées, par exemple :

à 37°C (technique IFCC)	
Femme adulte	60- 140 U/l
Homme adulte	80- 200 U/l

4.7. Variations physiopathologiques

4.7.1. Variations physiologiques

L'augmentation de la CK totale est en fonction de :

- **L'âge** : La concentration peut être 4 fois plus forte chez le nouveau-né la première semaine. Chez les enfants, les valeurs sont plus fortes que celles de l'adulte, à cause d'une activité physique plus importante.
- **La race** : Les sujets noirs ou caucasiens ont des concentrations plus élevées de CK totale.
- **Le sexe** : Elle est plus faible chez la femme que chez l'homme, en liaison avec la différence de masse musculaire.
- **L'exercice physique** : l'exercice physique au cours des trois jours précédant la prise de sang peut augmenter la concentration de CK jusqu'à 50 %, en fonction de l'intensité de l'effort et de l'entraînement du sujet.

4.7.2. Variations pathologiques

- **L'infarctus du myocarde** : l'élévation du taux de CK est très précoce (dès la 3^{ème} heure) pour atteindre son maximum entre la 24^{ème} et la 36^{ème} heure et revenir à la normale en 3 ou 4 jours, ce profil précède celui des transaminases, de LDH; sa précocité, sa courte durée évolutive sont caractéristiques. L'intérêt clinique atteint son maximum dans les formes indolores de l'infarctus ou en cas de collapsus cardiovasculaire intense, l'état de chocs masquant les signes cliniques de localisation myocardique : dans un tel cas, une CK élevée élimine formellement l'origine hépatique, elle peut permettre un diagnostic rétrospectif de l'infarctus du myocarde. Enfin, chez un greffé du cœur, une CK élevée suffisamment durable serait un excellent signe de rejet.
- **Les myopathies** : L'activité de créatine kinase est très élevée (50 à 100 fois le taux normal) au début de l'évolution des myopathies. L'élévation est moins importante par la suite.
- Un effort musculaire important ou un traumatisme (par exemple des injections intramusculaires) peuvent conduire à une augmentation passagère et importante des CK.

- Les CK augmentent dans les différents types de dystrophies musculaires progressives (surtout de type Duchenne), ainsi que dans d'autres maladies musculaires (polymyosite, dermatomyosite). Toutefois la valeur diminue avec l'âge par suite de la régression progressive de la masse musculaire fonctionnelle. Dans ces affections, comme après entraînement, par exemple chez les marathoniens, la teneur relative du muscle squelettique en CK-MB augmente et dépasse 4 %.
- Le taux de CK est normal dans les atteintes musculaires neurogènes (myasthénie, sclérose multiple...).

• Autres variations pathologiques

Des augmentations d'activité CK plasmatique sont également rencontrées chez des patients atteints d'hypothyroïdie, de pathologies néoplasiques, ischémie cérébrale et traumatisme crânien.

Le (Tableau 3) résume les différentes variations pathologiques du CK

Tableau 3 : Variations pathologiques du CK

Variations pathologiques		
Augmentation légère	Augmentation modérée	Augmentation marquée
- Hémolyse de l'échantillon sanguin	- Anorexie	- Syndrome d'obstruction urétrale
- Injection intramusculaire	- Convulsions	- Maladie thromboembolique
- Biopsie musculaire	- Myopathie des masticateurs	- Myopathies héréditaires
- Activité physique	- Lésion musculaire	- Myosites (infectieuses : néosporose, toxoplasmose / à médiation immune : polymyosite)
	- Neuropathies	- Origine endocrine : hyperadrénocorticisme, hypothyroïdie
	- Traumatisme	- Toxique
	- Frissons/tremblements	- Myopathie nutritionnelle : carence en sélénium ou en vitamine E
	- Toxiques (phénoxyherbicides, carbamate,...)	

5. Alpha amylase

5.1. Définition et rôle

L' α -amylase (EC : 3. 2. 1. 1) est une enzyme qui joue un rôle essentiel dans la digestion des glucides, puisqu'elle est capable d'hydrolyser des liaisons α -1,4-glucosidiques de l'amidon et du glycogène pour aboutir à la formation de dextrines d'un poids moléculaire moindre et finalement à du maltose et du glucose.

5.2. Répartition

Deux organes contiennent des quantités importantes d'amylase, le pancréas et les glandes salivaires, avec différentes isoformes. Le pancréas exocrine synthétise une activité amylasique de type P qui est sécrétée dans la lumière intestinale, alors que les glandes salivaires libèrent une activité amylasique de type S qui initie la digestion des polysaccharides alors que les aliments se trouvent encore dans la bouche ou dans l'œsophage.

Il est à noter que d'autres organes, tels que les trompes, les ovaires, les testicules et le tissu bronchique contiennent également des quantités importantes d'amylase.

5.3. Intérêt du dosage

Il est utilisé en cas de douleurs abdominales pour détecter des pathologies pancréatiques.

Il permet également de suivre l'évolution d'une pancréatite aiguë. Auparavant utilisée pour le diagnostic biologique de la pancréatite aiguë, couplée à la lipase, l'amylase n'est plus aujourd'hui prescrite qu'à la recherche d'une pathologie des glandes salivaires.

5.4. Méthodes de mesure de l'activité amylasique

Le dosage de l'activité amylasique du sérum repose sur une méthode colorimétrique enzymatique. Il y a la méthode qui utilise l'éthylidène G7 PNP comme substrat.

Le principe en est le clivage de substrat par l' α -amylase puis par l' α -glucosidase en PNP (paranitrophénol) et glucose.

On mesure la vitesse de la coloration du paranitrophénol à 410 nm ; elle est proportionnelle à l'activité amylasique.

5.5. Valeurs de référence

Sérum 30 - 118 U/L

Urine < 650 U/L

5.6. Variations physiopathologiques

5.6.1. Variations physiologiques

- **L'âge:** L'activité amylasique augmente avec l'âge. L'amylasémie est faible chez les enfants et atteint son taux « adulte » à l'âge de dix ans qui reste constant jusqu'à au moins l'âge de 80 ans où, pour une raison mal connue, son taux s'élèverait de 40 %.
- **Le sexe :** Il n'y a pas de différence du taux normal entre les sexes.
- **Les médicaments :** Certains médicaments entraînent une élévation de l'amylase: L'aspirine, les diurétiques, les corticostéroïdes, les contraceptifs oraux, les dérivés morphiniques...
Un taux de 3N est considéré comme valeur seuil significative pour cette enzyme.

5.6.2. Variations pathologiques

On note une augmentation de l'amylasémie dans les affections suivantes :

- **Pancréatite aiguë hémorragique**

L'amylasémie augmente au cours de la pancréatite aiguë hémorragique, pouvant atteindre 30 à 40 fois la valeur normale. Cette augmentation se manifeste entre la 3^{ème} et 6^{ème} heure après le début de l'affection, atteint son maximum entre la 20^{ème} et la 30^{ème} heure et se normalise entre 2 à 8 jours.

L'amylasémie doit toujours être complétée par l'amylasurie car l'amylase est éliminée par les urines. Le décalage des signes urinaires est de 6 à 12 heures.

- **Autres affections pancréatiques**

L'amylasémie peut augmenter modérément dans d'autres affections pancréatiques : pancréatite chronique, certains cancers du pancréas lithiase pancréatique. Ces variations sont inconstantes.

- **Parotidites**

L'amylasémie est augmentée dans les parotidites virales comme les oreillons, lors cette infection, l'augmentation de l'amylase est de règle plus de 95 % des cas; elle est dans cette circonstance due à la libération de l'enzyme salivaire.

Une élévation marquée au cours de l'évolution de la maladie doit d'ailleurs faire penser à une réaction pancréatique secondaire.

- **Autres syndromes douloureux abdominaux**

Des augmentations de l'amylasémie et de l'amylasurie peuvent se rencontrer dans d'autres syndromes douloureux abdominaux aigus : cholecystites, ulcères gastro-duodénaux perforés, appendice aigu, occlusion du grêle, grossesse extra utérine, traumatismes abdominaux, rupture de la rate, occlusions intestinales hautes, lithiase biliaire.



Une augmentation de l'amylasémie peut aussi traduire un défaut d'élimination rénale par diminution de la filtration glomérulaire.

L'amylase peut se combiner avec des glycoprotéines sanguines (immunoglobulines IgG ou IgA) pour former des « macro-amylases » qui dans ce cas ne seront plus filtrées par le glomérule, on observe alors une hyperamylasémie sans hyperamylasurie.

6. Lipase

6.1. Définition

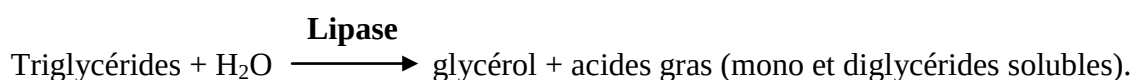
La lipase est une enzyme sécrétée par le pancréas qui joue un rôle fondamental dans la digestion des triglycérides à chaînes longues, dont elle hydrolyse les liaisons ester en position 1 et 3 pour libérer deux acides gras et un 2-monoglycéride qui sont absorbables. Cette réaction a lieu à l'interface de triglycérides émulsionnés dans la lumière intestinale, en présence d'un cofacteur d'origine protidique, la colipase et de sels biliaires.

6.2. Indication du dosage

L'intérêt de la détermination de l'activité de la lipase sérique se situe dans le contexte de l'investigation des pancréatopathies aux côtés des mesures de l'amylasémie et de l'amylasurie. Une augmentation de la concentration de lipase dans le sang (au moins un triplement des valeurs de base) est un bon argument diagnostique en faveur d'une pancréatite aiguë. L'augmentation de la lipase est en général plus précoce, plus intense et plus longue que celle de l'amylase.

6.3. Détermination de l'activité de la lipase

La détermination de l'activité lipasique se fait par turbidimétrie.



La lecture se fait à 400 nm.

6.4. Valeurs de référence

20 à 210 U/l à 37 °C (cinétique à 400 nm).

6.5. Variations pathologiques

Hyperlipasémie : On rencontre une hyperlipasémie dans les :

- Pancréatites aiguës :

L'élévation de la lipase lors de PA atteint des taux de 2 à 5N. Les concentrations s'élèvent 4 à 8 heures après l'épisode aigu, atteignent un pic à 24 heures et la normalisation s'observe 8 à 14 jours après le début clinique de la poussée.



Comparativement à l'amylase, l'augmentation de la lipase lors d'une pancréatite aiguë est en moyenne plus précoce, plus importante et plus prolongée. La cinétique de décroissance de la lipasémie est plus lente que celle de l'amylasémie.

La lipasémie est plus spécifique du pancréas que l'amylasémie et devrait en théorie être la seule enzyme à doser en cas de douleur abdominale suspecte d'être d'origine pancréatique.

La lipasémie n'est cependant pas totalement spécifique du pancréas et peut s'élever au cours d'autres syndromes douloureux abdominaux et au cours de l'insuffisance rénale.

On note une hypolipasémie :

- Dans les premiers mois de la grossesse ;
- Dans les maladies infectieuses (tuberculose) ;
- Dans l'évolution du diabète ;

Tableau 4 : Variations pathologiques de l'amylase et la lipase (AGA, 2007)

Lipase	Amylase
Pancréatite aiguë	Pancréatite aiguë
Pseudokyste pancréatique	Pseudokyste pancréatique
Pancréatite chronique	Pancréatite chronique
Carcinome pancréatique	Carcinome pancréatique
Maladie des voies biliaires (cholécystite, cholangite, lithiase cholédocienne)	Maladie des voies biliaires (cholécystite, cholangite, lithiase cholédocienne)
Occlusion intestinale	Occlusion intestinale
Ischémie intestinale	Ischémie intestinale
Perforation intestinale	Perforation intestinale
Appendicite aiguë	Appendicite aiguë
Grossesse extra-utérine	Insuffisance rénale
Insuffisance rénale	
Parotidite	
Macroamylasémie	
Kyste ovarien	
Cancer du poumon	
Acidocétose diabétique	
VIH	
Traumatisme crânien	
Hémorragie	

7. Gamma-glutamyl-transferase

7.1. Définition et rôle biologique

La gamma-glutamyl-transferase (γ -GT ou GGT) est une glycoprotéine membranaire avec un $T_{1/2}$ de 3 ± 4 jours retrouvée au niveau de nombreux tissus.

Elle catalyse le transfert du groupe γ -glutamyl d'un peptide à un autre ou à un acide aminé, elle présente également une activité hydrolasique et pour certains auteurs, une activité glutaminasique.

Du fait de sa localisation membranaire, la γ -GT joue un rôle important dans le métabolisme du glutathion et dans le transport membranaire des acides aminés et des peptides, elle participe aussi à la voie de détoxification du glutathion.

7.2. Répartition

La GGT est présente dans de nombreux organes, particulièrement dans ceux présentant une forte activité métabolique, des fonctions de sécrétion ou d'absorption ; ainsi, le rein et le pancréas sont les deux organes les plus riches en activité GGT.

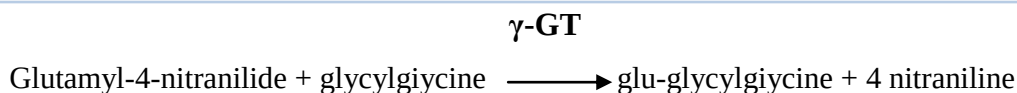
Comparé au rein, le foie a une activité GGT 10 à 20 fois plus faible ; celle-ci est principalement localisée dans les cellules des canaux biliaires et au niveau des deux pôles des hépatocytes. La GGT a été retrouvée dans le cerveau, la rate, le poumon, le tractus génital mâle et femelle, la thyroïde et l'intestin.

7.3. Intérêt du dosage

La GGT est classiquement considérée comme un marqueur valable de la consommation d'alcool, c'est un indicateur sensible des affections hépatobiliaires notamment dans le diagnostic d'un ictère par obstruction, d'une hépatite alcoolique chronique, pour la surveillance des patients souffrant d'alcoolisme chronique suivant un traitement ainsi que pour la détection d'une hépatotoxicité. Elle permet de différencier les augmentations de l'activité des PAL d'origine hépatobiliaire des PAL d'origine osseuse.

7.4. Détermination de l'activité enzymatique de (la γ -GT)

La détermination de l'activité enzymatique de (γ -GT) est faite par une méthode cinétique colorimétrique utilisant le L y-glutamyl-4 nitranilide.



La vitesse de formation de la 4 nitraniline, qui correspond à l'activité de γ -GT, est déterminée en mesurant l'augmentation d'absorbance à 405 nm.

7.5. Valeurs usuelles

5 à 80 U/l à 37 C° (cinétique UV à 405 nm).

7.6. Variations physiopathologiques

7.6.1. Variations physiologiques

L'activité de (γ -GT) augmente avec l'âge, le sexe, le poids, la grossesse, l'exercice musculaire, la catégorie socioprofessionnelle, l'alcool et les médicaments (certains hypolipémiants, les contraceptifs oraux, les antiépileptiques, les antidépresseurs) par induction de synthèse au niveau du microsome hépatique.

7.6.2. Variations pathologiques

L'augmentation de (γ -GT) est observée dans :

- **Les hépatites et les cirrhoses:** L'augmentation de la GGT est extrêmement fréquente au cours des hépatites aiguës ou chroniques ; elle est liée à la nécrose hépatocytaire et s'accompagne d'une élévation des aminotransférases,

Toutes les causes d'hépatites peuvent s'associer à une augmentation de la GGT: hépatites virales, alcooliques, médicamenteuses, stéatopathies non alcooliques, foie cardiaque hypoxique ou congestif... S'il existe une évolution vers une hépatopathie chronique, la GGT reste généralement élevée sans avoir de valeur pronostique.

Au cours des cirrhoses, l'augmentation de la GGT est présente dans 80 à 90 % des cas sans que sa normalité ne puisse éliminer le diagnostic.

- **Le cancer :** La GGT est très fréquemment augmentée au cours des carcinomes hépatocellulaires, avec ou sans autres perturbations du bilan hépatique. Plusieurs études récentes mettent en avant une des isoformes de la GGT (la GGT II) comme un marqueur sensible, en association à d'autres marqueurs comme l'alphafoetoprotéine, pour le diagnostic précoce des carcinomes hépatocellulaires.



• **Troubles métaboliques** : Une élévation de la GGT, s'observe chez des sujets présentant un ou plusieurs des facteurs de risque regroupés dans le syndrome métabolique ou syndrome d'insulinorésistance. Il s'agit de l'association d'une hypertension artérielle, d'une obésité centrale, d'une dyslipidémie, et d'une hyperglycémie à jeun, plus ou moins associées à une hyperuricémie.

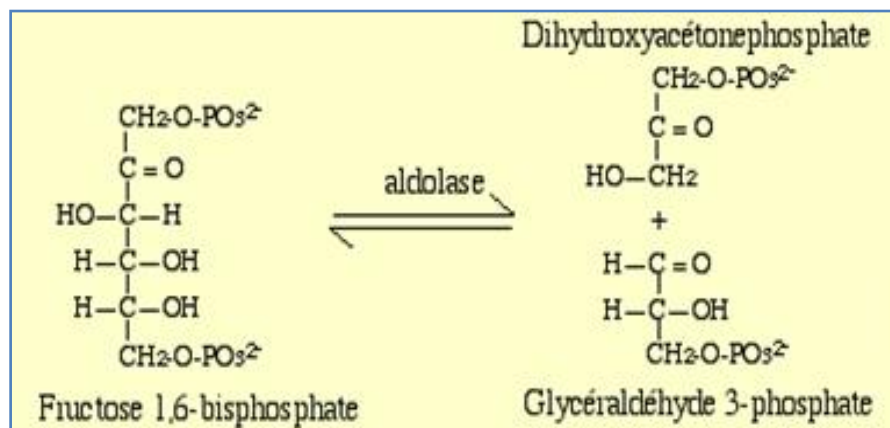
• **Autres variations pathologiques**

Il existe différentes causes bien plus rares d'élévation de la GGT : Les endocrinopathies (diabète, hyperthyroïdie, les thyroïdites subaiguë), la pathologie pancréatique, maladies auto-immunes, insuffisance rénale, syndrome néphrotique, tumeurs cérébrales, accidents vasculaires cérébraux et méningites, mélanomes en dehors de la présence de métastases hépatiques, traumatismes sévères.

8. Aldolase

8.1. Définition et rôle biologique

Enzyme du catabolisme glucidique, l'aldolase (EC-4-1-2-13) catalyse le clivage du fructose 1-6 diphosphate en deux trioses-phosphate : le glycéraldéhyde 3-phosphate et la dihydroxyacétonephosphate. Cette réaction sert de point de départ à la glycolyse anaérobie, voie métabolique importante, présente pratiquement dans tous les tissus.



8.2. Répartition

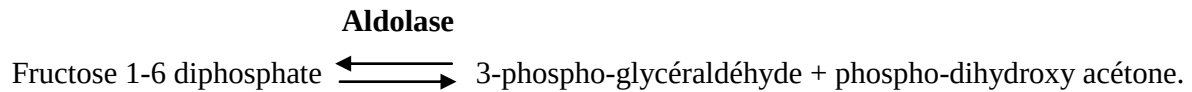
Trois isoenzymes ont été identifiées, ayant une spécificité de substrat et une répartition tissulaire différentes :

- L'aldolase A (musculaire) est surtout active sur le fructose-1,6 diphosphate, elle est prépondérante dans le coeur et les muscles striés.
- L'aldolase B (hépatique) a la même activité sur le fructose-1-phosphate et le fructose 1,6-diphosphate. Elle est prépondérante dans le foie, mais aussi à des taux moindres dans le rein et l'intestin grêle.
- L'aldolase C (cérébrale ou foetale) 7 fois plus active sur le fructose 1,6-diphosphate que sur le fructose 1-phosphate. On la trouve dans le cerveau et autres tissus nerveux, les globules rouges, les globules blancs, les muscles lisses et les tissus fœtaux.

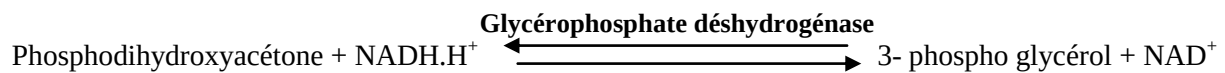
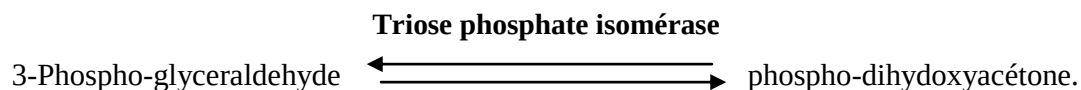
La détermination de l'aldolase sérique serait particulièrement utile pour établir le diagnostic des myopathies.

8.3. Détermination de l'activité enzymatique de l'aldolase

Le schéma du principe réactionnel est le suivant :



Si on bloque la voie glycolytique du 3-phospho-glycéraldéhyde, on peut mesurer l'activité de l'aldolase en utilisant la transformation de la dihydroxy acétone :



Et là encore, on mesure la décroissance d'absorption à 340 nm.

8.4. Valeurs usuelles

0,5 à 7,6 U/l à 37 °C (Cinétique UV à 340 nm).

8. 5. Variations physiopathologiques

8. 5.1. Variations physiologiques

Il existe une variabilité importante en fonction de :

L'âge : les valeurs à la naissance sont environ 2 fois supérieures à celles observées chez l'adulte ; Chez le jeune enfant, ces valeurs doublent encore pour décroître lentement à l'adolescence et atteindre des valeurs stables vers 18-20 ans.

• **L'exercice physique** : Chez le sujet alité ou inactif les taux observés sont 2 fois plus bas que ceux d'un adulte actif.

• **Les médicaments** : L'hypercorticisme, les traitements par les corticoïdes ou par un analogue de l'ACTH peuvent induire une augmentation de l'aldolase sérique (2 à 3 fois la normale).

8. 5.2. Variations pathologiques

• Les pathologies musculaires

L'aldolase est avec la CK une enzyme de la pathologie musculaire. Une élévation de l'aldolase est retrouvée régulièrement devant toute atteinte musculaire, qu'elle soit d'ordre inflammatoire ou structurel (myopathies dégénératives, myosites diverses). En revanche, elle n'est pas élevée dans les cas de désordres musculaires liés à un processus neurologique.

**• Les pathologies hépatiques**

Au cours des hépatites aiguës, le taux des aldolases sériques s'élève dès la première semaine, augmente jusqu'à la troisième semaine puis diminue par la suite. L'élévation porte davantage sur la fructose-1-phosphate aldolase, spécifique du foie, que sur la fructose-1,6-diphosphate aldolase. Une élévation modérée de ces activités peut s'observer lors des ictères par obstruction et des cirrhoses.

Tableau 5 récapitulatif de l'origine des enzymes (Boisleve, 2004)

Enzyme	Localisation
Amylase	Pancréas, glandes salivaires
Aldolase	Muscles, foie
ALAT Alanine Amino Transférase (TGP, SGPT)	Foie (cytolyse), rein, cœur, muscle, pancréas
ASAT Aspartate Amino Transférase (TGO SGOT)	Cœur, foie (cytolyse), muscles , rein, pancréas, rate, poumon, hématies
CK Créatine kinase (CPK)	Muscles (+++) iso Ez CK-MM Cœur (++) iso Ez CK-MB Cerveau (+) iso Ez CK-BB
GGT Gamma Glutamyl Transpeptidase	Présente dans tous les tissus...Ce n'est pas dans le foie qu'elle est le plus abondante mais la GGT mesurée dans le sang est considérée comme d'origine hépatique.
LDH Lactate Déshydrogénase	Cœur , rein, hématies isoEz 1 et 2 Muscle, foie (cytolyse) isoEz 4 et 5 Mais aussi dans le pancréas, la rate, le poumon, les cellules sanguines, les tissus néoplasiques
Lipase	pancréas
5'NUCLEOTIDASE	foie
PAC Phosphatase Acides	Os, prostate (isoEz prostatique), Cellules sanguines, foie, pancréas...
PAL Phosphatase Alcalines	Os, foie (cholestase), rein, intestin....

Les organes indiqués en gras sont le plus souvent à l'origine de l'augmentation de l'enzyme dans le sang. Quand il y a plusieurs organes concernés, cela signifie que l'augmentation de l'enzyme n'est pas spécifique. On établit alors un profil avec plusieurs enzymes qui permet une meilleure interprétation.

**Tableau 6 :** Enzymes augmentées selon les organes touchés (Boislevé, 2004)

PATHOLOGIE	ENZYMES MODIFIÉES
FOIE (cytolyse)	ALAT, ASAT, LDH
FOIE (cholestase)	GGT, PAL, 5' Nucléotidase
CŒUR (IDM)	CK, CK-MB , TGO, LDH
Os	PAL, PAC
PANCRÉAS (pancréatite aigüe)	Amylase, Lipase
MUSCLE (myolyse)	CK, PAC prostatique
PROSTATE (cancer)	PAC, PAC prostatique
HEMOPATHIES	LDH (parfois)

En gras les enzymes spécifiques de l'organe concerné

Chapitre 2

Métabolisme, régulation et variations pathologiques du calcium et du phosphore

1. Calcium.....	32
1.1. Besoins calciques et apports alimentaires.....	32
1.2. Absorption du calcium.....	32
1.3. Répartition dans l'organisme.....	32
1.4. Élimination.....	33
1.5. Rôle du calcium.....	33
1.6. Méthodes de dosage du calcium.....	34
2. Phosphore.....	34
2.1. Besoins en phosphates et apports alimentaires.....	34
2.2. Absorption.....	35
2.3. Répartition dans l'organisme.....	35
2.4. Élimination.....	35
2.5. Rôle du phosphore.....	36
2.6. Méthodes de dosage du phosphore.....	36
3. Régulation du métabolisme phosphocalcique.....	37
3.1. Sites de régulation.....	37
3.2. Hormones régulatrices.....	37
4. Exploration du métabolisme phosphocalcique.....	43
5. Variations pathologiques.....	44
5.1. Variations de la calcémie.....	44
5.2. Variations de la phosphatémie.....	45
5.3. Perturbations métaboliques de l'os.....	46

Chapitre 2: Métabolisme, régulation et variations pathologiques du calcium et du phosphore

L'ion de calcium Ca^{++} est le plus abondant dans l'organisme. En étroite liaison avec les phosphates, les deux (Phosphore et calcium) sont liés dans un même métabolisme dit phosphocalcique, qui intervient dans le processus de minéralisation des os.

1. Le calcium

1.1. Besoins calciques et apports alimentaires

Les besoins d'un adulte sont d'environ 10 mmol (400 mg) de calcium par jour. Les apports recommandés en calcium varient en fonction de l'âge ; Les enfants et les adolescents demandent 30 mmol/j (1,2 g) pour constituer leur squelette. Les besoins en calcium sont encore plus élevés chez les femmes enceintes, ou chez celles qui allaitent, et aussi chez les femmes ménopausées (100 mmol/j soit 4g).

L'apport calcique est d'origine alimentaire (500 à 800 mg/jour), Les sources les plus intéressantes sont les produits laitiers, tels que, lait, fromages et yaourts, ils apportent une quantité importante de calcium, qui est plus facilement absorbée au niveau digestif, et qui est associée à un apport de protéines bénéfique pour l'os.

1.2. Absorption du calcium

Dans l'alimentation, le calcium peut être combiné sous forme minérale (carbonate ...) ou organique (oxalate, citrate, malate ...). L'acidité gastrique solubilise certains composés, faisant apparaître des ions calcium (Ca^{++}) assimilables.

L'absorption du calcium a lieu surtout au niveau du duodénum et décroît au fur et à mesure qu'on s'éloigne de ce segment intestinal, celle-ci s'effectue par l'intermédiaire d'un mécanisme actif, hormone-dépendant, et d'un mécanisme passif ne dépendant que des concentrations relatives de calcium entre la lumière intestinale et celle du plasma. Ce mécanisme nécessite la synthèse de plusieurs protéines dont une protéine transporteuse (calcium-binding protein).

1.3. Répartition dans l'organisme

1.3.1. Répartition quantitative

Un sujet adulte de 70 Kg contient un peu plus de 1 Kg (25 moles) de calcium dont 99 % se trouvent dans les os et les dents. Il assure la minéralisation et la solidité de la trame osseuse protéique ; c'est le constituant chimique essentiel de l'os. Le 1 % restant se situe dans les liquides extra-cellulaires

1.3.2. Répartition du calcium dans le sang

Dans le sang, le calcium est essentiellement plasmatique ; les globules rouges en contenant très peu. Le calcium plasmatique se trouve sous deux formes :

- **Une partie non ultrafiltrable** : à peu près 40 %, liée aux protéines (en majorité à l'albumine et en plus faible quantité aux globulines) (Figure 1).
- **Une partie ultrafiltrable** : sous forme de calcium ionisé (environ 50 %) et sous forme de calcium complexé aux bicarbonates, phosphates, citrate et sulfates (environ 5-10 %).

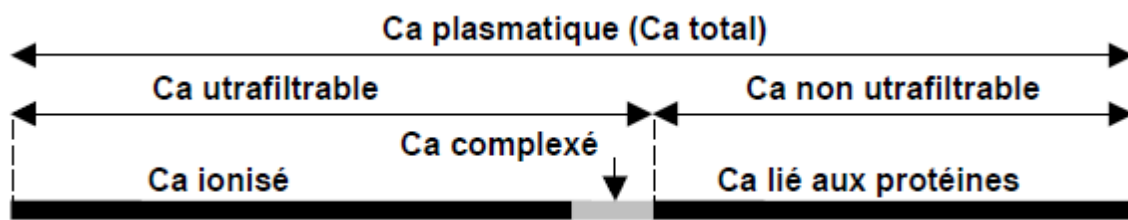


Figure 1 : Répartition du calcium plasmatique (Valdigué, 2000).

1.4. Élimination

Le calcium est excrété :

- En partie dans les urines (environ 1/10^e), soit 100 mg / jour (à condition que la calcémie soit supérieure à 75 mg / l) ;
- Et surtout par les fèces (9/10^e). Le calcium fécal correspond pour 1/3 au calcium alimentaire non-absorbé, et pour les 2/3 aux sécrétions digestives (calcium de l'organisme).

1.5. Rôle du calcium

L'ion Ca^{2+} participe aux phénomènes physiologiques suivants :

- La régulation de la perméabilité des biomembranes
- L'activation ou l'inhibition de nombreux enzymes
- L'action de plusieurs hormones
- L'excitabilité neuro-musculaire
- La coagulation sanguine
- Principale fonction : minéralisation du tissu osseux, surtout sous forme phosphate tricalcique isomorphe aux apatites.

1.6. Méthodes de dosage du calcium

1.6.1. Dosage de la calcémie

1.6.1.1. Méthodes colorimétriques

Elles utilisent différentes substances qui complexent le calcium en formant un dérivé dont la coloration est proportionnelle à la concentration de calcium de l'échantillon à doser, comme par exemple : l'Orthocrésolphtaléine donne un dérivé rouge présentant un maximum d'absorption à 575 nm ; l'Arsenazo III forme un complexe coloré en noir présent un maximum d'absorption à 680 nm ; le Bleu de méthyl thymol chélate le calcium et vire au bleu avec un maximum d'absorption à 612 nm.

1.6.1.2. Spectrophotométrie d'absorption atomique

La photométrie d'absorption atomique est souvent considérée comme méthode de référence, elle utilise une bande d'émission d'une lampe à calcium pour mesurer l'absorption de la raie située à 422,67 nm.

1.6.2. Détermination du calcium urinaire

Le calcium urinaire est pratiquement constitué uniquement de calcium ionisé en quantités souvent plus élevées que dans le plasma, mais à des taux très variables (de l'ordre de 5,0 mmol/l soit 200 mg/l ou plus). Toutes les techniques employées pour le plasma sont utilisables pour l'urine.

2. Phosphore

Le phosphate est la forme sous laquelle le phosphore peut être assimilé par les êtres vivants.

Il s'agit de des phosphates « minéraux » ou « inorganiques », anions phosphates bi et monométalliques.

2.1. Besoins en phosphates et apports alimentaires

Les apports en phosphore ont besoin d'être augmentés au cours de la croissance, de la grossesse et de lactation.

Les besoins quotidiens des enfants de 1 à 10 ans sont de l'ordre de 500-800 mg/jour, sont de 750 mg/jour pour les adultes, 800 mg/jour pour la femme enceinte et 850 mg/jour pendant l'allaitement.

Les apports de phosphore de sources naturelles sont toutefois à préférer. Le phosphore est présent en grande quantité dans les aliments riches en protéines comme le lait et les produits laitiers, ainsi que dans les viandes mais aussi dans les fruits oléagineux (noix, amande, noisette), les légumineuses (haricots et lentilles), les germes de soja.

2.2. Absorption

Environ 70 % du phosphate ingéré est absorbé dans l'intestin, principalement dans le duodénum et le jéjunum, dans ces segments, le transport de phosphate s'effectue selon un double mécanisme :

Un transport para-cellulaire, passif, non saturable, non régulé, directement dépendant du gradient de concentration de phosphate entre la lumière intestinale et le plasma, et un **transport trans-cellulaire**, saturable, régulé, reposant sur un système de co-transport sodium-phosphate exprimé dans la membrane apicale des entérocytes. Ce transport trans-cellulaire peut être modulé par :

- Le calcitriol qui augmente l'activité du co-transport intestinal
- Un régime pauvre en phosphate qui stimule directement le transport et indirectement via une augmentation de la synthèse de calcitriol
- Les apports élevés de calcium et magnésium, ainsi que les gels d'alumine, qui diminuent le transport intestinal de phosphate en entraînant la formation de complexes peu absorbables.

2.3. Répartition dans l'organisme

2.3.1. Répartition quantitative

- 85 % des phosphates sont liés au calcium au niveau de l'os sous forme de cristaux d'hydroxyapatite.
- 14 % se localisent au niveau des cellules des tissus mous.
- 1 % se retrouve dans les liquides extracellulaires dont le sang.

2.3.2. Répartition du phosphate dans le sang

Dans le sang le phosphate se trouve à la fois dans les globules rouges et dans le plasma.

Dans le plasma on distingue :

- Le phosphate organique, ATP, phospholipides
- Le phosphate inorganique dont 90% sont ultra-filtrable et 10% sont liés aux protéines, cette liaison aux protéines est peu significative au plan biologique, contrairement à celle du calcium.

2.4. Élimination

L'excrétion se fait par :

- **Les fèces**, pour le seul phosphore alimentaire non-absorbé et ceux contenus dans les sucs digestifs.

L'élimination des phosphates est surtout rénale.

•Élimination rénale

Le phosphore inorganique ultra-filtrable est filtré au niveau du rein mais 90 % sont réabsorbés dans le tubule proximal. Cette dernière ne dépasse pas un taux maximum de réabsorption au-delà duquel l'élimination urinaire est proportionnelle à la phosphorémie.

L'élimination urinaire est donc largement dépendante de l'alimentation, et comme pour le calcium, on peut dire que chez un adulte jeune normal, la quantité de phosphates excrétée dans les urines, de 10 à 25 mmol/24 h, correspond à l'absorption nette intestinale.

Cette réabsorption est influencée par les besoins cellulaires en phosphates, elle augmente quand les besoins cellulaires augmentent et réciproquement.

La réabsorption est soumise, de plus, à une régulation hormonale et humorale (La parathormone, les corticostéroïdes, la calcitonine, l'acidose métabolique, l'hormone de croissance).

2.5. Rôle du phosphore

En plus de son rôle dans l'ossification, le phosphore assure un grand nombre d'autres fonctions importantes :

- De nombreuses réactions du métabolisme dépendent du phosphore.
- Une multitude de processus du métabolisme énergétique sont contrôlés par les réactions de phosphorylation (faisant intervenir par exemple l'adénosine tri-phosphate, ATP).
- Le phosphore est par ailleurs un important modulateur de l'équilibre acido-basique, il participe sous forme de dihydrogène-/hydrogène-phosphate à un système tampon qui maintient le pH stable.
- Enfin, le phosphore est un constituant indispensable des membranes biologiques (phospholipides) et des acides nucléiques présents dans toutes les cellules.

2.6. Méthodes de dosage du phosphore**2.6.1. Dosage des phosphates inorganiques sanguins et urinaires**

Ces techniques utilisent presque toutes (à l'exception des méthodes enzymatiques) un réactif molybdique. En présence de ce réactif et en milieu acide l'ion phosphate donne un phosphomolybdate de coloration bleue instable.

2.6.2. Les méthodes enzymatiques : ne sont pas très employées dans la mesure où la colorimétrie directe du phosphomolybdate donne satisfaction à un coût faible.

3. Régulation du métabolisme phosphocalcique

L'importance physiologique du calcium plasmatique et plus précisément sa fraction ionisée fait que ce paramètre doit être maintenu dans des limites très étroites, et de fait c'est l'un des éléments les plus stables de notre plasma sanguin.

La concentration de phosphore plasmatique résulte de l'effet combiné de la filtration et de la réabsorption rénale (principal régulateur), de l'absorption intestinale et de la résorption et de l'accrétion osseuse.

La régulation fait intervenir trois sites : le tube digestif, l'os, et le rein au niveau desquels peuvent intervenir trois hormones : la parathormone (PTH), la calcitonine, et la vitamine D.

3.1. Sites de régulation

- **Tube digestif** : L'absorption du calcium et celle du phosphore sont influencées par la 1,25-dihydroxy vitamine D₃, celle-ci étant nécessaire au transfert actif de ces éléments à travers la cellule intestinale. La parathormone et la calcitonine n'ont pas d'action directe sur le tube digestif. L'absorption du calcium est régulée en fonction des apports, alors que celle des phosphates ne l'est pas.

- **L'os** : Le tissu osseux de part sa structure et ses fonctions joue un rôle métabolique puisqu'il permet l'homéostasie du taux de calcium et de phosphate sanguin. L'os se renouvelle en permanence (remodelage osseux) grâce au fonctionnement couplé de deux types de cellules osseuses : **les ostéoclastes et les ostéoblastes**.

Les ostéoclastes doivent d'abord détruire l'os ancien en creusant des lacunes (résorption osseuse) et les ostéoblastes vont ensuite fabriquer un os nouveau : en comblant de protéines, les lacunes (formation osseuse) ce tissu osseux jeune (tissu ostéoïde), va ensuite se calcifier (minéralisation osseuse).

- **Le rein** : Par sa capacité de filtration et de réabsorption du calcium et du phosphore va jouer un grand rôle dans l'homéostasie phosphocalcique.

3.2. Hormones régulatrices

L'homéostasie phosphocalcique est essentiellement contrôlée par trois hormones: la parathormone (PTH), la vitamine D₃ (cholécalférol) et la calcitonine.

3.2.1. La parathormone

- Structure

La PTH est sécrétée par les cellules principales des glandes parathyroïdes, elle est constituée d'une chaîne polypeptidique de 84 acides aminés AA, les 34 premiers portent l'activité biologique.



Elle est synthétisée sous forme d'une préprohormone de 115 AA de longueur puis hydrolysée en parathormone de 90 AA puis en parathormone stockée au niveau de l'appareil de golgi, qui sous l'influence de la baisse du taux du calcium libéreront leur contenu.

- Fonctions biologiques

L'action de la PTH s'exerce par ordre d'importance sur l'os, le rein et enfin l'intestin (Figure2).

• Action osseuse

La parathormone **accroît la résorption osseuse** en augmentant l'ostéolyse par stimulation de l'activité des ostéoclastes, cellules spécialisées dans la destruction du tissu osseux. Le calcium et le phosphate sont mobilisés simultanément à partir du phosphate tricalcique des os (Ca_3PO_4). Le calcium contribue à élever la calcémie. L'excédent de phosphore est éliminé par les urines.

• Action rénale

La parathormone augmente la réabsorption active du calcium au niveau du tube contourné proximal, et diminue ainsi l'excrétion du calcium urinaire.

Elle diminue la réabsorption tubulaire de phosphate, ce qui augmente son excrétion urinaire et abaisse sa concentration plasmatique, il en résulte une élévation de la calcémie et une augmentation du phosphore dans les urines.

• Action intestinale

La parathormone **augmente l'absorption intestinale du calcium** et du phosphore, il n'y a pas d'effet direct, il se fait par l'intermédiaire de la vitamine D car la parathormone augmente la conversion du 25 hydroxycalciférol en 1-25 dihydroxycholécalférol dans le rein. L'effet de la parathormone est donc retardé.

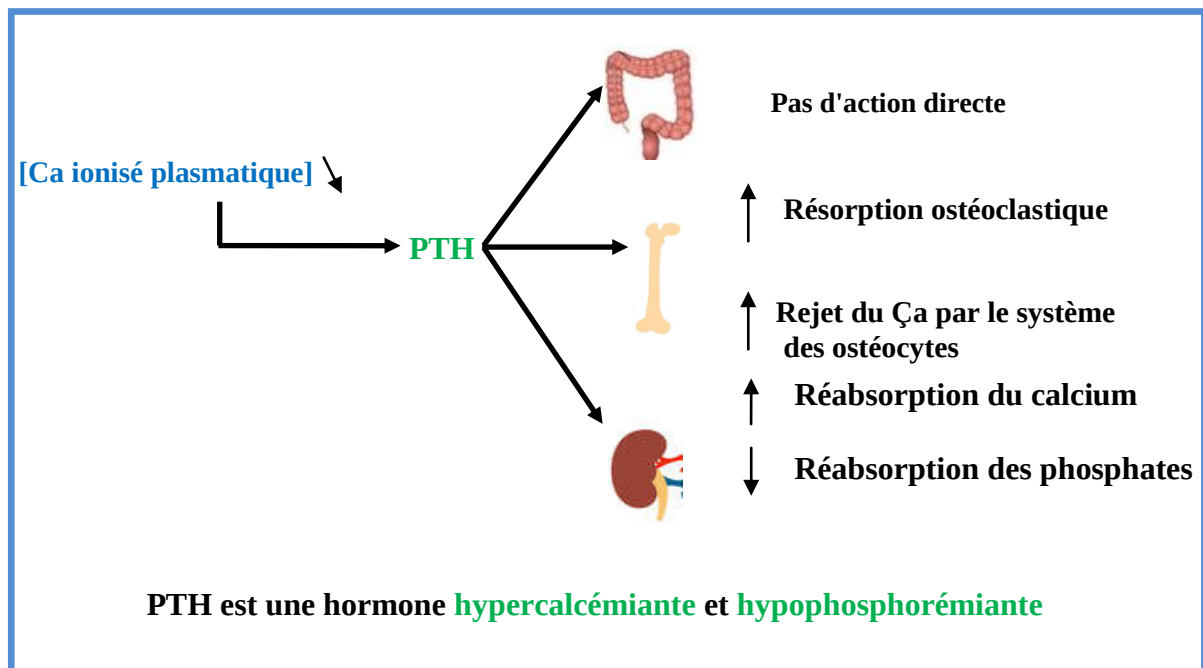


Figure 2: Fonctions biologiques de la parathormone (Bernard, 1982).

3.2.2. La calcitonine

- Structure

C'est une hormone hypocalcémiante sécrétée par les cellules para-folliculaires ou cellules C de la thyroïde sous forme d'une pro-hormone qui sera coupée pour donner un peptide circulant de 32 AA.

- Fonctions biologiques

• Action sur l'os

Son action s'exerce sur l'os, elle inhibe la résorption osseuse puisqu'elle inhibe l'ostéolyse et supprime la mobilisation du calcium osseux.

• Action sur le rein

Comme l'hormone parathyroïdienne, la calcitonine abaisse la phosphatémie en augmentant l'excrétion urinaire des phosphates (Figure 3)

• Action sur l'intestin

Elle réduit l'absorption intestinale du calcium. Cet effet serait déjà marqué 15 minutes seulement après une augmentation de la calcémie suite à une absorption intestinale accrue de calcium. C'est une hormone hypocalcémiante et hypophosphatémiante.

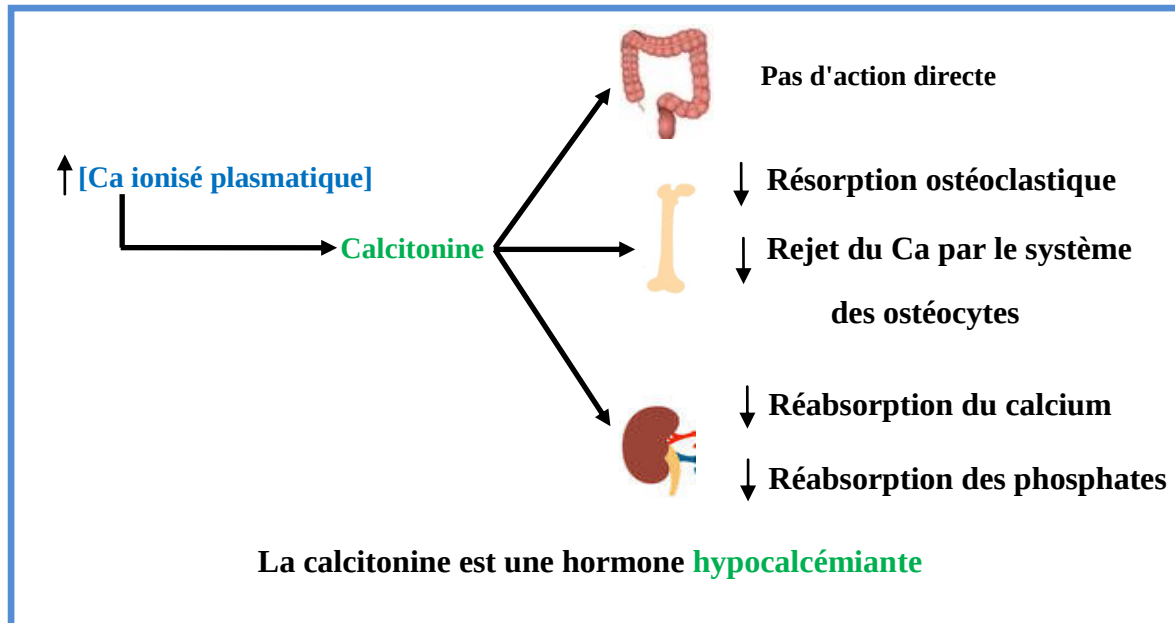


Figure 3: Fonctions biologiques de la calcitonine (Bernard, 1982).

3.2.3. Vitamine D

La vitamine D est une vitamine liposoluble qui est dérivé du cholestérol, dont l'apport se fait de façon exogène par l'alimentation, elle est produite au niveau de la peau sous l'effet des UV. Les vitamines les plus courantes sont :

- La vitamine D3 (cholécalférol), de provenance animale, c'est la vitamine naturelle constituant la seule source endogène par photosynthèse cutanée ;
- La vitamine D2 (ergocalciférol) qui provient de l'irradiation de l'ergostérol des levures et champignons ;

3.2.3.1. Métabolisme de la vitamine D

Le métabolisme de la vitamine D tant d'origine cutanée qu'alimentaire (vitamine D2, D3) passe par plusieurs étapes successives:

- Elle subit une première hydroxylation (substrat dépendante) dans le foie sous l'effet de la 25-hydroxylase permettant de convertir le cholécalférol en calcidiol (25 OH vitamine D). C'est la forme circulante de vitamine D qui constitue la forme de stockage.
- Elle est ensuite transportée vers le rein pour une deuxième hydroxylation par la 1-alpha hydroxylase qui la transforme en sa forme active (1.25 OH vitamine D3 ou calcitriol).
- Cette étape est stimulée par la PTH qui potentialise la 1-alpha hydroxylase et est inhibée par Le FGF 23 (le fibroblast growth factor 23) qui exerce à l'inverse une action inhibitrice sur la 1-alpha hydroxylase (Figure 4).

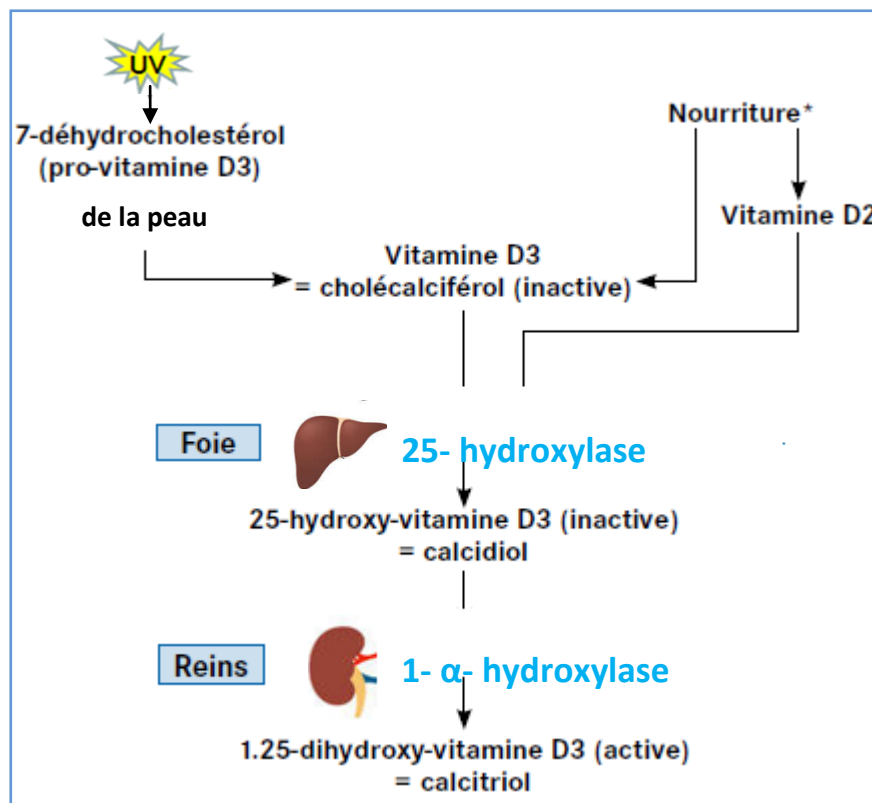


Figure 4: Métabolisme de la vitamine D (Burnier and Waeber, 2011)

*Vitamine D3 = cholécalférol: source animale.

Vitamine D2 = ergocalciférol: source végétale.

La 1- α hydroxylase est stimulée par: la PTH, la baisse de la calcémie, la baisse de la phosphorémie, et la diminution de 1,25(OH)₂-D3 (Figure 5).

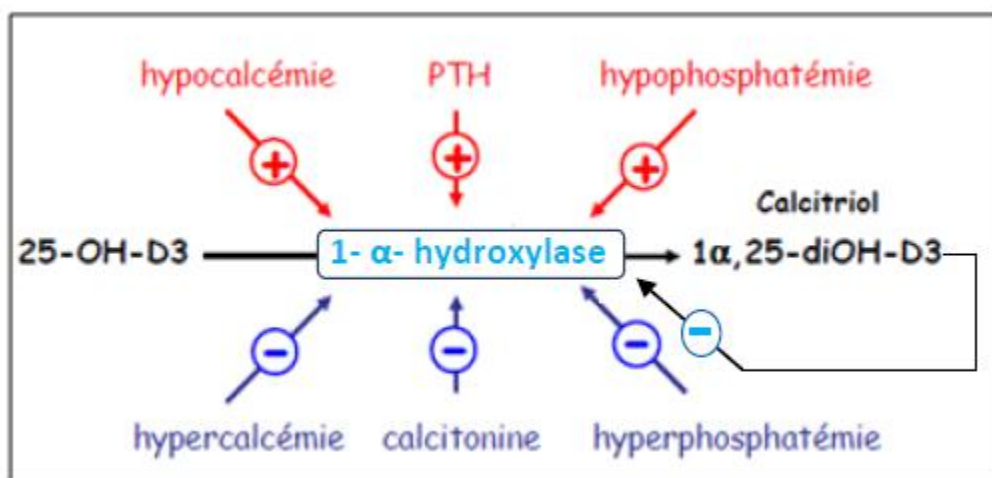


Figure 5: Régulation de la synthèse du calcitriol (Bernard, 1982).

3.2.3. 2. Action de la vitamine D sur le métabolisme osseux

La vitamine D est un des composants majeurs du métabolisme phosphocalcique et est impliquée dans la minéralisation osseuse comme dans le maintien d'une calcémie et d'une phosphatémie adéquates par son action au niveau de l'intestin, du rein et de l'os (Figure 6).

- **Au niveau intestinal**, la 1.25 OH vitamine D3 augmente l'absorption de calcium de 20% et l'absorption du phosphore de 60%. En l'absence de vitamine D, seuls 10 à 15% du calcium ingérés et environ 60% du phosphore sont absorbés.
- **Au niveau rénal**, la vitamine D entraîne une réabsorption tubulaire distale de calcium et tubulaire proximale du phosphore.
- **Au niveau de l'os**, la 1.25 OH vitamine D3 n'a pas d'effet direct sur la minéralisation, mais elle agit par le maintien d'une calcémie et d'une phosphatémie efficaces.

La vitamine D exerce également une action inhibitrice sur la PTH

A l'inverse, la PTH augmente la production de vitamine D active en stimulant la 1-alpha-hydroxylase.

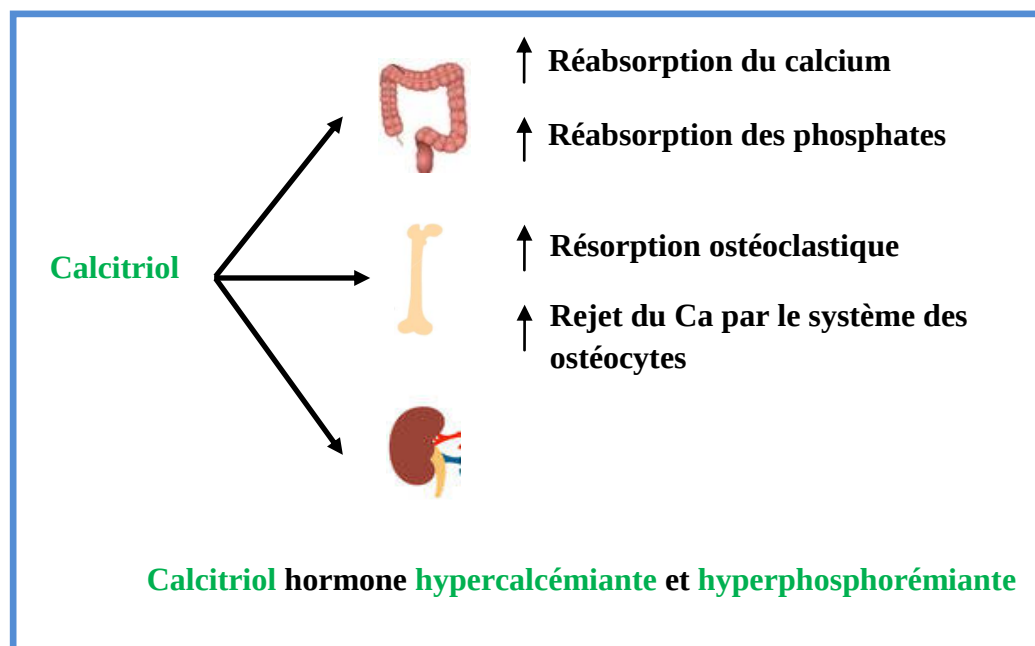


Figure 6: Fonctions biologiques du calcitriol (Bernard, 1982).



3.2.4. Autres actions hormonales

- Les œstrogènes, qui diminuent la réactivité de l'os à la PTH ;
- Le glucagon, qui diminue la calcémie ;
- T3 et T4, qui stimulent les ostéoclastes ;
- Les glucocorticoïdes, qui ont une action anti-vitamine D ;
- La GH, qui accroît l'absorption intestinale du Ca^{2+} .

4. Exploration du métabolisme phosphocalcique

L'exploration du bilan du métabolisme phosphocalcique repose sur les examens biologiques suivants (Tableau 8):

a) L'exploration spécifique de l'équilibre phosphocalcique: elle évalue les mouvements de phosphore et de calcium dans l'organisme en dosant les taux plasmatiques et urinaires de ces différents ions. Elle comprend :

- Dosage de la calcémie, calciurie des 24 heures et du calcium ionisé.
- Phosphorémie (ou phosphatémie) et phosphaturie des 24 heures.

b) Pour interpréter correctement les résultats de ce bilan, il est toujours nécessaire de contrôler la fonction du rein, notamment :

- la créatinémie et la clairance
- Dans certains cas, le taux d'albumine dans le sang ou albuminurie.

c) Les principaux déterminants de l'équilibre phosphocalcique sont ensuite appréciés, afin de rechercher le mécanisme du déséquilibre éventuel du bilan phosphocalcique.

- Dosage de la parathormone (PTH), la calcitonine (thyrocalcitonine) et calcitriol.
- Dosage de la vitamine D3 (25-hydroxy-calciférol)
- Dosage de l'AMPc urinaire

d) Les marqueurs du remodelage osseux

- Dosage de la PAL (activité des ostéoblastes)
- Dosage de l'hydroxyproline (Dosé dans les urines).
- Dosage de l'ostéocalcine (dans la matrice osseuse).

Tableau 7: Exploration statique du bilan phosphocalcique (Valdigué, 2000)

Sang		Urine	
Examen	Valeur de référence	Examen	Valeur de référence
Calcémie	2.15-2.55mmol/l	Calciurie des 24 h	2.5-10 mmol/24h
Calcium ionisé	1.17-1.33 æmol/l		
Phosphatémie	0.8-1.3mmol/l	Phosphaturie des 24	10- 30 mmol/24h
Marqueurs du remodelage osseux			
Phosphatases alcalines*		Hydroxyprolinurie	75-300 µmol/24h
Propeptides C terminal-terminal du procollagène*		Pyridinoline*	
Ostéocalcine	2-10 µg/l	Télopeptides C et N terminaux*	
Facteurs de régulation du métabolisme phosphocalcique			
Parathormne	10-55 ng/l	AMPc néphrogénique	1.5-2.5 µmol/24h
Calcitonine	8-35 ng/l		
Métabolites e la vitamine D ₃			
25-OH D ₃	7- 35 µg/l		
Calcitriol	20-96 ng/l		
AMPc	14-23nmol/l		

*Les valeurs de référence dépendent de la méthode employée.

5. Variations pathologiques

5.1. Variations de la calcémie

5.1.1. Une hypercalcémie (supérieure à 105 mg/L) est rencontrée chez des patients présentant des métastases osseuses (plus fréquentes que les tumeurs primitives, les métastases constituent un cancer secondaire des os, qui détruit l'os et libère son calcium), un myélome (tumeur de la moelle osseuse), une hyperthyroïdie, une intoxication à la vitamine D (hypervitaminose) ou encore en cas d'immobilisation prolongée. L'hypercalcémie entraîne des arythmies cardiaques ainsi qu'une dépression de l'activité neuromusculaire.

5.1.2. Une hypocalcémie (inférieure à 80 mg/L) est rencontrée lors d'une avitaminose D, d'une insuffisance rénale chronique (qui s'oppose à l'activation de la vitamine D), d'une pancréatite aiguë, d'une malabsorption digestive ou encore d'un cancer de la thyroïde. Les individus atteints d'hypocalcémie souffrent de tétanie hypocalcémique, état caractérisé par des spasmes des muscles squelettiques. Le rachitisme est une affection dans laquelle la minéralisation de l'os est déficiente dont la cause est une carence en vitamine D.

5.2. Variations de la phosphatémies

5.2.1. Les hyperphosphatémies

L'hypoparathyroïdisme s'accompagne d'hyperphosphatémie et d'hypophosphaturie.

L'hyperphosphatémie liée à un pseudo-hypoparathyroïdisme résulte d'une insensibilité tubulaire à la parathormone.

L'insuffisance rénale, suite à la réduction de la filtration glomérulaire, peut entraîner de l'hyperphosphatémie.

D'autres situations telles que l'intoxication par la vitamine D, les processus ostéolytiques étendus, l'acromégalie peuvent provoquer une élévation de la phosphatémie (Tableau 9).

Tableau 8 : Pathologies du métabolisme phosphocalcique (Bernard, 1982)

Variation du Ca et/ou P	[Ca] et/ou [P]	Pathologies
Hypercalcémie	Ca > 2,6 mmol	Hyperparathyroïdie I Ostéolyse Excès de vitamine D
Hypocalcémie	Ca < 2,1 mmol	Tétanie
Hyperphosphorémie	P > 1,44 mmol	Atteinte rénale Dysfonctionnement de la parathyroïde Pathologie osseuse
Hypophosphorémie	P < 0,80 mmol	Situations critiques pas de pathologie intrinsèque
Ostéopathie		Ostéoporose Ostéomalacie Paget



5.3. Perturbations métaboliques de l'os

Ce sont essentiellement les syndromes d'hyper et d'hypo-ostéoïdose.

5.3.1. Ostéomalacie ou hyperostéoïdose

C'est une maladie osseuse dans laquelle il y a un défaut de minéralisation du tissu ostéoïde.

Ce défaut de minéralisation est la conséquence, dans la majorité des cas, d'une carence en vitamine D: c'est l'équivalent chez l'adulte du rachitisme chez l'enfant. Elle est vitamino sensible et curable par l'apport de vitamine D.

Du point de vue biologique on trouve régulièrement les signes suivants :

- Hypocalcémie et ou hypophosphorémie ;
- Hypocalciurie et ou hypophosphaturie ;
- Augmentation des phosphatases alcalines et de l'ostéocalcine.

5.3.2. Ostéoporose ou hypo-ostéoidose

Elle correspond à une involution progressive de l'os aussi bien dans sa partie protéique que dans sa partie minérale. Elle est caractérisée par un volume total osseux diminué, mais constitué par un os qualitativement normal. un certain nombre d'ostéoporoses sont secondaires et reconnaissent une cause :

- Corticothérapie au long cours ;
- Hypercorticisme spontané ;
- Hyperthyroïdie ;
- Immobilisation prolongée.

Chapitre 3

Métabolisme des glucides, régulation et variations pathologiques

1. Origine du glucose sanguin	47
1.1. Origine exogène	47
1.2. Origine endogène	48
2. Régulation	49
2.2. Régulation endocrine	49
3. Exploration de la glycorégulation	52
3.1. Epreuves sans stimulation	52
3.2. Epreuves avec stimulation	55
4. Épreuves d'hypoglycémie	56
5. Dosages et épreuves complémentaires	56
5.1. Insulinémie	56
5.2. Le C-Peptide	57
6. Teste de surveillance et de conséquences du diabète sucré	58
6.1. HbA _{1c}	58
6.2. Fructosamines	58
6.3. Microalbuminurie	59
7. Autres Examen	59
7.1. Corps cétoniques	59
7.2. Lactate et pyruvate	60
8. Variations pathologiques	60
8.1. Hypoglycémies	60
8.2. Hyperglycémie	60

Chapitre 3: Métabolisme des glucides, régulation et variations pathologiques

Les cellules du corps humain utilisent plusieurs substrats énergétiques pour subvenir à leurs besoins. Le plus important de ces substrats, cependant, est le glucose. Le glucose représente le seul substrat utilisé par les cellules du système nerveux en condition physiologique et est également une source vitale d'énergie pour plusieurs organes et tissus et c'est pour cette raison que sa concentration plasmatique est contrôlée de façon très serrée.

L'homéostasie du glucose est assurée en grande partie par le foie qui relâche ou capte le glucose afin de maintenir la glycémie relativement stable en tout temps. La glycémie normale se situe aux environs de 5 mmol/L (0,8 g/L) (sauf en postprandial immédiat). Toute modification de glycémie découle d'un déséquilibre entre l'entrée de glucose dans la circulation systémique et son utilisation tissulaire. L'utilisation du glucose dans les tissus varie selon les conditions physiologiques (jeûne court ou long, exercice musculaire) et selon l'apport nutritionnel.

Des facteurs hormonaux hypo- ou hyperglycémiantes régulent les variations de la glycémie afin de maintenir sa concentration au plus près de sa valeur physiologique.

Parmi ces hormones, nous distinguons :

- Celles qui sont sécrétées au cours des phases d'hypoglycémie : le glucagon, le cortisol, l'hormone de croissance et les amines biogènes comme l'adrénaline et la noradrénaline.
- Celle qui est sécrétée dans les phases d'hyperglycémie : l'insuline.

1. Origine du glucose sanguin : Deux origines, exogène et endogène.

1.1. Origine exogène: par l'ingestion d'aliments ou de boissons sucrés riches en sucres rapides ou de la digestion des glucides lents, tels l'amidon ou le glycogène.

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.

En effet seuls le glucose, le galactose, le fructose, le sorbitol peuvent franchir la barrière intestinale et passer dans la circulation sanguine.

La digestion salivaire permet, sous l'action de l'amylase, d'hydrolyser les longues chaînes d'amidon en oligosides et diosides. Elle se poursuit sous l'action de l'amylase pancréatique

La digestion intestinale est l'étape définitive, elle a lieu tout au long du grêle et permet d'obtenir des oses à partir des oligosides et des diosides.

Une fois hydrolysés en sucres simples, les glucides sont absorbés, grâce à un phénomène actif, par la muqueuse intestinale et déversés dans la circulation porte. L'absorption des sucres nécessite l'intégrité de la muqueuse intestinale.

Les oses -molécules hydrosolubles- se solubilisent aussi bien dans le sang après leur sortie des cellules intestinales et parviennent aux cellules cibles par voie sanguine.

Avant d'être utilisé, le glucose sanguin doit être capté afin de pénétrer dans la cellule où se déroulent les réactions du métabolisme glucidique. Ceci est rendu possible par deux familles de protéines qui sont les SGLTs (*Sodium glucose co-transporters*) dans l'intestin et le rein qui assurent un transport actif, et les GLUTs (*Glucose transporters*), présents dans l'ensemble des tissus et qui, eux, assurent une diffusion facilitée (Tableau 9).

Tableau 9 : Caractéristiques des transporteurs de glucose (GLUT) chez l'homme (Brooks *et al.*, 1996).

Transporteurs	Tissus
GLUT-1	Erythrocytes, Cerveau, reins, microvaisseaux et muscles
SGLUT-1	Transporteurs sodium- glucose du petit intestin
GLUT-2	Foie, Cellules β du pancréas, reins et petit intestin
GLUT-3	Cerveau, placenta et reins

1.2. Origine endogène

1.2.1. A partir des glucides (La glycogénolyse)

Le glycogène représente la forme de réserve glucidique de toute cellule animale. Chez l'homme, le foie est l'organe dont la teneur en glycogène peut être la plus élevée (10 à 12 % du poids frais) mais les muscles (1 à 3 % du poids frais) renferment grâce à leur masse, la moitié du glycogène total de l'organisme.

La glycogénolyse est la production de glucose à partir du glycogène. En premier lieu, la glycogène phosphorylase va scinder les liaisons α (1-4) des molécules de glycogène, libérant ainsi du glucose-1-phosphate. Cette molécule va alors être convertie en glucose-6-phosphate par la phosphoglucomutase. Après déphosphorylation par la glucose-6-phosphatase, le glucose-6-phosphate est transformé en glucose qui sera libéré dans la circulation sanguine.

1.2.2. A partir des lipides et des protides (Néoglucogenèse)

La notion de **néoglucogenèse** a été introduite par Claude Bernard, découvrant que le foie était capable de produire du sucre. La néoglucogenèse se définit comme la production de glucose à partir de précurseurs non glucidiques et se met en place lorsque les réserves de glycogène ne sont plus suffisantes. Ces précurseurs peuvent être le lactate, le pyruvate, le glycérol et les acides aminés, dont principalement la glutamine et l'alanine.

Le foie assure à lui seul 90 % de la néoglucogenèse dans l'organisme (le rein intervenant pour 10 %). La néoglucogenèse peut fournir jusqu'à 300 g de glucose par jour.

2. Régulation(s)

Le maintien de l'homéostasie glucidique et l'équilibre entre les différentes voies métaboliques sont rendus possibles par l'existence de fines régulations impliquant plusieurs variétés de signaux comme des métabolites circulants, des hormones et des signaux nerveux.

2.1. Régulation nerveuse

Le système nerveux central, et plus particulièrement l'hypothalamus, est également une structure très impliquée dans le contrôle de l'homéostasie glucidique. En effet, l'hypothalamus reçoit en permanence des signaux métaboliques, endocriniens et nerveux en provenance de la périphérie qui l'informent sur l'état métabolique général de l'organisme. Après intégration de ces signaux, cette structure va alors pouvoir envoyer une réponse nerveuse adaptée par l'intermédiaire du système nerveux autonome et modulera ainsi l'activité des tissus cibles.

L'élaboration de cette réponse est le fruit de la modification de l'activité des neurones de l'hypothalamus, regroupés en noyaux et exprimant des peptides particuliers capables de modifier l'homéostasie énergétique.

2.2. Régulation endocrine

Le métabolisme du glucose est régulé principalement par l'équilibre entre l'action de l'insuline d'une part et celle des hormones catabolique (ou de stress) d'autre part : glucagon, adrénaline, cortisol et hormone de croissance.

Les hormones impliquées dans la régulation de la glycémie les plus célèbres sont l'insuline et le glucagon. Ces deux hormones peptidiques sont produites par le pancréas, plus précisément par les cellules α et β des îlots de Langerhans.

2.2.1. L'insuline et le glucagon ont des effets totalement opposés. La première va permettre le stockage sous forme de glycogène et de triglycérides et l'utilisation du glucose. Ces effets passent par l'activation des voies de la glycogénogénèse, de la lipogénèse et de la glycolyse et par l'inhibition des voies de production de glucose que sont la glycogénolyse et la néoglucogénèse. En revanche, le glucagon favorisera l'activation des voies de production d'énergie au détriment des voies d'utilisation et de stockage. Il stimule la production de glucose par le foie en augmentant la glycogénolyse et la néoglucogénèse et en diminuant la synthèse de glycogène et la glycolyse, ceci par action régulatrice sur les enzymes clés de ces différentes voies métaboliques. C'est donc le rapport insuline/ glucagon qui contrôle la régulation du métabolisme hépatique du glucose. La sécrétion de glucagon est inhibée par l'ingestion de glucose et d'acides gras.

Le métabolisme du glucose est régulé principalement par l'équilibre entre l'action de l'insuline d'une part et celle des hormones cataboliques (ou de stress) d'autre part : glucagon, adrénaline, cortisol et l'hormone de croissance.

2.2.2. L'adrénaline: L'hypoglycémie consécutive à un effort ou à un stress provoque la sécrétion rapide d'adrénaline par les glandes médullosurrénales. Cette hormone stimule la glycogénolyse dans les cellules hépatiques et musculaires, et la lipolyse dans les cellules hépatiques et adipeuses. Elle agit surtout au niveau du muscle pour activer la voie anaérobie (créatine- phosphate), puis la glycogénolyse musculaire.

L'adrénaline agit aussi sur le tissu adipeux pour activer l'hydrolyse des graisses de réserve, c'est-à-dire la lipolyse périphérique en acides gras circulants, qui seront captés par les cellules musculaires, notamment les cardiomyocytes pour alimenter le métabolisme énergétique et épargner le glucose.

2.2.3. Cortisol

Le cortisol est sécrété en cas de jeûne prolongé, sous le contrôle de l'ACTH (adénocorticotrope hormone) libérée par l'hypophyse antérieure. Le cortisol stimule les enzymes permettant le catabolisme des protéines des muscles, les protéases intracellulaires, la transamination des acides aminés et les enzymes propres de la néoglucogénèse dans le foie. Il favorise aussi la mise en réserve du glucose sous forme de glycogène hépatique et diminue l'utilisation intracellulaire du glucose. Le cortisol a une action globalement hyperglycémiante.

2.2.4. Hormone de croissance

L'hormone de croissance (*growth hormone*, GH) est une hormone sécrétée par l'hypophyse antérieure. Outre son effet sur la croissance et la multiplication cellulaires, elle diminue l'entrée du glucose et son utilisation dans les cellules ; la GH augmente le stockage du glucose sous forme de glycogène. Elle diminue la sensibilité des récepteurs à l'insuline et peut favoriser par ce biais l'apparition d'un diabète.

2.2.5. Hormones thyroïdiennes T3 et T4

Les hormones thyroïdiennes T3 et T4, sécrétées par la glande thyroïdienne, sont également pourvues de propriétés hyperglycémiantes. Elles stimulent toutes les voies du métabolisme des glucides, à commencer par l'absorption intestinale, l'entrée du glucose dans les cellules, la néoglucogenèse, la glycogénolyse (Figure 7)

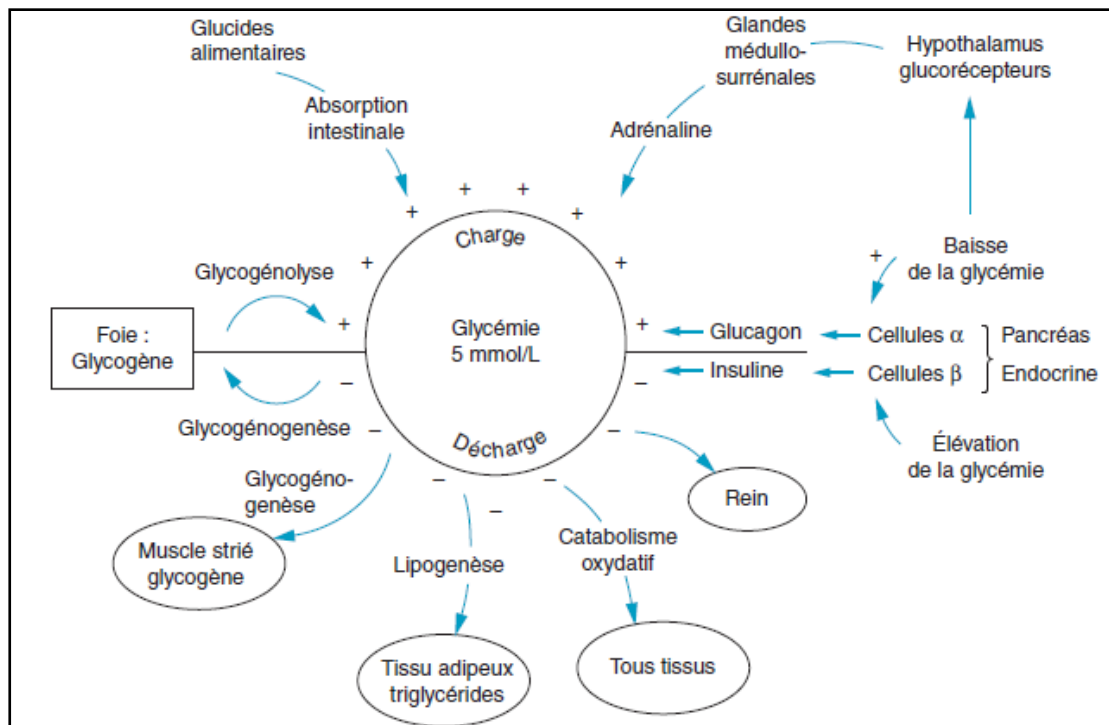


Figure 7: Schéma de synthèse de la régulation de la glycémie.

3. Exploration de la glycorégulation

3.1. Epreuves sans stimulation

La glycémie et la glycosurie sont les éléments fondamentaux du diagnostic, du pronostic et de la surveillance du traitement lors de l'étude évolutive du diabète, très fréquent quelle qu'en soit la forme clinique.

3.1.1. La glycémie

C'est le taux de glucose dans le sang, dosé à distance de tout repas ou prise de sucre.

C'est un dosage simple, courant, mais qui n'est fiable que s'il est effectué rapidement après le prélèvement ou prélevé sur un tube adéquat (inhibant la glycolyse *in vitro* qui se produit sur les tubes usuels et diminue rapidement le taux).

Il est abaissé en cas **d'hypoglycémie** et augmenté en cas **de diabète sucré** lorsque celui-ci est à un stade avancé. L'examen est couramment pratiqué en dépistage et lors de la surveillance des diabétiques traités.

Une glycémie perturbée dans un examen de dépistage doit toujours être confirmée par un second examen. On vérifie aussi que le sujet s'il est bien à jeun lors du prélèvement.

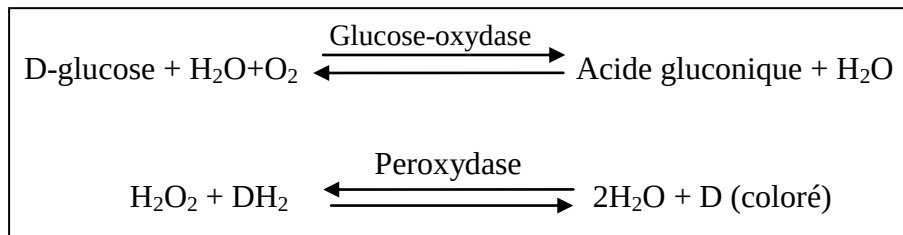
• Prélèvement et conservation du matériel biologique

La glycémie peut être effectuée indifféremment sur sérum (tube sec) ou sur plasma (anticoagulant), l'hémolyse ne gêne pas le dosage. Dans la plupart des cas, le glucose est déterminé sur du plasma sanguin à condition de séparer les érythrocytes et les leucocytes du plasma dans l'heure qui suit le prélèvement et d'effectuer l'analyse dans les heures suivantes, la concentration plasmatique reste stable. Sinon, il est nécessaire d'ajouter un agent anti-glycolytique tel que le fluorure de sodium ou le moniodacétate de sodium.

• Méthodes de dosage

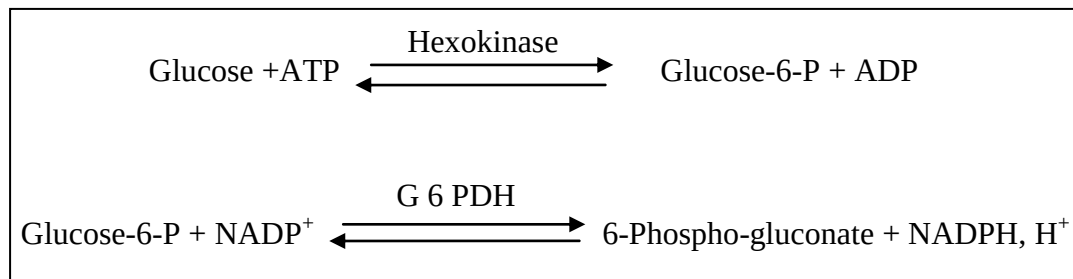
A l'heure actuelle, seules les méthodes enzymatiques sont utilisées (soit dans le sang, les urines ou dans le liquide céphalo-rachidien); Parmi les méthodes enzymatiques –spécifiques au glucose- on trouve les méthodes utilisant la glucose oxydase, l'héxokinase et la glucose déshydrogénase.

La glucose oxydase catalyse la transformation du glucose en acide gluconique et H_2O_2 . Le peroxyde d'hydrogène, sous l'action de la peroxydase, réduit un chromogène, pour donner une coloration dont l'intensité mesurée sur spectrophotomètre est proportionnelle à la concentration en glucose.



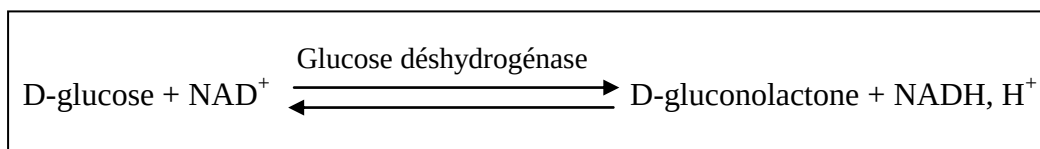
DH₂ : Chromogène réduit et incolore (Ex : 4 aminophénazone dans la méthode de Trinder)

Dans la méthode à l'**hexokinase**, considérée comme la méthode de référence, l'étape initiale est la formation de glucose-6-phosphate sous l'action de l'hexokinase en présence d'ATP et de Mg²⁺, ce qui en fait une méthode spécifique du glucose.



La mesure de l'absorbance à 340 nm, après que les réactions aient atteint leur équilibre, rend compte de la quantité de glucose présent dans l'échantillon.

La glucose déshydrogénase catalyse l'oxydation du glucose en gluconolactone en présence de NAD⁺. La formation de NADH, H⁺, proportionnelle à la quantité de glucose, est évaluée à 340 nm. La spécificité de la réaction est bonne; sa sensibilité permet d'opérer sur 50 µl de plasma.



3.1.2. La glycémie veineuse à jeun du sujet normoglycémique se situe entre 4 et 6 mmol/L; elle doit correspondre à un prélèvement effectué après au moins huit heures de jeûne et entre 7h et 8h le matin. Après cinq heures de jeûne, le glucose veineux est inférieur de 5 à 10% au glucose du sang artériel.

3.1.3. La glycémie postprandiale (GPP)

C'est le taux de glucose dans le sang deux heures après un repas.

À l'état physiologique, la glycémie augmente après une charge glucidique et redevient normale au bout de deux heures, du fait de la sécrétion d'insuline qui permet l'assimilation de ce glucose. Chez un sujet diabétique, ou pré-diabétique, ce retour ne se fait pas et la GPP est donc élevée.

Dans certains cas, elle descend en dessous de la norme : c'est hypoglycémie postprandiale par réaction insulinaire exagérée.

3.1.4. Recherche du glucose dans l'urine

La recherche de glycosurie se fera facilement à partir d'un prélèvement d'urine. Cependant il convient de prendre des précautions quant à l'interprétation d'un résultat positif. En effet, la glycosurie peut être due à une hyperglycémie mais il est possible d'observer une glycosurie sans hyperglycémie lors de maladie tubulaire rénale ou lors d'intoxications par l'éthylène glycol ou aux métaux lourds (Hg, Au, Ag, Pb) (qui provoque une nécrose tubulaire aiguë). En effet, au niveau rénal, la filtration glomérulaire du glucose est suivie d'une réabsorption tubulaire. La glycosurie apparaîtra donc quand la filtration glomérulaire deviendra supérieure à la réabsorption tubulaire, ce qui peut être le cas lors de lésions tubulaires (par diminution de la capacité de réabsorption) ou lors d'hyperglycémies (par augmentation de la filtration glomérulaire et dépassement du seuil de réabsorption du glucose). Ces affections seront cependant facilement écartées grâce à la mesure de la glycémie.

Une recherche et une détermination semi-quantitative sur des urines fraîches ou sur des urines de 24 heures sans addition de conservateur, peuvent être faites à l'aide d'une bandelette réactive qui utilise la réaction glucose-oxydase/peroxydase et le tétraméthyle benzidine comme indicateur.

La coloration passe de jaune au vert en présence de glucose et la glycosurie peut alors être exprimée en mmol/L (ou g/L) (+ à +++).

Une détermination quantitative du glucose urinaire peut être faite par les mêmes méthodes que celles décrites pour la détermination de la glycémie.

Physiologiquement, il n'y a pas de glucose dans les urines puisque la capacité maximale de réabsorption tubulaire est de 9,9 mmol/L. Le diagnostic de diabète ne peut se faire sur la positivité de la glycosurie car il peut exister une diminution du seuil rénal de manière permanente ou provisoire.

- **Valeurs usuelles**

Les valeurs physiologiques du glucose plasmatique sont comprises entre 3,9 et 5,8 mmol/l (soit 0,7 à 1,05 g/l) de 10 à 60 ans. La glycémie chez les jeunes enfants est plus basse : moins 20% de 1 mois à 4 ans, moins 5 à moins 10% de 4 à 10 ans.

L'élimination urinaire quotidienne est inférieure à 0,40 mmol par 24 heures chez un sujet sain.

Les émotions, le froid provoquent une légère hyperglycémie d'origine adrénalinique.

La prise d'alcool avant le prélèvement peut entraîner une augmentation de la glycémie de 20 à 50 %, la prise de cigarette de 10 %.

3.2. Épreuves avec stimulation

3.2. 1. Épreuves d'hyperglycémie provoquée

Le principe de cette épreuve a été déduit de la constatation de l'hyperglycémie alimentaire. En effet, après chaque repas, de petites flèches hyperglycémiques surviennent, qui, à l'état normal, ne dépassent jamais 8,30 mmol/l (1,50 g/l).

3.2. 1.1. Hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)

Cette épreuve permet d'apprécier la tolérance glucidique en suivant les variations de la glycémie après une charge en glucose administrée per os.

- **Technique**

L'épreuve commence le matin. Un tube pour mesurer la glycémie est prélevé à jeun puis 75g de glucose dissous dans 300 ml d'eau maximum doivent être ingérés par le patient en cinq minutes maximum. Chez l'enfant, il convient d'administrer 1,75g/Kg de poids sans dépasser 75g. Le sujet doit rester allongé, au calme, sans fumer.

Selon les recommandations de l'OMS, il faut effectuer un prélèvement à 120 minutes. Il est également possible de réaliser des prélèvements intermédiaires (30, 60, 90 minutes) et de continuer l'épreuve au-delà de deux heures pour un diagnostic autre que celui du diabète.

- **L'interprétation** est souvent difficile: courbe anormalement élevée dans l'obésité, les hépatites, les pancréatites sans qu'il s'agisse véritablement de diabète ; courbe plate dans les troubles de l'absorption intestinale. De plus, la notion d'âge intervient puisque la tolérance au glucose diminue progressivement avec l'âge.

3.2.1.2. Test O'SULLIVAN ou glycémie après glucose

Le principe est le même mais il est simplifié. Dans sa forme la plus rigoureuse : on donne, à jeun, une charge de glucose de 50 g, on réalise un premier prélèvement avant la prise de glucose et un second au bout d'une heure. Ce test est couramment pratiqué chez la femme enceinte (chez qui l'HGPO est déconseillée). Il a une bonne valeur de dépistage du diabète gestationnel.

Son interprétation est variable selon les praticiens. On considère généralement que la glycémie après une heure doit être inférieure à 1,40 g/l (7,8 mmol/l). Pour un dépistage plus rigoureux, on descendra le seuil de normalité à 1,30 g/l (7,2 mmol/l).

3.2.1.3. Hyperglycémie provoquée par voie intra-veineuse (HGP IV)

Elle est destinée à supprimer la traversée digestive du glucose et la sécrétion insuline-stimulante des hormones pariétales.

4. Épreuves d'hypoglycémie

Les épreuves d'hypoglycémies provoquées sont dangereuses et doivent se dérouler en milieu hospitalier et sous surveillance stricte ; on doit pouvoir pratiquer dans la minute, une injection de glucagon ou une injection intraveineuse de sérum glucose hypertonique dès l'apparition (souvent très rapide) des signes cliniques d'hypoglycémie.

5. Dosages et épreuves complémentaires

5.1. Insulinémie

Paramètre à grande valeur historique: première hormone protéique dont le taux plasmatique a été apprécié par radio-immunodosage vers 1960. Test fondamentale dans le diagnostic d'une hypoglycémie ; d'interprétation parfois difficile au cours du diabète sucré.

• Méthodes de dosage

L'insuline plasmatique est dosée par des techniques immunologiques qui peuvent être classées en deux catégories selon la nature des anticorps utilisés : polyclonaux en radio-immunologie (RIA) devenu rares, monoclonaux pour les techniques immuno-métriques ou des techniques immuno-enzymatiques.

• Valeurs usuelles

L'insulinémie de base matinale après plus de 10 heures de jeûne se situe entre 10 et 20 mU/l (0,4 à 0,8 µg/l). Après un repas mixte habituel elle s'élève entre 100 et 160 mU/l.

- l'insulinémie est influencée par l'âge et le sexe; les femmes ont des insulinémies plus élevées que celle des hommes ; cependant, cette augmentation se manifeste surtout chez l'adolescente et l'adulte jeune, rarement à jeun, mais une à deux heures après une charge en glucose. Au cours du

troisième trimestre de la grossesse, une insulino-résistance se développe entraînant une augmentation de l'insulinémie.

- Les enfants de moins de 6 ans présentent des insulinémies plus basses, d'environ 50 à 60%, que celle des adultes ; elles augmentent ensuite régulièrement jusqu'à la fin de la puberté.

5.2. Le C-Peptide

Jusqu'à présent, le C-peptide était considéré comme n'ayant aucune activité biologique. Cependant, cette notion a été remise en question dans diverses études, notamment chez des diabétiques de type 1 ne sécrétant plus d'insuline et donc de C-peptide. Administré de manière prolongée, le C-peptide améliore les fonctions rénales et nerveuses des diabétiques de type 1. Cependant, des études cliniques concernant les effets de l'administration de C-peptide pendant 1 à 3 mois chez des diabétiques de type 1 n'ont pas montré d'influence sur la glycémie.

• Indication du dosage

Co-sécrété avec l'insuline, le C-peptide est donc un bon reflet de l'insulinosécrétion. Sa mesure permet notamment d'évaluer la sécrétion résiduelle chez le diabétique de type 1 traité par insuline.

• Méthodes de dosage

Les dosages sont pratiqués dans le sérum, le plasma ou les urines des 24 heures.

Le C-peptide plasmatique est dosé par des techniques immunologiques, soit de type compétition à l'aide d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux, soit immunométriques.

• Valeurs usuelles

À jeun, les valeurs usuelles plasmatiques varient de 0,2-0,45 à 1,30-1,60 nmol/L selon les techniques de dosage (1 nmol/l = 3,02 ng/ml).

Comme pour l'insuline, l'âge est un facteur d'augmentation du C-peptide.

Les concentrations de C-peptide chez les enfants sont plus basses que celles observées chez les adultes (environ 50 à 60% chez les moins de 6ans), les concentrations augmentent ensuite régulièrement jusqu'à la fin de la puberté.

Les valeurs usuelles du C-peptide urinaire varient de 8 à 40 nmol/24heures ; les concentrations de C-peptides urinaires peuvent être très variables d'un jour à l'autre chez une même personne ce qui limite son utilité.

6. Test de surveillance du diabète sucré

6.1. HbA_{1c} : L'hémoglobine glyquée correspond à l'ensemble des molécules d'hémoglobine modifiées par fixation non enzymatique d'ose. La glycation, réaction purement chimique entre les amines et les oses, conduit à la formation d'un composé instable (base de Schiff) stabilisé par transposition de la double liaison en une céto-amine stable (produit d'amadori).

L'hémoglobine glyquée totale comprend les molécules d'hémoglobine glyquées sur tout résidu NH₂ libre et accessible. L'hémoglobine A₁ correspond à la fixation d'ose sur l'extrémité N-terminale des chaînes β ce qui modifie les propriétés physicochimiques de l'hémoglobine.

Elle est hétérogène et comprend l'HbA_{1a1} (fixation de fructose 1-6 biphosphate), l'HbA_{1a2} (fixation de glucose 6-phosphate), l'HbA_{1b} (fixation de pyruvate) et l'HbA_{1c} (fixation du glucose sur la valine N-terminale de la chaîne β).

• Indication du dosage

L'HbA_{1c} est utilisée en pratique quotidienne dans la surveillance du diabète sucré: c'est un marqueur rétrospectif et il est admis qu'il reflète l'équilibre glycémique des 6-8 semaines précédant la mesure. En effet, la réaction de glycation est entre autre dépendante de la demi-vie de la protéine sur laquelle le glucose est fixé. L'HbA_{1c} s'exprime en pourcentage de L'hémoglobine A. L'HbA_{1c} est ainsi devenue un facteur essentiel pour l'adaptation du traitement.

• Méthodes de dosage

Les caractères physicochimiques de l'hémoglobine sont modifiés par la glycation et les méthodes de dosage sont basées sur deux principes :

- Méthodes basées sur la modification de charge : (les techniques chromatographiques et les techniques électrophorétiques)
- Méthodes basées sur la modification de structure : (la chromatographie d'affinité et les méthodes immunochimiques).

•**Valeurs usuelles :** les valeurs usuelles de l'HbA_{1c} sont de 4-6%, quelle que soit la technique utilisée.

6.2. Fructosamines

La réaction de glycation est une réaction générale qui se produit avec toutes les protéines. Les protéines plasmatiques sont glyquées -comme l'hémoglobine- et le terme pour les mesurer est le terme fructosamine, dérivé du produit de condensation qui est dosé ; alors que l'HbA_{1c} est un reflet de l'équilibre glycémique moyen des six dernières semaines, les fructosamines sont des marqueurs à court terme essentiellement liés à la demi-vie de l'albumine, soit 15 à 20

jours. Les différentes dénominations de ce paramètre sont, protéines plasmatiques glyquées ou fructosamines.

• Méthodes de dosages

Deux méthodes sont actuellement disponibles:

- **Une méthode colorimétrique**, non spécifique basée sur la réduction en milieu alcalin du nitrobleu de tétrazolium par les fonctions cétoamines présente sur les protéines glyquées.
- **Une méthode enzymatique**: la protéinase K dégrade les protéines glyquées en fragments peptidiques ; la cétoamine oxydase oxyde les fragments glyqués avec formation de peroxyde d'hydrogène, dont l'apparition est mesurée grâce à une réaction colorimétrique.

• Valeurs usuelles

L'intervalle de référence des fructosamines pour les sujets non diabétiques est de 200 à 280 $\mu\text{mol/L}$.

6.3. Microalbuminurie

On désigne sous le terme de microalbuminurie une excrétion urinaire d'albumine comprise entre 20 et 200 $\mu\text{g/min}$ correspondant à une élimination de 30 à 300 mg/24h.

La microalbuminurie est devenue un marqueur indispensable à la prise en charge des diabétiques de type 1 et de type 2. D'abord considéré comme marqueur prédictif de la néphropathie, ce paramètre est devenu un marqueur de risque cardiovasculaire indépendant des autres facteurs de risque particulièrement dans le diabète de type 2.

30 à 40 % des diabétiques développent une néphropathie dont la microalbuminurie est le signe le plus précoce.

7. Autres Examens

7.1. Corps cétoniques

Les corps cétoniques sont constitués par l'acétoacétate (AcAc), le 3 β -hydroxybutyrate (3HB) et l'acétone. Lorsque la glycémie est basse ou en absence d'insuline, l'acétyl-COA cellulaire s'accumule du fait de l'augmentation de la β oxydation des acides gras générant alors de l'AcAc qui est réduit dans les mitochondries hépatique en 3HB, l'acétone résultant de la décarboxylation spontanée de AcAc. L'AcAc et le 3HB diffusent dans le sang et les urines, l'acétone étant éliminé par les poumons. La cétogenèse augmente physiologiquement au cours du jeûne. La principale cause d'augmentation pathologique est le diabète et certaines intoxications (alcool, salicylates). Le rapport 3HB/AcAc est normalement de 1 mais atteint ou dépasse 3 en cas de diabète avec céto-acidose.



7.2. Lactate et pyruvate

Ces anions se dosent en cas de coma par acidose lactique.

Normalement le lactate représente 0,3 à 1,3 mmol/l et le pyruvate est à un taux de 30 à 70 $\mu\text{mol/L}$. Pour l'interprétation il faut tenir compte du rapport lactate/pyruvate qui est voisin de 10/1. Le jeûne fait chuter la lactatémie, l'exercice l'augmente.

8. Variations pathologiques

8.1. Hypoglycémies

L'hypoglycémie désigne une concentration de glucose sanguin en dessous de 0,5 g/L ou 2,8 mmol. Les hypoglycémies les plus fréquentes sont celles secondaires au traitement médicamenteux (iatrogènes) chez les sujets diabétiques (certains antidiabétiques oraux ou l'insuline). Hors de ce contexte, on distingue principalement les hypoglycémies de jeûne (ou très éloignées de la dernière prise alimentaire) des hypoglycémies post-prandiales précoces ou tardives. Parmi les causes d'hypoglycémies de jeûne, l'insulinome, tumeur à 90% bénigne du pancréas endocrine sécrétant de l'insuline de façon autonome et inadaptée.

Les hypoglycémies ont généralement un aspect clinique bien précis : Sueur, tremblement, yeux brouillés ou double vision, faiblesse, faim, confusion, vertige, anxiété, frisson...

8.2. Hyperglycémies

L'hyperglycémie peut être le premier symptôme du diabète, qui se manifeste par une augmentation du taux de sucre dans le sang due à un déficit absolu ou relatif en insuline, peut s'accompagner de symptômes tels que : soif, polyurie, amaigrissement, troubles de la conscience et évoluer en l'absence de traitement vers le coma et la mort.

L'hyperglycémie chronique est la cause principale de la survenue des complications dégénératives de la maladie diabétique notamment au niveau des nerfs, des reins, de la peau, de la rétine et du cœur.

Tableau 10 : Classification étiologique des diabètes sucrés (Haslett *et al.*, 2000).

Diabète de type 1 (destruction des cellules b du pancréas, conduit à un déficit absolu en insuline)	
a. Auto-immun	
b. Idiopathique (diabète de type 1b)	
Diabète de type 2 (résistance à l'insuline, déficit relatif en insuline)	
Formes intermédiaires de diabète	
a. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA)	
b. Ketosis prone diabetes (KPD)	
Défauts génétiques de la fonction de la cellule b du pancréas	
a. Maturity-onset diabetes in the young (MODY) 1 (chromosome 20, *HNF-4a), MODY 2 (chromosome 7, glucokinase), MODY 3 (chromosome 12, HNF-1a), autres types de MODY plus rares	
b. Mutation de l'ADN mitochondrial	
c. Diabète néonatal transitoire ou permanent	
d. Autres	
Défauts génétiques de l'action de l'insuline	
a. Lepréchaunisme	c. Diabète lipoatrophique
b. Syndrome de Rabson-Mendenhall	d. Autres
Atteintes du pancréas exocrine	
a. Pancréatectomie/traumatisme pancréatique	c. Mucoviscidose
b. Hémochromatose	d. Autres
Endocrinopathies	
a. Acromégalie	c. Hyperthyroïdie
b. Syndrome de Cushing	d. Autres
Médicamenteux	
a. Diabète cortico-induit	c. Thiazides
b. New-onset diabetes after transplantation (NODAT)	d. Autres
Infectieux	
a. Rubéole congénitale	c. Autres
b. Cytomégalovirus	
Rares formes auto-immunes	
a. Syndrome de stiff-man	c. Autres
b. Anticorps antirécepteur à l'insuline	
Syndromes génétiques pouvant être associés au diabète	
a. Syndrome de Down	c. Syndrome de Turner
b. Syndrome de Klinefelter	d. Autres
Diabète gestationnel	

HNF : Hepatic Nuclear Factor

Chapitre 4

Le métabolisme azoté, régulation et variations pathologiques de quelques principales protéines plasmatiques

1. Métabolisme	62
1.1. Besoins et apports protéiques	62
1.2. Sources exogènes et endogènes des protéines	63
1.3. Digestion des protéines alimentaires	63
1.4. Absorption intestinale des acides aminés	64
1.5. Utilisation métabolique	64
1.6. Excrétion azotée	65
2. Régulation hormonale du métabolisme azoté	66
2.1. Facteurs anabolisants	66
2.2. Facteurs catabolisants	66
3. Exploration du métabolisme des protéines	67
3.1. Protéines totales	67
3.2. Electrophorèse des protéines	67
3.3. Immunoélectrophorèse	74
3.4. Immunofixation	74
4. Etude de la protéinurie	74
5. Principaux profils pathologiques	75



Chapitre 4 : Le métabolisme azoté, régulation et variations pathologiques de quelques principales protéines plasmatiques

Les composés azotés majeurs que l'on trouve au sein des organismes animaux sont les protéines, les acides nucléiques et les porphyrines formant le groupement prosthétique des hémoglobines notamment. Les protéines constituent de loin la catégorie la plus importante, du moins en termes quantitatifs. À l'inverse des lipides et glucides qui sont utilisés comme source d'énergie et stockés dans la cellule, les composés azotés sont les constituants cellulaires, synthétisés et dégradés en permanence. Ce *turn-over* dynamique peut être apprécié par l'évaluation de la balance azotée. Le métabolisme azoté est donc le plus important de tous les métabolismes des constituants organiques de la matière vivante.

1. Métabolisme

1.1. Besoins et apports protéiques

Le besoin minimum, chez l'adulte, en protéines alimentaires est faible, environ 1 à 1,1g par kilo de poids corporel facilement couvert par une alimentation mixte et équilibrée.

Le besoin en acides aminés est couvert par les protéines alimentaires, l'apport en acides aminés libres étant négligeable. Toutes les protéines contiennent tous les acides aminés. Toutefois, les protéines de céréales sont classiquement pauvres en lysine alors que les protéines de légumineuses sont pauvres en acides aminés soufrés. Par contre, les protéines animales sont généralement plus riches en acides aminés indispensables (8 chez l'adulte : valine, thréonine, leucine, isoleucine, méthionine, lysine, phénylalanine et tryptophane) et présentent de plus une digestibilité meilleure que celle des protéines végétales.

Au total, il est donc possible de distinguer les besoins en protéines du besoin en acides aminés indispensables, le premier pouvant être couvert alors que le second ne l'est pas dans le cas d'une alimentation ne comportant que des protéines d'un type très particulier carencées en un acide aminé indispensable. En pratique, si l'apport protéique est satisfaisant et compte tenu de la diversité habituelle des sources protéiques animales et végétales, l'apport en acides aminés indispensables est également satisfaisant.

1.2. Sources exogène et endogène des protéines

Les protéines exogènes (d'origine alimentaire) représentent plus de 90 % de l'azote alimentaire ingéré et sont la source largement prédominante d'acides aminés d'origine alimentaire.

Les protéines endogènes comprennent les protéines des cellules desquamées dans la lumière intestinale, les protéines des sécrétions salivaires, gastriques, intestinales, biliaires et pancréatiques et les pertes d'origine plasmatique.

La composition du flux d'azote endogène dans le jéjunum est constante : environ 50 % sont sous forme protéique, le reste étant constitué de peptides et d'acides aminés libres provenant de la digestion des protéines sécrétées, ainsi que d'urée.

La fraction protéique de l'azote endogène est principalement constituée par les amylases salivaires, la pepsine, les protéases pancréatiques (trypsine, chymotrypsine, élastase, carboxypeptidases) et les lipases. Après ingestion d'un repas, l'azote d'origine **exogène** représente entre 50 et 70 % du flux d'azote au niveau jéjunal.

1.3. Digestion des protéines alimentaires

1.3.1. La digestion intestinale

Les protéines dans la lumière intestinale correspondent aux protéines ingérées et aux protéines endogènes sécrétées dans la lumière intestinale. L'ensemble de ces protéines est soumis au processus de digestion dans la lumière intestinale faisant, en particulier, intervenir l'action hydrolytique des protéases sécrétées au niveau gastrique et surtout pancréatique.

1.3.2. La digestion gastrique

Au cours de la mastication, les protéines commencent à être mises en solution dans la salive mais c'est dans l'estomac que débute véritablement la digestion des protéines, sous l'action conjuguée de l'acide chlorhydrique et de protéases gastriques, les pepsines.

L'acide chlorhydrique, sécrété par les cellules pariétales, provoque une dénaturation des protéines. La conformation des protéines est alors affectée, ce qui permet d'exposer les liens peptidiques susceptibles à l'action protéolytique de la pepsine, cette dernière est une endo-protéase sécrétée par la muqueuse gastrique sous forme de pepsinogène, lequel est activé par l'acidité du milieu stomacal en pepsines.

Ces enzymes hydrolysent les liaisons peptidiques impliquant à leur extrémité NH_2 terminale des acides aminés aromatiques ou ramifiés tels que la phénylalanine, la tyrosine, la leucine ou la valine, et transforment les protéines en peptones et peptides. La sécrétion

gastrique renferme également une autre protéase, la cathepsine (EC 3.4.22.1), qui agit à pH acide (5,5) et contribue à l'hydrolyse des protéines alimentaires.

1.3.3. La digestion pancréatique

L'étape la plus importante dans la digestion enzymatique des protéines se déroule dans la lumière duodéno-jéjunale et met en jeu les endo- et exo-peptidases pancréatiques.

Ces enzymes sont sécrétées sous la forme de zymogènes inactifs (trypsinogène, chymotrypsinogène, proélastase, procarboxypeptidases A et B) et activées par une réaction en cascade. Les produits de cette digestion sont des acides aminés libres et des peptides de 3 à 10 résidus. Une faible part des protéines ingérées échappe à l'action des peptidases pancréatiques et peut être retrouvée au niveau iléal.

1.4. Absorption intestinale des acides aminés

Le mélange d'acides aminés et de dipeptides subit un transport membranaire actif au niveau de la bordure en brosse, couplé à l'absorption du Na, ce dernier sera chassé ultérieurement par le canal Na-K avec consommation d'énergie. Les quelques dipeptides absorbés subissent une hydrolyse intracellulaire.

Normalement tous les acides aminés sont absorbés avant la valvule iléocœcale et les composés azotés présents dans le côlon proviennent du mucus, des sécrétions, des leucocytes et des cellules épithéliales desquamées. Leurs transformations sont effectuées par la flore bactérienne colique au cours de la putréfaction. Les acides aminés sont excrétés dans la veine porte et acheminés vers le foie. Ils y sont métabolisés ou libérés dans la circulation générale.

1.5. Utilisation métabolique

Le système digestif décompose les protéines en acides aminés. Absorbés au niveau de la muqueuse intestinale, ceux-ci rejoignent les voies de l'**anabolisme** cellulaire pour être intégrés dans la synthèse d'hormones, d'enzymes ou de protéines de structure (Figure 8). Les acides aminés excédentaires sont dégradés (**catabolisés**) en deux étapes : l'acide aminé commence par perdre son atome d'azote (**désamination**), puis le reste de la molécule (atomes de carbone et d'oxygène) subit une décomposition chimique pour former d'autres composés carbonés. Ces derniers rejoignent les voies cataboliques communes aux dérivés des glucides et des lipides. Les produits terminaux de la dégradation des protéines sont le gaz carbonique et l'eau. L'azote, quant à lui, est éliminé sous forme d'urée, d'ammoniac et d'acide urique.

1.6. Excrétion azotée

Elle est faite de diverses composantes

- **L'excrétion fécale** est relativement constante mais elle est faible : environ 1 à 2 g par jour. Elle s'élève lors des syndromes de malabsorption de la maladie, coeliaque ou lors des insuffisances pancréatiques chroniques.

Elle s'abaisse au cours du jeûne.

- **La déperdition azotée** est minime par la desquamation cutanée, la coupe des cheveux et des ongles et la sueur.

- **L'élimination urinaire** est prépondérante. On y trouve en effet **l'azote uréique** qui représente 50 % de l'azote total urinaire, des traces de protéines, des aminoacides, de la créatinine, des sels ammoniacaux, de l'acide urique.

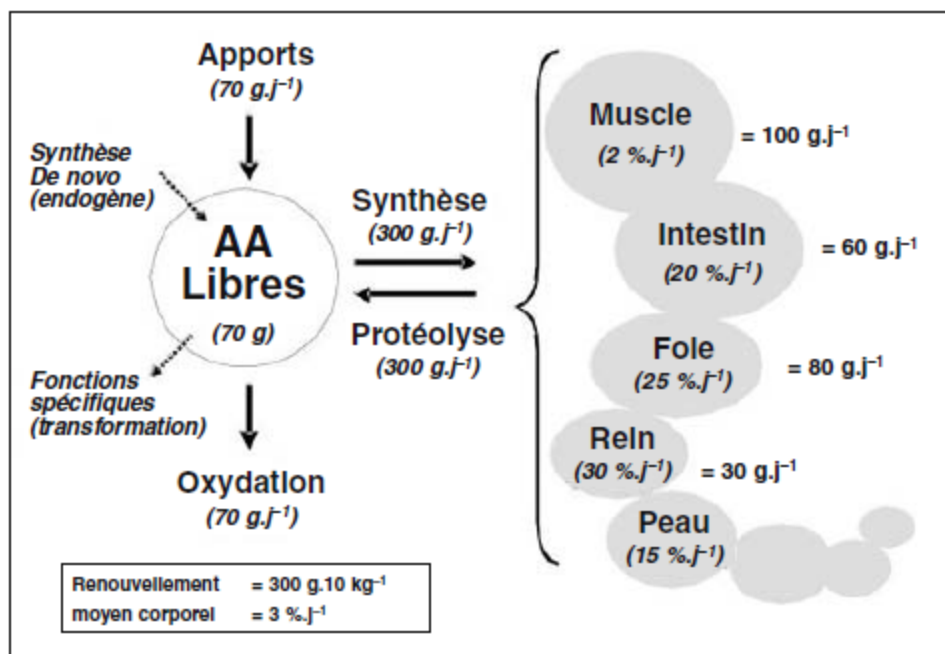


Figure 8 : Représentation schématique du métabolisme protéique du corps entier (Boirie et Beaufrière, 2005)

2. Régulation hormonale du métabolisme azoté

L'ensemble du métabolisme azoté est soumis à des facteurs de régulation soit anabolisants soit catabolisants.

2.1. Facteurs anabolisants

Ils favorisent, comme leur nom l'indique, la biosynthèse des protéines et tendent à entraîner un bilan azoté positif.

2.1.1. Hormones et cytokines

2.1.1.1. Insuline

Elle agit à la fois en stimulant la captation intracellulaire des acides aminés, en stimulant la synthèse protéique et en inhibant la protéolyse.

2.1.1.2. Facteurs de croissance

Elle stimule la biosynthèse des protéines, la croissance et le développement tissulaire, provoquant ainsi une rétention azotée et un bilan azoté positif.

2.1.1.3. Stéroïdes sexuels

Les stéroïdes sexuels, en particulier la testostérone, sont anabolisants en stimulant la synthèse protéique notamment au niveau du muscle.

2.2. Facteurs catabolisants

2.2.1. Hormones thyroïdiennes

Elles ont une action complexe vis-à-vis du métabolisme protéique. L'euthyroïdie est indispensable à la croissance (comme le montre le nanisme par hypothyroïdie) et, en ce sens, elles sont anabolisantes, d'autant qu'*in vitro*, les hormones thyroïdiennes stimulent la synthèse protéique. Toutefois, l'hyperthyroïdie provoque une importante fonte musculaire, attribuable essentiellement à la stimulation de la protéolyse.

2.2.2. Glucagon

Il a un effet catabolique attribuable à une augmentation de protéolyse. Cet effet est modeste et difficile à mettre en évidence *in vivo*, sans doute en raison de son inhibition par de faibles quantités d'insuline.

2.2.3. Glucocorticoïdes

Ce sont les hormones catabolisantes les plus puissantes, du moins sur le muscle et le corps entier. Ils inhibent la synthèse protéique et augmentent la protéolyse.

Au niveau hépatique, leur effet est plutôt inverse (augmentation de synthèse d'albumine).

2.2.4. Cytokines

Elles sont globalement catabolisantes, mais leurs effets varient selon le tissu et la cytokine considérée: indiscutablement catabolisantes dans le tissu musculaire, elles augmentent au contraire la synthèse de protéines positives inflammatoires par le foie.

3. Exploration du métabolisme des protéines

Les protéines sont présentes dans tous les liquides de l'organisme, mais ce sont les protéines plasmatiques qui sont explorées le plus souvent dans un but diagnostique. Plus de 100 protéines différentes jouent un rôle physiologique dans le plasma. Sur le plan quantitatif, la protéine la plus importante est l'albumine. A l'exception du fibrinogène, les autres protéines sont désignées collectivement sous le terme de «globulines». Des changements de concentration de chacune de ces protéines surviennent dans de nombreuses pathologies et leur dosage apporte des informations diagnostiques souvent utiles.

3.1. Protéines totales

Ce dosage entre dans les bilans hydro-électrolytiques (les protéines interviennent dans l'osmolalité) et accompagnent toujours les électrophorèses pour permettre leur interprétation quantitative. Il y a physiologiquement entre 65 et 75 g/l de protéines sériques.

- **L'hyperprotéinémie totale** est le reflet soit, d'une hyperproduction (en particulier d'immunoglobulines) qui ne peut être investiguée que par le dosage des protéines spécifiques ou l'électrophorèse, soit d'une diminution de volume hydrique.
- **L'hypoprotéinémie totale** peut résulter de pertes importantes (entéropathie exsudative, syndrome néphrotique, brûlures), d'un déficit de synthèse (pathologie hépatique), d'un apport insuffisant (malnutrition, malabsorption), ou d'une hémodilution.

3.2. Electrophorèse des protéines

L'électrophorèse des protéines est une technique qui consiste à séparer les différentes classes de protéines du sang. Elle permet d'observer une diminution ou une augmentation relative ou absolue de chacune de ces classes. Elle est utilisée pour évaluer l'état général, notamment le bon fonctionnement du foie ou pour étudier différents états pathologiques telle qu'une inflammation ou une altération des défenses immunitaires

L'électrophorèse, sur support d'acétate de cellulose ou sur gel d'agarose, sépare les protéines en bandes distinctes : albumine, α_1 - et α_2 - globuline, β -globuline, et λ - globuline (Tableau11)

Tableau 11 : Principales protéines plasmatiques (Marshall and Bangert, 2005)

Classe	protéines
	Préalbumine
	Albumine
α_1-globuline	α_1 - antitrypsine orosomucoïde
α_2-globuline	Haptoglobuline α_2 - macroglobuline Céruléoplasmine
β-globuline	Transferrine Facteurs du complément(C_3)
γ-globuline	IgG IgA IgM IgD IgE

3.2.1. L'albumine

L'albumine est la principale protéine plasmatique et elle est synthétisée et sécrétée par le foie. Elle représente environ 50% de la production totale de protéines. L'albumine a une demi-vie plasmatique de 20 jours environ. Une baisse significative de la concentration d'albumine dans le plasma prend du temps en cas de réduction de la synthèse.

• **Valeur normale** : 35 à 50 g/l.

La présence d'une **faible concentration** d'albumine dans le plasma peut être due à quatre raisons majeures:

- **Distribution anormale** : l'albumine peut se déplacer dans le milieu interstitiel à la suite d'une augmentation de la perméabilité capillaire dans la réponse inflammatoire aigue
- **Diminution de la synthèse** : Une moindre synthèse de l'albumine peut être due à une malnutrition ou une malabsorption. Elle peut également être le signe d'une maladie hépatique chronique avancée.
- **Dilution** : Une hypo albuminémie peut être provoquée par une surhydratation.
- **Excrétion ou dégradation anormale** : Les causes peuvent en être un syndrome néphrotique, une entéropathie avec déperdition protéique, les brûlures, les hémorragies et les états cataboliques.

Bien que les dosages de l'albumine sérique soient utilisés pour suivre la réponse d'un patient à un soutien nutritionnel prolongé, ils sont peu sensibles et peu fiables.

- **Les augmentations** de la concentration d'albumine dans le sang ou hyperalbuminémies sont très rares. Elles reflètent une hémococoncentration, c'est-à-dire un déficit relatif ou absolu d'eau dans le sang par rapport aux cellules sanguines et aux éléments dissous du sang (ions, protéines). L'hémococoncentration est le plus souvent liée à une déshydratation.

3.2.2. La fraction α_1 globuline

3.2.2.1. Orosomucoïde : C'est une protéine α , de faible poids moléculaire (40 KDa) très riche en sucres et en acide sialique, ce qui lui a conféré aussi le nom de glycoprotéine acide α_1 .

- **Sa concentration normale varie entre 0,6 et 1,2 g/L**

Elle s'élève fortement et de façon spécifique dans tous les syndromes inflammatoire.

Les baisses de l'orosomucoïde sont observées au cours des syndromes néphrotiques. Là encore, il ne s'agit pas d'un symptôme ayant une valeur diagnostique car l'électrophorèse ordinaire est beaucoup plus évocatrice, mais on pourra juger des progrès du traitement par la montée et le retour à la normale du taux. Accessoirement, l'insuffisance hépatique provoque une baisse du taux d'orosomucoïde.

3.2.2.2. α_1 -antitrypsine : Cette α_1 - **globuline** est un inhibiteur naturel des protéases, intéressante pour les conséquences cliniques des pathologies héréditaires de sa voie de synthèse, celles-ci peuvent entraîner un emphysème, survenant plus précocement que l'ordinaire (entre l'âge de 30 et 50 ans), ainsi qu'une hépatite néonatale, qui peut évoluer en cirrhose.

Les sujets homozygotes pour la protéine normale sont désignés par le terme PiMM (Protease inhibitor). **Le déficit** en α_1 -antitrypsine est du le plus souvent à l'homozygotie pour l'allèle Z(PiZZ). Chez les individus affectés, la concentration plasmatique en α_1 -antitrypsine est diminuée d'environ 10 à 15% par rapport à la normale.

Les déficits aigus (insuffisance hépatocellulaire, syndromes néphrotiques sévère, dénutrition).

Une augmentation des α_1 -globulines se rencontre essentiellement dans les syndromes inflammatoires, en association avec une augmentation des α_2 - globulines.

3.2.3. La fraction α_2 globuline

3.2.3.1. Haptoglobine: L'haptoglobine est une α_2 - globuline. Son rôle est de lier l'hémoglobine libre libérée dans le plasma au cours de l'hémolyse intravasculaire. Les complexes hémoglobines- haptoglobines qui se forment sont épurés par le système réticulo-endothélial, et la concentration en haptoglobuline **chute** en conséquence. De ce fait, une concentration plasmatique en haptoglobine abaissée est un marqueur **d'hémolyse intravasculaire**. Cependant, on peut rencontrer des concentrations abaissées en relation avec une diminution de la synthèse dans les pathologies **hépatiques chroniques**, les envahissements **métastatiques** et les **septicémies** sévères.

L'haptoglobine est une protéine de la phase aigüe et sa concentration **augmente** dans :

- Les états d'hypoalbuminémie comme le syndrome néphrotique.

3.2.3.2. α_2 - macroglobuline : Est une protéine de haut poids moléculaire (820 KDa) qui représente environ un tiers des α_2 - globulines. Elle se combine aux diverses enzymes protéolytiques circulantes (plasmine, collagénase, trypsine et a chymotrypsine, protéases bactériennes et protéases leucocytaires). Elle pourrait ainsi limiter les effets néfastes de la réaction inflammatoire en inhibant les enzymes lysosomiales déversées.

- **Les valeurs de référence sont: 2 à 3,5 g/l.**

Sa concentration plasmatique est augmentée dans :

- **Le syndrome néphrotique** lié à une synthèse hépatique accrue et à une rétention (partielle) du fait qu'elle ne franchit pas facilement la membrane glomérulaire pathologique.

- **L'inflammation aiguë**, moins nette toutefois que celle de l'orosomucoïde, de l'haptoglobine ou de la CRP.

3.2.3.3 Ceruloplasmine:

C'est une protéine de transport du cuivre, qui fonctionne comme une ferroxidase et un piègeur de radicaux superoxydes. Sa synthèse et sa concentration plasmatique sont fortement abaissées dans la maladie Wilson. Sa concentration augmente pendant la grossesse (sous l'influence des œstrogènes).

3.2.4. La fraction β globuline

3.2.4.1. Transferrine (β_1 globuline)

La transferrine est quantitativement la plus importante des β_1 -globulines. Il s'agit d'une glycoprotéine synthétisée par le foie et par le système réticulo-endothélial dont le rôle essentiel est le transport du fer. Elle permet, par une réaction réversible, la capture et la libération du fer selon les besoins de l'organisme.

Augmentation de la transferrine

- Les carences en fer quelles que soient leurs origines (carence d'apport, trouble de l'absorption, saignements) s'accompagnent d'une élévation de la transferrine. Cette élévation précède l'apparition éventuelle de l'anémie.
- En présence d'un syndrome inflammatoire, il y a diminution de la concentration de la transferrine. Cette diminution est corrélée à la diminution de l'albumine. Tenir compte de cette propriété peut aider au diagnostic délicat d'une carence martiale en présence d'un syndrome inflammatoire. Dans ces conditions, une diminution de transferrine significativement moindre que celle d'albumine peut traduire une déficience en fer.
- L'imprégnation œstrogénique, qu'elle soit endogène (grossesse) ou exogène (œstrogénothérapie) stimule la synthèse de la transferrine.

Diminution de la transferrine

- Existence d'un syndrome inflammatoire.
- Malnutrition.
- Insuffisance de synthèse (insuffisance hépatocellulaire).
- Fuite (glomérulaire, gastro-intestinale).
- Surcharge en fer : la diminution est inconstante et toujours modérée; le pourcentage de saturation de la transferrine est un marqueur plus indiqué.

3.2.4.1.2. Complément (C3 et C4) (β_2 globuline)

Le complément est constitué d'un ensemble interactif complexe d'une vingtaine de protéines. L'activation du complément est un processus qui se déroule en cascade : le premier facteur doué d'une activité protéolytique clive le second qui acquiert à son tour un pouvoir protéolytique vis-à-vis du troisième et ainsi de suite.

L'activation de complément peut suivre deux voies; une voie classique faisant intervenir une combinaison antigène-anticorps et une voie alterne, activée par les lipopolysaccharides bactériens, qui agit en l'absence d'anticorps.

L'activation de complément conduit à l'obtention de produits doués d'activités biologiques diverses jouant un rôle fondamental dans le processus inflammatoire, la lyse cellulaire et la phagocytose.

Les valeurs de référence sont: C3 : 0.82 - 1.60 g/L, C4 : 0.17 - 0.53 g/L

La concentration sérique du complément est la résultante de processus physiopathologiques divers (synthèse, inhibition, perte, consommation) rendant son interprétation peu aisée lorsqu'elle est isolée d'un contexte biologique plus large et plus particulièrement si d'autres protéines du profil protéique ne sont pas prises en considération.

L'augmentation du taux de C3 et C4 est associée à l'existence d'un syndrome inflammatoire.

La diminution du taux de C3 et C4 peut résulter d'une déficience congénitale ou d'une consommation périphérique résultant de l'activation du complément. Les concentrations de C3 et C4 sont diminuées en cas d'activation de la voie classique (complexes immuns dépendante) tandis que seul C3 diminue en cas d'activation de la voie alterne (septicémie).

3.2.5. La fraction γ - globuline

Les gammaglobulines ou immunoglobulines (Ig) sont des protéines animales glycosylées. Elles tiennent leur nom de leur migration à l'électrophorèse dans la zone γ . Elles sont synthétisées par les plasmocytes au sein de la moelle osseuse.

D'une manière générale, les immunoglobulines interviennent dans la réponse immunitaire à médiation humorale. Chaque classe possède néanmoins des fonctions spécifiques (Tableau 13). Schématiquement, les IgM constituent le récepteur à l'antigène à la surface des lymphocytes B. Dans le sérum, ce sont les premières à apparaître après une stimulation antigénique et les plus efficaces pour activer le complément. Les IgG interviennent principalement dans les processus d'élimination de l'antigène (par phagocytose, cytolysse à médiation cellulaire dépendante des anticorps ou activation du complément). Les IgA participent à l'élimination des antigènes bactériens ou d'antigènes alimentaires qui auraient franchi la paroi intestinale. Les IgA sécrétoires (dans la salive, les larmes, les sécrétions respiratoires, digestives ou le lait maternel) interviennent localement dans la protection contre un agent extérieur pénétrant au niveau des muqueuses. Enfin, les IgE sont impliquées dans l'allergie (elles déclenchent la dégranulation des mastocytes et des polynucléaires basophiles)

Une diminution d'une ou de toutes les classes d'immunoglobulines traduit un déficit de l'immunité humorale favorisant le développement d'infections extracellulaires. Ce déficit peut être congénital (rare) ou acquis, notamment en cas d'hémopathie maligne, d'infection virale (rougeole, rubéole, herpès, cytomégalovirus...), de maladie à composante auto-immune (certaines polyarthrites rhumatoïdes...) ou de pertes excessives d'Ig (syndrome néphrotique, entéropathie exsudative, brûlure cutanée étendue).

Une augmentation de la concentration d'une ou de toutes les classes d'immunoglobulines traduit une activation du système immunitaire. Celle-ci peut refléter une infection (de très nombreuses infections bactériennes s'accompagnent d'une augmentation des Ig, notamment les infections pulmonaires ou certaines infections parasitaires comme le paludisme, la leishmaniose ou la filariose), une vascularité ou connectivite (augmentation notamment des IgG au cours du lupus érythémateux systémique, du syndrome de Gougerot-Sjögren), certains cancers et hémopathies malignes.

Tableau 12 : Caractéristiques des immunoglobulines. (Marshall and Bangert, 2005 ; Gaw *et al.*, 2004)

Classe	Structure	Emplacement	Fonctions
IgG	Monomère	MEC	Anticorps principal des réponses immunitaires (neutralise les toxines, active le complément).
IgA	Dimère	MEC + sécrétion	Anticorps principale des sécrétions séromuqueuses, par exemple la salive, le muscle bronchique (Antimicrobienne).
IgM	Pentamère	Surtout intravasculaire	Anticorps principal de la réponse immunitaire primaire (élaborées au cours de la réponse immunitaire).
IgD	Monomère	MC+ membrane cellulaire	Récepteur d'antigène de la surface cellulaire (à la surface des lymphocytes B), impliquée dans la reconnaissance de l'antigène.
IgE	Monomère	MEC	Antiallergénique, antiparasitaire (Rôle probable dans l'immunité vis-à-vis des helminthes et associée aux réactions d'hypersensibilité immédiate)

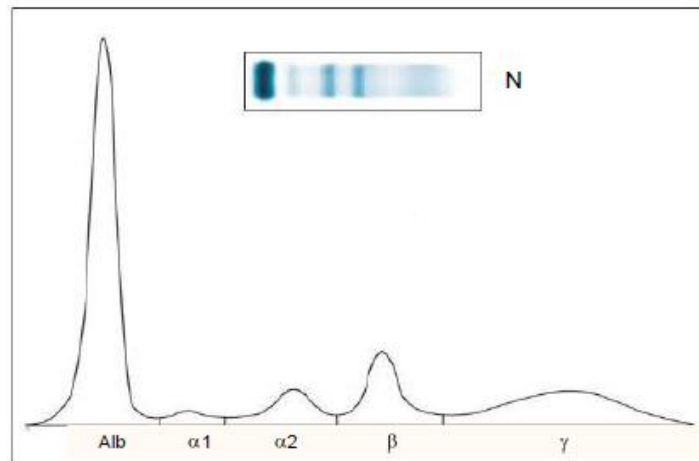


Figure 9 : Protéinogramme d'un sujet normal

3.3. Immunoélectrophorèse

C'est l'examen classique qui complétait l'électrophorèse quand celle-ci présentait des anomalies, pour préciser quelle protéine est augmentée. C'est une double migration avec reconnaissance et précipitation de chaque protéine avec un anticorps qui lui est spécifique. Au final, on obtient une multitude de traits (précipités) sur une carte. La position permet d'identifier la protéine, tandis que l'intensité du trait donne une évaluation semi-quantitative. La technique, longue et délicate est aujourd'hui abandonnée au profit de l'immunofixation et du dosage spécifique des protéines.

3.4. Immunofixation

Technique plus simple que l'immunoélectrophorèse qui permet de confirmer et préciser la classe d'immunoglobuline concernée lors d'une suspicion de gammapathie monoclonale.

4. Etude de la protéinurie

Une protéinurie est définie comme l'élimination pathologique dans les urines d'une quantité de protéines supérieure à 80 mg/j. La protéinurie est habituellement découverte par des bandelettes réactives au cours d'un examen systématique (visite de médecine du travail, vaccinations, médecine scolaire...) ou lors de la surveillance d'une grossesse.

Ainsi, la protéinurie peut être découverte au cours de l'exploration d'un syndrome œdémateux en rapport avec un syndrome néphrotique ou un syndrome néphrétique aigu ou au cours de l'exploration d'une hypertension artérielle. Parfois, la protéinurie est découverte au cours du bilan d'une maladie générale dégénérative (diabète, amylose) ou inflammatoire (lupus, angéite...) déjà connue, en cours d'identification ou de surveillance.

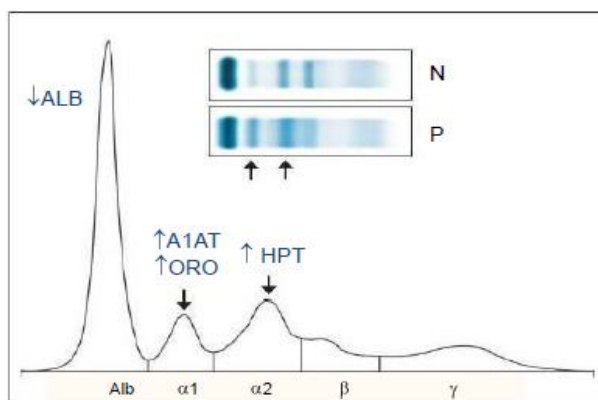
4.1. La classification d'une protéinurie

L'apparition de la protéinurie est habituelle au cours des néphropathies, mais peut se produire dans certaines circonstances sans atteinte du parenchyme rénal.

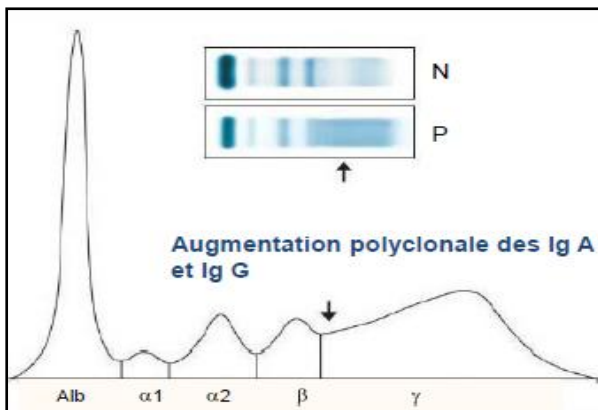
4.1.1. Protéinurie d'origine plasmatique

- **La protéinurie physiologique ou normale** correspond au 1 % des protéines filtrées par le glomérule qui échappent à la réabsorption tubulaire.
- **La protéinurie peut être liée à des modifications hémodynamiques intra-rénales** qui augmentent la perméabilité glomérulaire. L'orthostatisme, l'effort, l'administration de composés vaso-actifs comme l'angiotensine et les catécholamines, l'insuffisance cardiaque et la grossesse normale en constituent les principales situations.
- **La protéinurie de surcharge** peut se voir dans certaines conditions pathologiques dans lesquelles des protéines dont la taille est inférieure à celle de l'albumine en l'absence de toute maladie rénale, peuvent apparaître dans le plasma et filtrées à travers la membrane glomérulaire pour se trouver dans les urines; les capacités de réabsorption tubulaire étant dépassées par de telles quantités de protéines. Ces protéinuries sont appelées pré-rénales.
Exemple : hémoglobinurie, myoglobulinurie, chaînes légères d'immunoglobulines.
- **La protéinurie peut être liée à une augmentation de la perméabilité glomérulaire.** C'est le type le plus fréquent de protéinurie en rapport avec des anomalies de structure ou de fonction de la paroi des capillaires glomérulaires.
- **La protéinurie tubulaire** peut avoir lieu lorsque les capacités de réabsorption tubulaire sont atténuées.

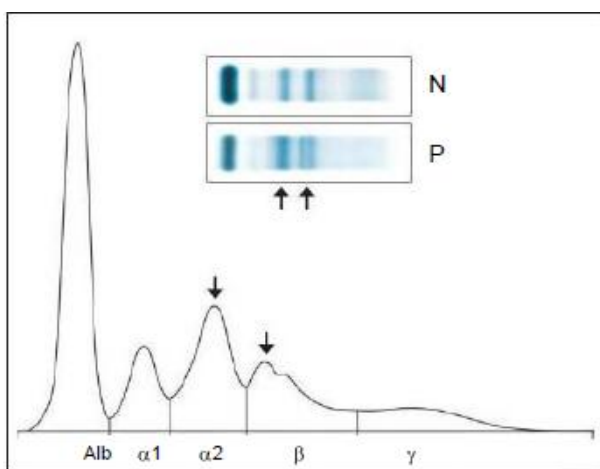
5. Principaux profils pathologiques



5.1. Le syndrome inflammatoire aigu : caractérisé par une hyper α_2 -globulinémie modérée, isolée, profil normal par ailleurs. Ce signe très fidèle peut dispenser de doser les α -globulines correspondantes (haptoglobine, orosomucoïde, entre autre).



5.2. Cirrhose décompensée: caractérisée par la soudure β γ , l'abaissement de l'albumine et un rapport albumine/globuline inférieur à 1. Ce stade tardif, irrécupérable, s'installe progressivement, au fur et à mesure que s'élève le rapport IgA / transferrine.



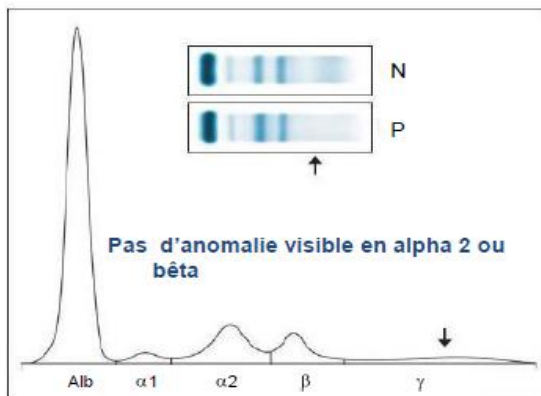
5.3. Syndrome néphrotique : Caractérisé par une albumine effondrée, des globulines basses (toutes fuyant dans les urines) à l'exception des α_2 -globulines qui présentent un pic élevé, plus net que celui du syndrome inflammatoire. L'électrophorèse standard des protéines urinaires (après concentration jusqu'à environ 30g/l) confirme ces données : on retrouve la plupart des protéines manquantes.

5.4. Gammapathie

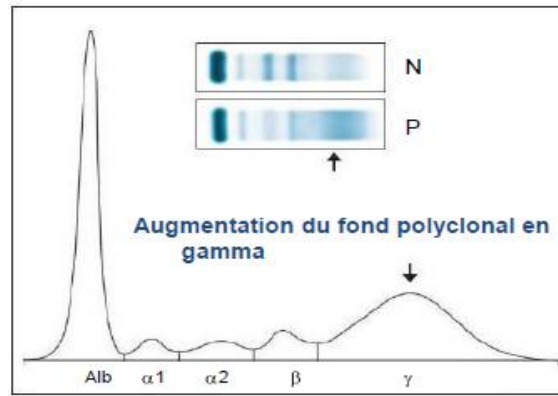
5.4.1. Le déficit immunitaire: Dont l'exemple type est l'agammaglobulinémie (jamais absolument totale), se caractérise par une courbe très aplatie au niveau des γ -globulines.

5.4.2. La réaction immunitaire: Au contraire, implique un véritable « dôme » plus ou moins élevé, au niveau des γ -globulines. Profil réalisé face à une agression prolongée qui peut être de nature infectieuse ou virale. Les dômes les plus élevés sont le fait des parasitoses. Les maladies par auto-immunité (reticulo-endothélioses, collagénoses) réalisent un profil très voisin, de pronostic redoutable. L'ensemble des γ -globulines est concerné, la réaction est polyclonale.

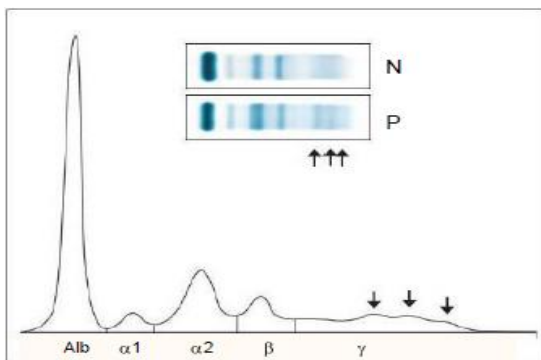
5.4.3. La gammapathie monoclonale : Au contraire, concerne un seul type de globuline, donnant un pic unique, mince, tranchant sur le reste des protéines sérique en règle générale plus au moins abaissées. Des fragments de cette protéine pathologique sont retrouvés dans les urines.



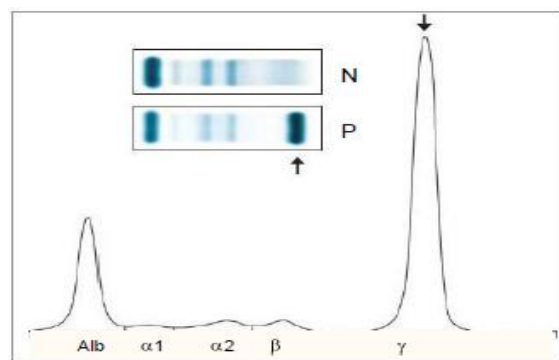
Hypogammaglobulinémie sans autre anomalie monoclonale visible



Hypergammaglobulinémie



Profil oligoclonal en gamma



Immunoglobuline monoclonale importante en gamma

5 Chapitre

Métabolisme des lipides et des lipoprotéines, et variations pathologiques

1. Structure des lipoprotéines	78
2. Métabolisme des lipoprotéines	80
3. Exploration	82
3.1. Aspect du sérum	82
3.2. Dosage du cholestérol total	83
3.3. Dosage des triglycérides.....	83
3.4. Dosage du cholestérol HDL.....	83
3.5. Évaluation du cholestérol des LDL	84
3.6. Dosage des apolipoprotéines A-I et B	84
3.7. Dosage de la Lp(a)	84
3.8. Fractionnement des lipoprotéines	84
4. Pathologies du métabolisme des lipoprotéines.....	85
4.1. Les hyperlipidémies	86
4.2. Les hypolipoprotéïnémies	88

Chapitre 5 : Métabolisme des lipides et des lipoprotéines et variations pathologiques

Les principaux lipides du plasma sont les acides gras, les triglycérides, le cholestérol et les phospholipides. Des concentrations plasmatiques élevées en lipides, particulièrement en cholestérol, sont associées par un lien de causalité à la pathogenèse de l'athérosclérose, le processus responsable de la plupart des maladies cardiovasculaires (maladies coronariennes, cérébrovasculaires et vasculaire périphériques).

1. Structure des lipoprotéines

Les lipides circulant dans le sang ne sont pas solubles dans l'eau : certains sont totalement insolubles et hydrophobes (cholestérol estérifié et triglycérides) alors que d'autres ont une partie de leur structure polaire et hydrophile (phospholipides et cholestérol non estérifié). Ils sont associés avec des protéines spécifiques (apolipoprotéines) sous forme de complexes solubles, les lipoprotéines. Il existe plusieurs classes de lipoprotéines, dont la structure sont étroitement apparentées (Tableau13).

Les lipoprotéines ont une structure sphérique dans laquelle le noyau (core lipidique) est constitué des lipides hydrophobes (triglycérides et cholestérol estérifié) entourés par une couche de phospholipides, de cholestérol non estérifié d'apolipoprotéines (Figure 10), ces deux constituants ayant la partie polaire de leur structure orientée vers l'extérieur.

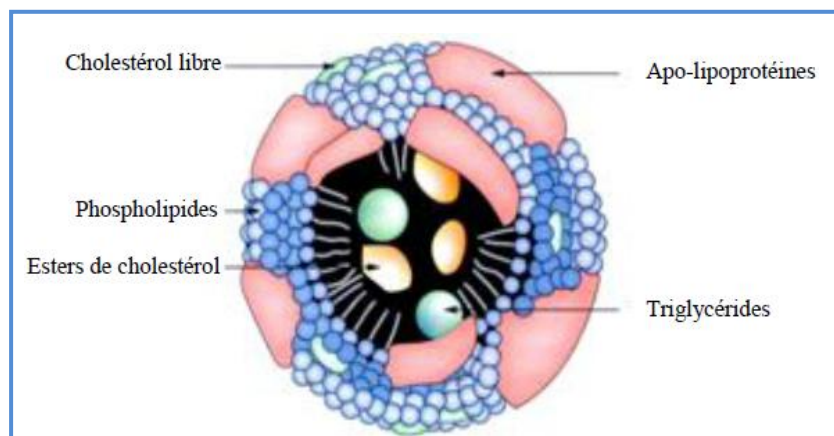


Figure 10: Structure d'une lipoprotéine (Beaudeau et Durand, 2011)

Tableau 13 : Les quatre principales lipoprotéines et leurs fonctions (Gaw *et al.*, 2004).

Lipoprotéines	Fonctions
Chylomicrons	Plus grosse lipoprotéine. Synthétisées par l'intestin après un repas. Non présentes dans le plasma normal à jeun. Principaux transporteurs des triglycérides alimentaires
Lipoprotéines de très basse densité (VLDL)	Synthétisées dans le foie. Principaux transporteurs des triglycérides endogènes.
Lipoprotéine de basse densité (LDL)	Formées à partir des VLDL dans la circulation. Principaux transporteurs du cholestérol
Lipoprotéine de haute densité (HDL)	Plus petites lipoprotéines. Fonction protectrice. Extraient le cholestérol des tissus extra-hépatiques et l'amènent au foie pour élimination.

1.1. Les constituants des lipoprotéines

1.1.1. Les lipides : les lipides des lipoprotéines sont présents dans les cellules intestinales à partir des apports alimentaires ou synthétisés dans les cellules hépatiques (origine endogène). L'alimentation apporte environ 100g par jour de triglycérides (40 % de l'énergie) et 0,30 à 0,50 g de cholestérol. L'organisme synthétise environ 1 g de cholestérol par jour. Ces lipides sont indispensables à l'organisme et aux cellules jouant un rôle de structure (lipides membranaire), ou de précurseurs pour le cholestérol (hormones stéroïdiennes, acides biliaires...) ou de source d'énergie (acides gras des triglycérides.....).

1.1.2. Les apolipoprotéines : jouent un rôle essentiel non seulement en maintenant la structure des particules lipoprotéiques, mais aussi en dirigeant leur métabolisme en agissant comme protéine de reconnaissance pour diverses enzymes plasmatiques (rôle d'activation des enzymes du métabolisme des lipoprotéines : Lécithine cholestérol acyltransférase « LCAT » pour l'apolipoprotéine A-I et lipoprotéines lipase « LPL » pour l'apolipoprotéine C-II) et récepteurs membranaires cellulaires (rôle de reconnaissance des lipoprotéines par les récepteurs cellulaires : récepteurs E, B/E et A-I). Il y a 10 apolipoprotéines principales bien caractérisées et classées selon une nomenclature alphabétique (Tableau 14).

Tableau 14: Les principales apolipoprotéines (Beaudeux et Durand, 2011).

Apolipo-protéine	Concentration plasmatique (g/l)	Lieu de synthèse	fonction	Association aux lipoprotéines
A-I	1,0-1,2	Foie, Intestin	Activateur de la LCAT, Efflux de cholestérol	HDL, Chylomicrons
A-II	0,3-0,5	Foie, Intestin	-	HDL, Chylomicrons
A-IV	0,16	Intestin	Efflux de cholestérol	Chylomicrons, LDL
B-100	0,7-1,00	Foie	Sécrétion des VLDL, ligand du récepteur LDL	VLDL, IDL, LDL
B-48	0,03-0,05	Intestin	Sécrétion des chylomicrons	Chylomicrons
CI	0,04-0,06	Foie	Activateur de la LCAT	Chylomicrons, VLDL,HDL
CII	0,03-0,05	Foie	Activateur LPL	Chylomicrons, VLDL,HDL
CIII	0,12-0,14	Foie	Inhibiteur LPL	Chylomicrons, VLDL,HDL
D	0,06-0,07	Foie	Transport du cholestérol	Chylomicrons, HDL
E	0,03-0,05	Foie, Intestin Surrénale, Macrophage	Ligand du récepteur LDL et du récepteur des chylomicrons résiduels	IDL,Chylomicrons, VLDL,HDL

2. Métabolisme

On peut imaginer que le métabolisme des lipoprotéines (Figure 11) représente deux cycles interconnectés, l'un exogène et l'autre endogène, tous deux centrés sur le foie.

Deux enzymes clés sont impliquées dans le métabolisme des lipoprotéines, à savoir :

-La lipoprotéine lipase (LPL) libère des acides gras libres et du glycérol à partir des chylomicrons et des VLDL dans les tissus ;

- La lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) forme des esters de cholestérol à partir du cholestérol libre et d'acides gras.



2.1. Cycle exogène des lipides

Les lipides alimentaires sont absorbés dans l'intestin grêle et incorporés dans les chylomicrons qui sont sécrétés dans les vaisseaux lymphatiques et atteignent la circulation sanguine via le canal thoracique. Dans la circulation, les triglycérides sont graduellement éliminés de ces lipoprotéines par l'action de la lipoprotéine lipase, cette dernière est présente dans les capillaires de nombreux tissus, surtout le tissu adipeux et les muscles squelettiques. A mesure qu'il perd ses triglycérides, le chylomicron devient plus petit et moins volumineux, avec des plis de matériel de surface redondant, ces restes sont éliminés par le foie. Le cholestérol peut être utilisé par le foie pour former des composantes des membranes cellulaires ou des acides biliaires, ou peut être excrété dans la bile.

Le foie procure la seule voie par laquelle, le cholestérol est éliminé de l'organisme en quantités significatives.

2.2. Cycle endogène des lipides

Le foie synthétise des particules de VLDL qui subissent la même forme de délipidation que les chylomicrons, par l'action de la lipoprotéine lipase. Ceci aboutit à la formation d'une lipoprotéine de densité intermédiaire (IDL), qui devient une lipoprotéine de basse densité (LDL) lorsque la délipidation se poursuit. Les LDL peuvent être éliminées de la circulation par un récepteur des LDL de haute affinité ou par d'autres voies d'épuration qui sont considérées comme importantes aux fortes concentrations de LDL et comme la principale voie d'incorporation du cholestérol dans les plaques d'athérome.

Les particules de HDL dérivent du foie et de l'intestin, elles servent de navettes pour les esters de cholestérol, éliminant le cholestérol des tissus périphériques et le ramenant au foie. Les HDL sont captées directement par le foie ou indirectement, en étant transférées à d'autres lipoprotéines circulantes, qui retournent ensuite au foie. Ce processus est considéré comme antiathérogène et il est démontré qu'un taux élevé de HDL réduit les risques de maladies coronariennes.

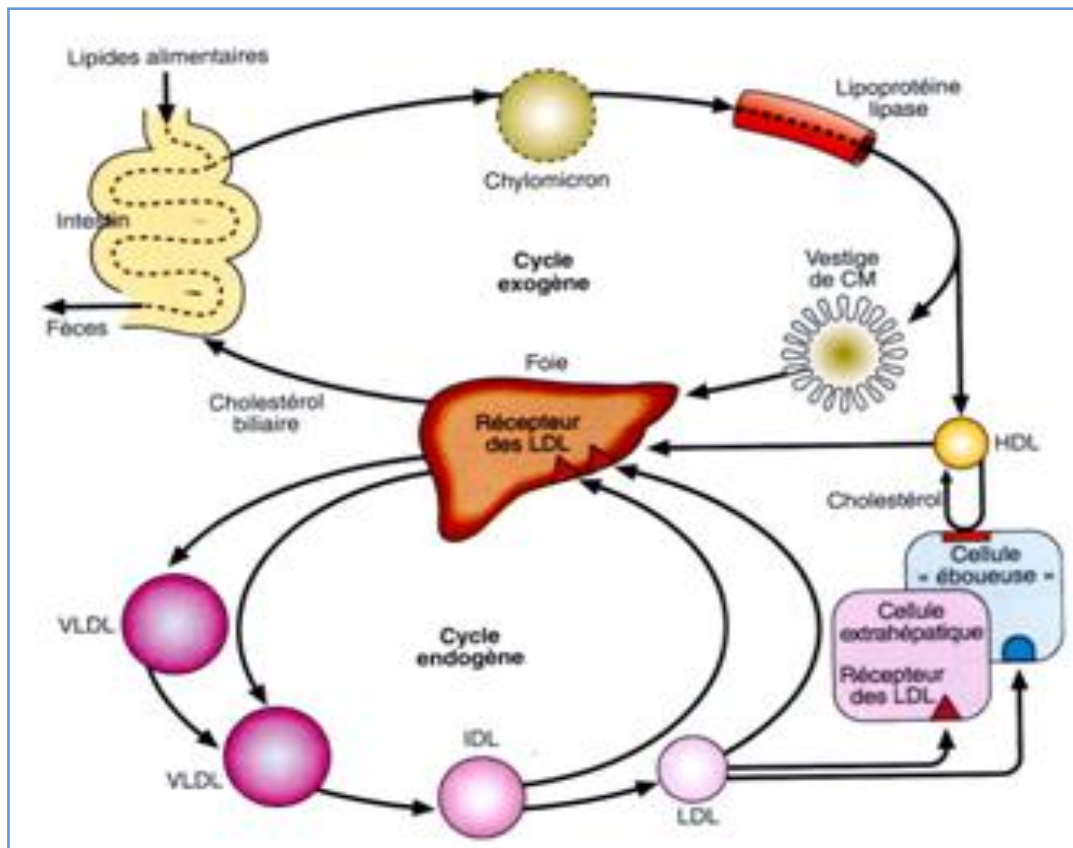


Figure 11 : Métabolisme des lipoprotéines (Gaw *et al.*, 2004).

3. Exploration

3.1. Aspect du sérum

L'aspect du sérum découle directement de l'aspect des lipoprotéines en solution :

les HDL et les LDL du fait de leur petite taille ne modifient pas la limpidité du sérum lorsque leur concentration est augmentée; au contraire, du fait de leur grande taille, les chylomicrons et les VLDL confèrent un aspect trouble quand ces fractions sont augmentées. En outre les chylomicrons, de part leur très faible densité, auront la propriété de remonter spontanément à la surface du sérum à + 4°C (test de crémage). Ainsi, un sérum opalescent ou lactescent peut correspondre à une augmentation des VLDL et/ou à un défaut d'épuration des chylomicrons (test de crémage positif). Un sérum d'aspect limpide traduit un bilan lipidique normal ou, en cas d'hyperlipoprotéinémie, une augmentation des LDL ou HDL.

3.2. Dosage du cholestérol total

Le cholestérol total est actuellement dosé dans la totalité des laboratoires d'analyse par des méthodes enzymatiques, utilisant une estérase et une oxydase : la cholestérol estérase réalise l'hydrolyse des esters du cholestérol puis la cholestérol oxydase effectue l'oxydation du cholestérol non estérifié, pour aboutir à la formation de peroxyde d'hydrogène. La quantification du peroxyde d'hydrogène est le plus souvent effectuée, en présence de peroxydase et d'un chromogène phénolique par la réaction de Trinder.

Taux normaux < 2 g/l

3.3. Dosage des triglycérides

Les triglycérides sont dosés par des méthodes enzymatiques dans tous les laboratoires.

Toutes les méthodes enzymatiques de dosage des triglycérides reposent sur la mesure du glycérol libéré après action d'une lipase. La réaction de dosage du glycérol consiste :

- Soit à mesurer l'absorbance à 340 nm après action d'une glycérol-deshydrogénase en présence de NADH, H^+ .
- Soit à procéder à une mesure colorimétrique après action d'une glycérol kinase et d'une glycérol phosphate oxydase, aboutissant à la formation de peroxyde d'hydrogène apprécie (comme précédemment pour le cholestérol, par la réaction de Trinder).

Ces techniques mesurent donc le glycérol provenant de l'hydrolyse des triglycérides, mais aussi le glycérol présent sous forme libre dans le plasma.

Taux normaux < 1,50 g/l

3.4. Dosage du cholestérol HDL

Il s'effectue après précipitation sélective des LDL et VLDL avec un complexe polyanion-cation ou avec l'acide phosphotungstique en présence de cations bivalents.

Le cholestérol HDL est dosé par technique enzymatique sur le surnageant résultant de la centrifugation du précipité. Les triglycérides interfèrent sur cette précipitation à partir de 4 mmol/l.

- Des dosages directs du cholestérol HDL sont actuellement proposés, le principe est de bloquer les autres lipoprotéines avec des anticorps anti apo B ou des polyanions puis le dosage du cholestérol HDL est effectué par méthode enzymatique.

Taux normaux hommes > 0.45 g/l, femmes > 0.55g/l

Le rapport cholestérol total/cholestérol HDL est utilisé comme facteur de risque cardiovasculaire et doit être inférieur à 4,9 chez l'homme et à 4,2 chez la femme.

3.5. Évaluation du cholestérol des LDL

Plus difficile à pratiquer, le dosage par précipitation sélective des LDL est peu utilisé. Un dosage direct vient d'être proposé en utilisant un détergent qui solubilise les VLDL et les HDL puis les enzymes cholestérol estérase et oxydase oxydent le cholestérol HDL et VLDL en produit inactif incolore. Un deuxième réactif avec détergent, enzymes et chromogène permettra le dosage direct du cholestérol LDL.

La formule de Friedewald permet de calculer le cholestérol LDL à condition que les triglycérides soient inférieurs à 4 mmol/l (3,5 g/l).

Pour des concentrations exprimées en mmol/l:

$$\text{Chol. LDL} = \text{Chol. total} - (\text{Chol. HDL} + \text{TG}/2,2)$$

Pour des concentrations exprimées en g/l :

$$\text{Chol. LDL} = \text{Chol. Total} - (\text{Chol. HDL} + \text{TG}/5,6).$$

Taux normaux < 1.6 g /l.

3.6. Dosage des apolipoprotéines A-I et B

Les deux principales apoprotéines peuvent être dosées par différentes techniques immunologiques avec antisérums spécifiques et étalons purifiés.

- Les méthodes automatisées utilisées sont l'immunonéphélométrie et l'immunoturbidimétrie.
- Mais pour les petites séries de dosages, l'immunodiffusion radiale, l'électroimmunodiffusion et l'immunoenzymologie sont aussi pratiquées.

Taux normaux : apoAI > 1.10 g / l et apoB = 0.6 -1.40 g / l

3.7. Dosage de la Lp(a)

Constitue un facteur de risque athérogène indépendant des autres facteurs de risque lorsque la concentration plasmatique de cette lipoprotéine est supérieure à 0,3g/l.

Comme pour les autres apolipoprotéines, le dosage de la Lp(a) est réalisé par la mise en œuvre de méthodes immunologiques utilisant un anticorps anti-apo(a) spécifique de cette lipoprotéine.

Taux normaux < 0,3 g/l.

3.8. Fractionnement des lipoprotéines

3.8.1. Ultracentrifugation de flottation

L'importante fraction lipidique qui entre dans la constitution des lipoprotéines - jamais inférieure à 50% - leur confère une densité exceptionnellement faible. Elle est en effet, inférieure à 1,21 alors que les protéines plasmatiques ont une densité équivalente à 1,35.

Si avant l'ultracentrifugation la densité du milieu est abaissée à 1,20, les lipoprotéines vont venir « flotter ».

Dans de telles conditions, on peut distinguer de la surface vers le fond du tube, en fonction de leur densité, quatre groupes principaux de lipoprotéines :

- CM ou chylomicrons
- VLDL ou very low density lipoproteins
- LDL ou low density lipoproteins (Tableau 15)

Tableau 15: Ultracentrifugation de flottation (Haslett *et al.*, 2000).

Surface	→			Fond	
CM	VLDL	LDL	HDL		
98	90	80	50	% en lipides	↘
2	10	20	50	% en protéines	↗
750-10 000 Å	500 Å	200 Å	100 Å	Taille	↘

On constate que des chylomicrons aux HDL, la taille des particules et leur pourcentage en lipides diminuent, et que leur pourcentage en protéines, donc leur densité, augmente.

Cette technique, qui illustre une des applications de la technique d'ultracentrifugation, a permis le fractionnement de ces particules et leur isolement à l'état pur.

3.8.2. Electrophorèse

Les lipoprotéines sont séparées en fonction de leur charge (proportion de protéines) et sont révélées par un colorant spécifique des lipides. Il s'agit d'une analyse qualitative ou pseudo-quantitative des lipoprotéines. L'intérêt de cette analyse, est d'aider dans des interprétations délicates de l'exploration des lipoprotéines et notamment en cas d'hypertriglycémie, pour la mise en évidence d'IDL et de lipoprotéines particulières Lp(a).

4. Pathologies du métabolisme des lipoprotéines

Il existe plusieurs maladies héréditaires rares, associées entre autres à une accumulation tissulaire des lipides, et d'autres caractérisées par une diminution des concentrations plasmatiques de certaines classes de lipoprotéines. Cependant, les plus fréquentes sont les hyperlipidémies.

4.1. Les hyperlipidémies

Fréquentes, elles peuvent être primaires, ne pouvant être reliées à une maladie sous-jacente causale identifiable, ou secondaire, dues à certaines autres affections (Tableau 16). Ces dernières disparaissent habituellement quand l'affection sous-jacente est traitée.

Tableau 16 : Causes fréquentes d'hyperlipidémie secondaire (Haslett *et al.*, 2000)

Maladies	Anomalie lipidique et lipoprotéinique dominante
Diabète sucré	Triglycérides et VLDL augmentés; HDL basses
Insuffisance rénale chronique	
Médicaments P.ex. thiazides Antagonistes des β-adrénorécepteurs Œstrogénothérapie substitutive	Triglycérides et VLDL augmentés ; HDL Basse Triglycérides et HDL augmentés
Alcoolisme	Triglycérides et VLDL élevés, HDL élevés
Hypothyroïdies Syndrome néphrotique	Cholestérol et LDL élevés

4.1.1. Hyperlipidémies primaires

Classification

Les hyperlipidémies sont habituellement classées, selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé (OMS), sur la base des travaux de Fredrickson (Tableau 17). Il s'agit d'une classification phénotypique, reposant sur l'observation d'anomalies des lipoprotéines, mais elle ne permet pas d'identifier le(s) défaut (s) moléculaire(s) ou génétique(s) responsable(s) de ces affections.

Tableau 17 : Classification des dyslipoprotéinémies familiales selon Fredrickson (Beaudeux et Durand, 2011)

Type de la dyslipidémie	Caractéristiques biochimiques	Fraction lipoprotéinique augmentée
I (hypertriglycémie exogène)	Sérum lactescent (crémage) ; cholestérol normal ou légèrement augmenté et triglycérides augmentés + à ++	Chylomicrons
IIa (Hypercholestérolémie essentielle)	Sérum claire à jeun ; cholestérol augmenté, triglycérides normaux	LDL
IIb (hyperlipidémie mixte ou combinée)	Sérum opalescent à jeun ; cholestérol et triglycérides augmentés	LDL et VLDL
III (dysbetalipoprotéinémie)	Sérum opalescent à jeun ; cholestérol et triglycérides augmentés	IDL
IV (hypertriglycémie endogène)	Sérum opalescent à jeun ; cholestérol normal ou modérément élevé et triglycérides augmentés	VLDL
V (hypertriglycémie mixte)	Sérum opalescent à lactescent ; cholestérol normal ou légèrement augmenté et triglycérides augmentés	Chylomicrons et VLDL

Toutes les hyperlipidémies sont dues à une interaction complexe entre une prédisposition génétique et des facteurs alimentaires. Deux d'entre elles l'hypercholestérolémie familiale et l'hyperlipidémie familiale mixte

4.1.1.1. Hypercholestérolémie familiale

C'est une affection autosomique dominante fréquente, due à un défaut du gène du récepteur des LDL (plus de 150 défauts ont été à ce jour identifier). Une mutation de l'apo B₁₀₀ (appelée défaut B3500, car l'acide aminé 3500 est changé) produit le même tableau clinique, car la protéine mutante ne peut plus se lier au récepteur des LDL. Les patients peuvent développer des dépôts tissulaires de cholestérol au niveau des yeux (xanthélasma, arc cornéen), des dépôts tendineux (xanthomes tendineux), bien que la première manifestation de la maladie soit souvent un infarctus du myocarde à un âge anormalement jeune. Environ 50% des sujets atteints auront un infarctus du myocarde avant 50 ans.



4.1.1.2. Hyperlipidémie familiale combinée (mixte)

Cette affection héréditaire fréquente, dont l'origine génétique n'est pas certaine, est caractérisée par la survenue d'une hypercholestérolémie (LDL élevées), d'une hypertriglycéridémie (VLDL élevées) et parfois des deux en même temps, chez différents membres d'une même famille. Ce problème dû à l'association d'une hyperproduction hépatique de particules de VLDL et/ou de LDL contenant B₁₀₀ et d'un déficit partiel de la lipolyse des triglycérides.

Le cholestérol des HDL plasmatique est par conséquent bas en général. Des taux élevés de triglycérides et des taux bas de HDL sont souvent associés à une résistance à l'insuline et à une hypertension, déterminant un ensemble d'affections à très haut risque de maladies macro-vasculaires, appelées syndrome métabolique ou « syndrome X »

4.2. Les hypolipoprotéinémies

Il s'agit de trois déficits héréditaires

4.2.1. Abêtalipoprotéinémie

Dans l'Abêtalipoprotéinémie, il y a un déficit de la synthèse de l'apoB ; dans le plasma, il n'y a ni chylomicron, ni VLDL, ni LDL, il en résulte une malabsorption des graisses, une acanthocytose, une rétinite pigmentaire et une neuropathie avec ataxie.

4.2.2. Hypobêtalipoprotéinémie

Le déficit en apo B est ici partiel; les chylomicrons, les VLDL et LDL sont présents, mais à faibles concentrations.

4.2.3. Maladies de Tangier

La maladie de Tangier, est liée au défaut de production des particules de HDL contenant l'apoprotéine A. De ce fait, le transport du cholestérol au foie peut être entravé, et les esters du cholestérol s'accumulent en des sites périphériques inhabituels, dans le système réticulo-endothélial (les amygdales, les ganglions lymphatiques intestinaux) et dans la cornée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AGA Institute Technical Review on Acute Pancreatitis. *Gastroenterology*, 2007; **132**: 2022–2044

Beaudeux J L, Durand G. Biochimie Médical Marqueurs actuels et perspectives. 2^{ème} édition, Lavoisier (Paris), 2011.

Bernard S. Révision accélérée en biochimie clinique. CID édition (Nantes), 1982.

Boirie B et Beaufrère. Métabolisme protéique. *Cah Nutr Diét*, 2005; **40** : 53

Boislevé B J. (2004). L'essentiel de la biologie médicale. 3^{ème} édition. www.sante-vivante.fr

Borel JP, Comment prescrire et interpréter un examen de biochimie. 2^{ème} édition, Maloine, 1985

Boutron A, Buffet C. Explorations biologiques des pancréatites aiguës. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Hépatologie, 7-007-B-28, 2008.

Brooks G A, Fahey T D, White T P. Exercise Physiology, deuxième édition, Mayfield Publishing Company, 1996; p.150

Burnier W G M and Waeber B. Hypertension and vitamin D: not again. *Rev Med Suisse*, 2011; **7** (278): 121–4.

Caquet R. 250 examens de laboratoire; 11^e édition. Elsevier Masson. 2010

Charrel M. Sémiologie Biochimique. Edition Ellipses (Paris), 1991.

Delanaye P, Krzesinski JM. Nouveautés à propos du métabolisme du phosphore. *Rev Med Liege*, 2005; **60** (3): 189-197.

Durand G, Beaudeux J L. Biochimie Médical Marqueurs actuels et perspectives. 1^{re} édition, EM inter, Lavoisier (Paris), 2008.

Gaw A, Murphy MJ, Cowan RA, O'Reilly DJ, Stewart MJ, Shepherd J. Biochimie clinique. Elsevier SAS (Paris), 2004.

Gerrier P. Précis de biopathologie analyses médicales spécialisées. Biomnis, 2013.

Gilles C, Moley M, Benlakhal M, Bousquet B, Le Bricon T. Séparation électrophorétique des isoenzymes de la phosphatase alcaline par le kit hydragel 15 Iso-PAL. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 2002 ; **17** : 395-400.

Haslett G, Chilvers ER, Hunter JAA, Boon NA. Médecine interne. Principe et pratique. Edition Maloine (Paris), 2000.

Houssel P. Phosphatases alcalines. EMC - Traité de Médecine Akos 2012; **7**(4):1-5

Ichai C, Cariou A, Léone M, Veber B, Barnoud D. Contrôle de la glycémie en réanimation et en anesthésie. *Réanimation*, 2009 ; **18**: 470- 476

Idelman S et Verdeti J. Endocrinologie et communications cellulaires. EDP Sciences, 2000.

Janssens G. Répertoire d'analyses de biologie clinique. ULB, 2015.

Janssens L, Krzesinski JM. Comment j'explore les troubles de la calcémie. *Rev Med Liege*, 1999; **54** : 764-769

Lévy P. Amylases et lipases. *Hepato Gastro* 2013; **20**: 650-655.

Lévy P. Conduite à tenir devant une élévation des enzymes pancréatiques de découverte fortuite. *Gastroenterol Clin Biol*, 2006; **30**: 421-426

Lieber CH. (1960) Interet Diagnostique Du Dosage De Quelques Enzymes Sanguins, *Acta Clinica Belgica*, 1960 ; **15**(6): 547-562

Marshall WJ et Bangert SK. Biochimie médicale physiopathologie et diagnostic. Elsevier SAS (paris), 2005.

Marzouk S et Deom A. Dosage du calcium et du phosphate. Fiche technique 23. Centre Suisse de contrôle de qualité, 2009.

Métais P, Agneray G, Férard G, Fruchard JC, Jardillier JC, Revol A, Siest G, Stahl A. Biochimie clinique. Edition SIMEP (Villeurbanne), 1979.

Payen J L, Robic M A. Conduite à tenir devant une élévation des gamma-glutamyl transférases. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Hépatologie, 7-007-B-24, 2007.

Pignel R, Bedouet A. Bilan Biologique et Biochimique (Examens de Laboratoire). F.C.O.P, 2008

Pirotte BF, Rassenfosse M, Collin M, Devoeght A, Moutschen M, Cavalier E. Rôle de la vitamine D dans l'infection par le VIH : revue des connaissances actuelles. *Rev Med Liège*, 2013; **68** (1) : 25-31

Rouvellat C, Chourrout P, Escourolle H, Hamdi H. Hypoglycémies répétées et inexplicables chez un patient diabétique traité par analogue de l'insuline. *Ann Biol Clin*, 2012; **70** (3): 335-40.

Siest G, Henny J, Schiele F (sds) : Interprétation des examens de laboratoire. Valeurs de référence et variations biologiques. Basel, Karger, 1981,pp 244-257

Valdiguié P. Biochimie clinique. 2^{ème} édition inter médicales nationales (Cachan cedex), 2000.

Zahiri K, Hachim K, Benghanem MG, Fatihi E, Ramdani B, Zaid D. Proteinurie orientation diagnostique. *Médecine du Maghreb*, 2001; **86**: p12