

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A/Mira de Bejaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Troncs commun

Cours de Biologie Métabolique et Biochimie Appliquée au Domaine Médical

Cours destiné aux étudiants Master 2 Biochimie appliquée

Présenté par: Dr. Sihem BENSALÉM-BOURNINE

Enseignante-Chercheur « Maître de Conférences B »

Sommaire

I. Le métabolisme physiopathologique	1
I.1. Métabolisme des glucides	1
I.1.1. Glycémie	1
I.1.2. Origine du glucose sanguin	2
<i>I.1.2.1. Origine exogène du glucose</i>	<i>2</i>
<i>I.1.2.2. Origine endogène du glucose</i>	<i>2</i>
I.1.3. Transport du glucose	2
I.1.4. Régulation de la glycémie	4
<i>I.1.4.1. Sécrétion de l'insuline en réponse à l'augmentation de la glycémie</i>	<i>4</i>
<i>I.1.4.2. Mécanisme d'action de l'insuline</i>	<i>6</i>
I.1.5. Métabolisme pathologique du glucose	6
<i>I.1.5.1. Le diabète sucré de type 1</i>	<i>7</i>
<i>I.1.5.2. Le diabète sucré de type 2</i>	<i>8</i>
I.2. Métabolisme des lipides	8
I.2.1. Structure des lipoprotéines	8
I.2.2. Classe des lipoprotéines	9
I.2.3. Métabolisme des LDL	10
I.2.4. Métabolisme des HDL	11
I.2.5. Métabolisme des chylomicrons	12
I.2.6. Métabolisme des VLDL	13
I.2.7. Métabolisme pathologique des lipidiques	14
<i>I.2.7.1. Hyperlipidémies secondaires</i>	<i>14</i>
<i>I.2.7.2. Hyperlipidémies primitives</i>	<i>14</i>
a) Hypercholestérolémie familiale	14
b) Hypercholestérolémie « commune » (Polygénique)	14
c) Dysbetalipoprotéimie familiale	15
d) Hyperchylomicronémie familiale	15
e) Hypertriglycéridémie familiale	15
f) Hyperlipidémie combinée familiale	16
I.3. Métabolisme des oligoéléments	16
I.3.1. Métabolisme du fer	16

1.3.1.1. Rôle physiologique du fer.....	16
1.3.1.2. Cycle du fer et absorption.....	17
1.3.1.3. Absorption du fer héminique.....	17
1.3.1.4. Absorption du fer ferrique.....	17
1.3.1.4. Régulation du métabolisme du fer.....	19
a) Mécanismes d'action de l'hepcidine.....	19
1.3.1.5. Troubles du métabolisme du fer.....	20
a) Carence en fer (anémie ferriprive).....	20
I.3.2. Métabolisme du magnésium.....	21
1.3.2.1. Rôle physiologique du magnésium.....	21
1.3.2.2. Absorption intestinale du magnésium.....	21
1.3.2.3. Troubles du métabolisme du magnésium.....	22
a) Carence en magnésium et hypomagnésémie.....	22
b) Hypermagnésémie.....	23
I.3.3. Métabolisme du cuivre.....	23
1.3.3.1. Rôle physiologique du cuivre.....	23
1.3.3.2. Absorption et excrétion du cuivre.....	24
1.3.3.3. Troubles du métabolisme du cuivre.....	24
a) Carence en cuivre et hypocuprémie.....	24
b) Accumulation du cuivre et hypercuprémie.....	25
I.4. Métabolisme phosphocalcique.....	25
I.4.1. Métabolisme du calcium.....	26
1.4.1.1. Rôle physiologique et métabolisme du calcium.....	26
1.4.1.2. Absorption intestinale du calcium.....	26
1.4.1.4. Régulation du métabolisme du calcium.....	28
a) Hormone parathyroïdienne et homéostasie calcique.....	28
b) Vitamine D et homéostasie calcique.....	29
c) Calcitonine et homéostasie calcique.....	30
1.4.1.5. Troubles du métabolisme du calcium.....	31
a) Hypercalcémie.....	31
b) Hypocalcémie.....	31
I.4.2. Métabolisme du phosphate.....	32
1.4.2.1. Rôle physiologique du phosphate.....	32
1.4.2.2. Absorption intestinale du phosphate.....	32

1.4.2.3. Homéostasie du métabolisme du phosphate.....	34
1.4.2.4. Troubles du métabolisme du phosphate.....	36
a) Hypophosphatémie.....	36
II. Méthodes d'exploration des marqueurs plasmatiques.....	38
II.1. Exploration de la glycorégulation.....	38
II.1.1. Auto-surveillance de la glycémie.....	38
II.1.1.1. Glucosurie.....	38
II.1.1.2. Glycémie.....	38
II.1.2. Épreuves dynamiques et dosages complémentaires.....	39
II.1.2.1. Hyperglycémie provoquée par voie orale.....	39
II.1.2.2. Hyperglycémie provoquée par voie veineuse.....	41
II.1.2.3. Hyperglycémies provoquées sensibilisées.....	42
a) Test à la cortisone glucose.....	42
b) Test à l'insuline glucose.....	42
II.1.2.4. Insulinémie.....	42
II.1.2.5. Dosage du peptide C. test au glucagon.....	43
II.1.2.6. Autres types d'examens.....	43
a) Protéines glyquées.....	43
b) Corps cétoniques urinaires et sanguins.....	45
II.2. Exploration des protéines plasmatiques.....	46
II.2.1. Protidémie.....	47
II.2.2. Types de protéines sériques.....	48
II.2.2.1. Pré-albumine.....	48
II.2.2.2. Albumine.....	48
a) Variations pathologique de l'albumine.....	49
II.2.2.3. Globulines.....	51
a) Alpha globulines.....	51
b) Beta globulines.....	55
c) Gamma globulines.....	56
II.2.3. Méthodes d'analyse des protéines sériques.....	61
II.2.3.1. Méthodes d'analyse de protéines sériques totales.....	61
a) Méthodes d'analyse chimique.....	61
b) Méthodes d'analyse physiques.....	62
II.2.3.2. Méthodes d'analyse de protéines par fractionnement.....	63

<i>II.2.3.3. Electrophorèse des protéines sériques</i>	64
a) Principe de l'électrophorèse	64
b) Électrophorèse sur gel d'agarose et sur gel de cellulose	65
c) Électrophorèse sur gel de polyacrylamide.....	66
<i>II.2.3.4. Méthodes d'analyse spécifiques des protéines sériques</i>	67
II.3. Les enzymes sériques	68
II.3.1. La phosphatase alcaline	68
<i>II.3.1.1. Variations pathologiques de la phosphatase alcaline</i>	68
<i>II.3.1.1. Détermination de l'activité enzymatique des phosphatases alcalines</i>	69
II.3.2. Les transaminases	69
<i>II.3.2.1. Variations pathologiques des transaminases</i>	70
<i>II.3.2.2 Détermination de l'activité enzymatique des transaminases</i>	70
a) Détermination de l'activité de la TGO.....	70
b) Détermination de l'activité de la TGP.....	70
II.3.3. Détermination de l'activité de lactate déshydrogénase	71
<i>II.3.3.1. Variations pathologiques de la LDH</i>	71
II.3.4. Détermination de l'activité enzymatique de la créatine kinase	71
II.3.5. Détermination de l'activité enzymatique de lipases	72
<i>II.3.5.1. Variations pathologiques de la lipase</i>	72
Références bibliographiques	73

Avant-propos

La biochimie appliquée au domaine médical appelée également la biochimie clinique, chimie pathologique ou chimie clinique; est une branche de la biologie médicale dans laquelle les méthodes de la biochimie sont appliquées au diagnostic des pathologies humaines. Elle s'intéresse aux études des fluides corporels ou bien des liquides biologiques tels que le sang et l'urine. Cependant, il est possible d'analyser d'autres liquides biologiques, à savoir le suc gastrique et le liquide céphalorachidien. Les investigations biochimiques interviennent à différents niveaux dans toutes les branches de la médecine clinique. Les résultats de ces tests peuvent servir pour le diagnostic, la caractérisation de l'origine physiopathologique d'une maladie ainsi que la surveillance du traitement. Le laboratoire de biochimie est souvent partie prenante dans les recherches sur la base biochimiques des maladies et dans les essais cliniques de nouveaux médicaments.

L'organisation de ce présent cours permet une approche souple des différents sujets de la Biochimie Clinique, qui s'adresse particulièrement aux étudiants de 2^{ème} cycle universitaire en biochimie, pharmacotoxicologie ainsi qu'aux étudiants de médecine et de pharmacie ayant des connaissances en biochimie, biochimie métabolique, biologie clinique, physiologie, physiopathologie, génétique et biologie moléculaire. Ce document pédagogique est organisé en deux parties : la première partie s'intéresse à des concepts sur les métabolismes physiopathologiques, qui développe entre autre le métabolisme des glucides et des lipides (glycémie, glycosurie, paramètres lipidiques), le métabolisme des oligo-éléments (Fe, Mg et le cuivre) ainsi que le métabolisme phosphocalcique. Une deuxième partie sera consacrée à l'étude des méthodes d'exploration des marqueurs plasmatiques tels que les protéines et les enzymes plasmatiques.

Ce cours est aussi enrichi par des travaux dirigés sous forme des exercices d'application qui traitent les différentes méthodes d'exploration des métabolismes physiopathologiques ainsi que des protéines plasmatiques. Des cas cliniques ont été aussi proposés pour les étudiants afin qu'ils puissent les traiter et les présenter oralement.

Nous espérons que ce cours sera un bon support pédagogique non seulement pour nos étudiants mais aussi pour les chercheurs et techniciens de laboratoires en Biochimie Clinique.

I. Le métabolisme physiopathologique

Le métabolisme correspond à l'ensemble des réactions biochimiques qui dégradent, synthétisent ou bien interconvertissent des biomolécules à l'intérieur des cellules vivantes. La connaissance des voies métaboliques de base et de leurs interrelations est essentielle pour comprendre à la fois la fonction normale et la base du métabolisme pathologique humain. Le métabolisme se produit progressivement, catalysé par des enzymes. Le terme « voie métabolique » désigne un ensemble particulier de réactions qui accomplit une ou plusieurs fonctions. La voie de la gluconéogenèse ou la synthèse du glucose, par exemple, fonctionne principalement pendant une période de jeûne. Sa fonction principale est de maintenir la concentration du glucose dans la circulation sanguine à des taux qui sont requis par les tissus glucodépendants citant le cerveau et les globules rouges. Un autre exemple de voie métabolique est le cycle de l'acide tricarboxylique (ATC), qui oxyde les deux carbones de l'acétyl coenzyme A (acétyl-CoA) au CO₂ et à l'eau, complétant ainsi le catabolisme des glucides, des graisses (acides gras) et des protéines (acides aminés) (Bhagavan 2002).

I.1. Métabolisme des glucides

Face à des conditions physiologiques très variées tels que le jeûne ou l'exercice physique, tendent à réduire la glycémie. Suite à la consommation d'un repas glucidique, le corps humain active des mécanismes hormonaux qui fonctionnent pour maintenir la glycémie dans des limites normales (70 à 110 mg/dl). L'hypoglycémie stimule la libération d'hormones gluconéogéniques comme le glucagon et l'hydrocortisone, qui favorisent la dégradation du glycogène du foie et la synthèse du glucose dans ce dernier (gluconéogenèse). Cela, active la libération du glucose dans le sang. D'autre part, l'hyperglycémie stimule la libération de l'insuline, favorisant ainsi l'absorption du glucose et son utilisation ; son stockage sous forme de glycogène et sa conversion en graisse (Bhagavan 2002, Klepper 2013).

I.1.1. Glycémie

La glycémie est la concentration du glucose dans le sang, qui constitue l'une des constantes biologiques fondamentales située entre 4,45 et 5,55 mmol/l (0,8 et 1,10 g/l) soit 5 mmol/l en moyenne.

I.1.2. Origine du glucose sanguin

Le glucose est un substrat énergétique essentiel. Les sources du glucose sont présentées par les glucides alimentaires et la production endogène.

I.1.2.1. Origine exogène du glucose

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.

Les glucides alimentaires sont de source principalement végétale. Les apports sont complétés par les laitages et les sucres raffinés. Une partie des glucides est apportée sous une forme simple soit le fructose contenu dans les fruits et/ou le galactose du lait. Cependant, la plupart des sucres simples sont représentés par les di-osides tels que le saccharose et le lactose. Une autre partie des glucides, en particulier ceux contenus dans les pommes de terre, les féculents, est apportée sous forme de polyosides (amidon). Ils devront être hydrolysés avant leur absorption par l'intestin.

I.1.2.2. Origine endogène du glucose

La production du glucose endogène, principalement hépatique, est obtenue à partir de la glycogénolyse (libération du glucose stocké sous forme de glycogène) et à partir de la néoglucogenèse (synthèse du glucose à partir du lactate, du glycérol et de la plupart des acides aminés).

I.1.3. Transport du glucose

Le glucose est une molécule hautement polaire et ne peut, dès lors, traverser les membranes phospholipidiques. Deux classes de transporteurs de glucose existent dans le corps humain (figure 01): la première assure un transport facilité, c'est à dire suivant le gradient (GLUT-glucose transporter), il existe 11 isoformes caractérisés (GLUT1 à GLUT12). Ces transporteurs diffèrent en termes de distribution cellulaire, de caractéristiques cinétiques et de spécificité relative aux hexoses transportés ; par exemple, GLUT2 transporte non seulement le glucose mais aussi le fructose et le galactose alors que GLUT5 transporte spécifiquement le fructose (tableau I). Par contre, la deuxième classe assure un transport actif, ces transporteurs réalisant un symport Na^+ /Glucose (SGLT-sodiumglucose linked transporter). En effet, les SGLT utilisent un gradient transmembranaire de Na^+ pour faire pénétrer spécifiquement le glucose dans la cellule. Il s'agit plus précisément d'un transport secondairement actif qui dépend de l'activité de la pompe Na^+/K^+ ATPase présente dans les cellules. Ils sont

essentiellement présents au niveau de l'intestin et du rein, là où le glucose doit être transporté contre le gradient (absorption intestinale et réabsorption rénale). Au niveau du rein et en condition physiologique, ces transporteurs assurent la réabsorption de la totalité du glucose présent dans les tubules. Quatre-vingt-dix pourcent (90 %) du glucose est réabsorbé par le SGLT de type 2 (Sepulchre *et al.* 2013).

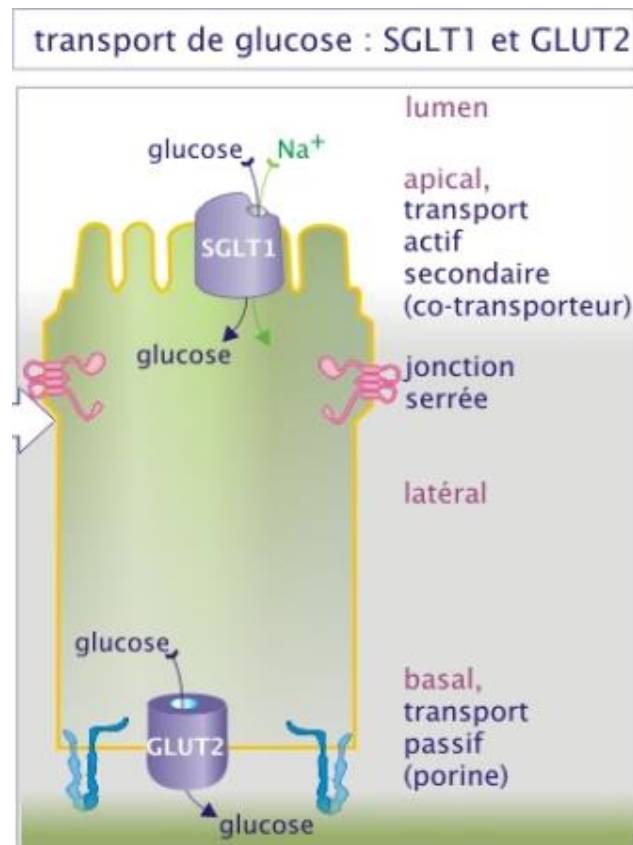


Figure 01 : Transport du glucose dans les entérocytes.

Le tableau I résume quelques transporteurs du glucose, leur localisation tissulaire, leur affinité pour le glucose ainsi que leur sensibilité à l'insuline.

Tableau I : Exemples de transporteur de glucose, leur localisation tissulaire, leur affinité pour le glucose ainsi que leur réponse à l'insuline.

	GLUT1-GLUT3	GLUT2	GLUT4
Localisation tissulaire	Ubiquitaire surtout: GR, neurones et fibroblastes	Foie, pancréas (cellules β)	Muscles striés, cœur, tissus adipeux
Affinité pour le glucose	Moyennes	Faible	Forte
Dépendance à l'insuline	Non insulino-dépendant GLUT1 légèrement sensible	Non insulino-dépendant	Insulino-dépendant

I.1.4. Régulation de la glycémie

I.1.4.1. Sécrétion de l'insuline en réponse à l'augmentation de la glycémie

L'insuline est un polypeptide de 5,8 kDa, produite par le pancréas et sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans. L'insuline est constituée de deux chaînes : la chaîne A (21 acides aminés) et la chaîne B (30 acides aminés), réunies par deux ponts disulfures qui relient les cystéines 7 et 20 de la chaîne A avec respectivement les cystéines 7 et 19 de la chaîne B.

La pro-insuline est composée des deux chaînes A et B de la molécule de l'insuline et d'un troisième polypeptide, de connexion, le peptide C (33 acides aminés, PM environ 3 kDa). Ce dernier, relie l'extrémité N terminale de la chaîne A à l'extrémité C terminale de la chaîne B (figure 02).

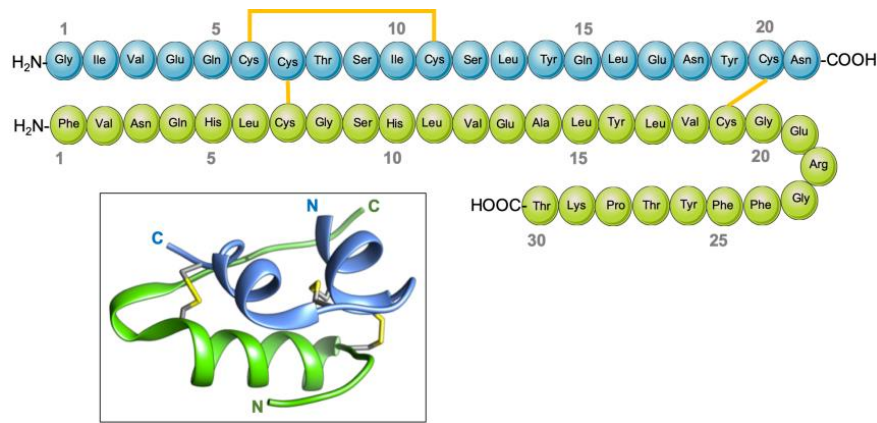


Figure 02 : Structure de l'insuline.

Le taux de glucose sanguin élevé (hyperglycémie) va entraîner son entrée massive à travers les GLUT2 cellulaires. Une fois que le glucose entre dans la cellule, il doit être piégé autrement, il se diffusera dans le sang. Toutes les cellules, y compris les hépatocytes, contiennent l'hexokinase enzyme qui phosphoryle le glucose ; le piégeant ainsi dans le cytosol. La phosphorylation du glucose sert également à activer le sucre pour son métabolisme. Du moment que le glucose est piégé dans les hépatocytes, la concentration du glucose 6-phosphate augmente inhibant ainsi l'hexokinase. L'énergie (ATP) produite par le métabolisme du glucose stimule les canaux de potassium (canaux K⁺-ATP sensible) et entraîne par conséquent une dépolarisation de la membrane plasmique par l'entrée massive du calcium. Le calcium intracellulaire stimule ainsi les granules contenant de l'insuline (figure 03) permettant sa sécrétion extracellulaire (Tripathy *et al.* 2000).

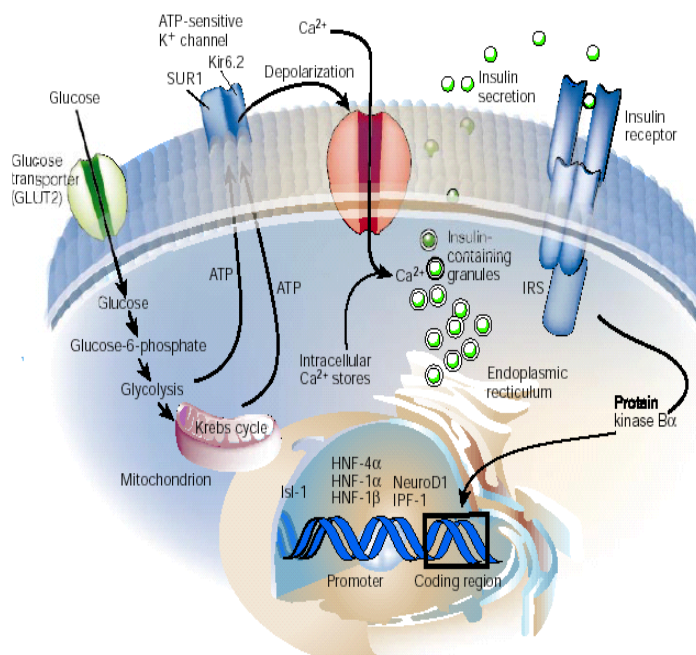


Figure 03 : Sécrétion de l'insuline en rapport à une glycémie élevée.

1.1.4.2. Mécanisme d'action de l'insuline

En réponse à de nombreux stimuli, principalement le glucose, l'insuline est sécrétée par les cellules β des ilots de Langerhans avec une durée de vie de quelques minutes. En effet, elle est rapidement dégradée après fixation sur ses récepteurs particulièrement au niveau hépatique. L'effet de l'insuline sur le métabolisme glucido-lipidique est connu depuis longtemps et porte en priorité sur les trois organes cibles à savoir : le foie, le muscle et le tissu adipeux.

Concernant le métabolisme glucidique, l'insuline exerce un rôle essentiel dans la mise en réserve et l'oxydation du glucose absorbé au niveau de l'intestin après les repas. Elle favorise la synthèse de glycogène au niveau hépatique et dans les muscles en agissant sur le transport du glucose (dans les muscles) et la glycogène synthétase. Elle inhibe la production hépatique du glucose provenant de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse, stimulées dans les périodes post-absorptives, par le glucagon. Par contre dans le métabolisme lipidique, l'insuline joue un rôle principalement anabolisant. Elle favorise la synthèse de triglycérides dans le foie à partir des glucides alimentaires et le stockage des triglycérides portés par les VLDL et les chylomicrons, dans le tissu adipeux et le muscle. Cela en rapport à l'activation de la lipoprotéine lipase et de la lipogenèse ainsi que par l'inhibition de la lipolyse adipocytaire. L'insuline exerce également un effet anabolisant sur le métabolisme protéique en favorisant la synthèse protéique et en inhibant la protéolyse au niveau du muscle (Capeau *et al.* 1996).

1.1.5. Métabolisme pathologique du glucose

Le diabète sucré est un trouble métabolique hétérogène et multifactoriel qui est caractérisé par une hyperglycémie chronique. Cette pathologie est causée en partie par une sécrétion insuffisante de l'insuline afin de maintenir les taux physiologiques du glucose dans le sang (Welters *et al.* 2014).

D'une part, le diabète peut être diagnostiqué on se basant sur des symptômes classiques à savoir : une polyurie (production excessive d'urine), polydipsie (une soif excessive) qui est due à la diurèse osmotique suite à la glucosurie. La présence du glucose dans les urines est causée par des taux de glucose dans le sang qui dépassent la capacité de réabsorber le glucose des urines primaires par les transporteurs tubulaires rénaux à sodium-glucose (SGLTs). D'autre part, les critères de l'organisation mondiale de la santé (OMS) définissent le diabète comme un taux de glycémie à jeun égal ou supérieur à 7 mmol/l. Aussi, comme un taux égal ou supérieur à 11,1 mmol/l 2 h après l'épreuve de glycémie au cours d'un test oral de tolérance au glucose (glucose plasmatique de 2 h).

La fédération internationale du diabète (FID) rapporte que plus de 400 millions de personnes sont atteintes du diabète dans le monde et cette incidence continue à augmenter chez les adultes et les enfants.

Le trouble métabolique comprend deux classes majeures : le diabète sucré de type 1 (DST1), aussi connu sous le nom de diabète juvénile qui représente jusqu'à 10 % de tous les cas. Il y a aussi le diabète sucré de type 2 (DST2), également connu sous le nom de diabète adulte qui représente environ 90 % de tous les cas.

Les autres catégories du diabète comprennent le diabète de type 3 subdivisé en formes monogéniques (appelé «diabète de la maturité touchant le sujet jeune », type 3A) et le diabète induit par les médicaments et les produits chimiques (type 3E). Le diabète de type 4 s'agit de l'apparition d'une intolérance au glucose pendant la grossesse, appelée diabète gestationnel. En effet, dans tous les types de diabète, une combinaison de prédisposition génétique et de facteurs environnementaux contribue à l'apparition de cette pathologie. En outre, tous ces types de diabètes induisent, à long terme, des complications communes du à des niveaux élevés du glucose dans le sang qui affectent particulièrement le système cardiovasculaire et nerveux (Welters *et al.* 2014).

1.1.5.1. Le diabète sucré de type 1

Le DST1 est considéré comme une maladie auto-immune, dans laquelle les cellules β productrices d'insuline sont détruites. En effet, plusieurs facteurs immunologiques, environnementaux et génétiques entraînent l'activation des cellules T CD4⁺ et CD8⁺ auto-réactives qui initient ainsi un processus inflammatoire appelé « insulite ». Ce phénomène est caractérisé par une activation des lymphocytes B générateurs des auto-anticorps et ainsi qu'une activation du système immunitaire inné. Une fois que la destruction des cellules β est initiée, plusieurs auto-antigènes des îlots sont libérés et déclenchent l'activation de nouvelles cellules T auto-réactives. Cela déclenche la production des auto-anticorps spécifiques des îlots. Ces derniers peuvent être détectés dans le sérum des individus présymptomatiques et peuvent, en combinaison avec une analyse génétique, prédire l'apparition du DST1. Ce diagnostic se situe en particulier chez les parents du premier degré des patients diabétiques et lorsque plusieurs anticorps sont présents et persistent au fil du temps. Le DST1 se manifeste cliniquement lorsque 80 à 95 % des cellules β sont détruites (Welters *et al.* 2014, Roep *et al.* 2020).

I.1.5.2. Le diabète sucré de type 2

La voie cruciale impliquée dans le développement du DST2 est la diminution de la réponse biologique à l'insuline (appelée la résistance périphérique à l'insuline). Cette résistance à l'insuline affecte différents organes tels que : le foie, le muscle et le tissu adipeux. La résistance hépatique à l'insuline implique une augmentation de la production du glucose endogène jouant un rôle clé dans le développement de l'hyperglycémie chez les patients présentant le DST2. Au début de la maladie, l'augmentation de la sécrétion d'insuline par les cellules β compense la résistance périphérique à l'insuline (phase hyperinsulinique). Cependant, au fil du temps, un dysfonctionnement des cellules β se développe et la sécrétion d'insuline diminue, entraînant finalement une hyperglycémie (phase hypoinsulinémique) (DeFronzo *et al.* 2015).

L'obésité et l'inactivité physique sont fortement associées à l'insulino-résistance et à l'incidence du DST2. Si la masse des tissus adipeux blancs, en particulier les dépôts sous-cutanés profonds et viscéraux, augmente, les adipocytes sécrètent principalement des facteurs tels que les adipokines qui affectent négativement la sensibilité à l'insuline et le fonctionnement des cellules β (Kahn, Hull, and Utzschneider 2006).

I.2. Métabolisme des lipides

Les principaux lipides du plasma sont les acides gras (AG), les triglycérides (TG), le cholestérol et les phospholipides (PL). Les lipides sont transportés dans le plasma en association avec des protéines du fait qu'ils sont insolubles dans l'eau. L'albumine est le principal transporteur des AG non estérifiés, les autres lipides circulent sous forme de complexes appelés lipoprotéines.

L'importance du métabolisme lipoprotéique est liée à la fréquence des hyperlipoprotéïnémies et à leur retentissement sur la paroi artérielle. En effet, différents facteurs de risque cardiovasculaire ont pu être identifiés à savoir l'obésité, la sédentarité, l'hypertension artérielle, le tabagisme, le stress, l'hyperlipoprotéïnémie et l'hyperglycémie.

I.2.1. Structure des lipoprotéines

Les lipoprotéines sont des complexes solubles de protéines (apolipoprotéines) et de lipides qui assurent le transport des lipides dans l'organisme. Les lipoprotéines sont synthétisées dans le foie, les intestins, proviennent aussi de changements métaboliques de lipoprotéines précurseurs, ou sont assemblées aux membranes cellulaires à partir de lipides cellulaires et de lipoprotéines exogènes ou apolipoprotéines (Feingold *et al.* 2000). Les lipoprotéines sont

constituées par un cœur apolaire de triglycérides et des esters de cholestérol, entourées par une couche de phospholipides, de cholestérol et d'apoprotéines (figure 04).

En fonction de leur mobilité décroissante, les lipoprotéines sont retrouvés sous forme de : α -lipoprotéines (HDL, les plus éloignés du dépôt), pré- β -lipoprotéines (VLDL, mobilité intermédiaire), α -lipoprotéines (LDL, proche de dépôt et les chylomicrons qui, normalement, restent au niveau du dépôt) et broad β -lipoprotéines (IDL, augmentation de β et pré- β qui donne une large bande) (tableau II et III).

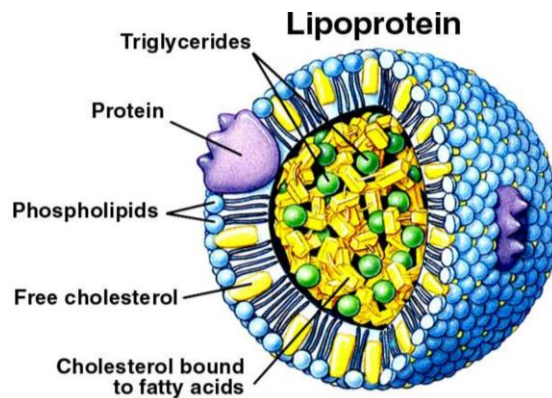


Figure 04 : Structure de lipoprotéines.

Dans la circulation sanguine, les lipoprotéines sont très dynamiques. En réponse aux changements de composition, elles subissent des réactions enzymatiques de leurs composants lipidiques, des transferts lipidiques facilités et spontanés, des transferts d'apolipoprotéines solubles et des changements conformationnels des apolipoprotéines. Enfin, les lipoprotéines sont absorbées et catabolisées dans le foie, les reins et les tissus périphériques (Feingold *et al.* 2000).

Tableau II : Composition des lipoprotéines (Marshall *et al.* 2005).

	Chylomicrons	VLDL	IDL	LDL	HDL
Triglycérides	90 %	65 %	30 %	20 %	5 %
Cholestérol	5 %	20 %	35 %	50 %	25 %
Phospholipides	4 %	10 %	20 %	20 %	15 %
Protéines	1 %	5 %	15 %	20 %	55 %
Apoprotéines	C, B-48, E, A	B-100, C, E	B-100, E	B-100	A, C, E

I.2.2. Classe des lipoprotéines

L'assemblage, la structure, le métabolisme ainsi que les interactions des récepteurs des lipoprotéines sont déterminés par leurs composants apolipoprotéines. La classification en lipoprotéines chylomicrons (CM), très basse densité (VLDL), basse densité (LDL) et haute

densité (HDL) est basée sur leur teneur relative en protéines, en lipides et aussi sur leur mobilité électrophorétique sur gel d'agarose (tableau III) (Vance and Vance 2008).

Tableau III : Classification et caractéristiques des lipoprotéines (Marshall *et al.* 2005).

Lipoprotéines	Densité (g/ml)	Diamètre moyen (nm)	Mobilité électrophorétique	Origine	Fonction principale
Chylomicrons	<0,95	500	Reste au dépôt	Intestin	Transport des triglycérides exogènes
VLDL	0,96-1,006	43	Pré- β	Foie	Transport des triglycérides endogènes
IDL	1,007-1,019	27	Broad β	Catabolisme des VLDL	Précurseur des LDL
LDL	1,02-1,063	22	β	Catabolisme des VLDL, via les LDL	Transport du cholestérol
HDL	1,064-1,21	8	α	Foie, intestin : catabolisme des CM et VLDL	Transport reverse du cholestérol

I.2.3. Métabolisme des LDL

Les LDL sont issues des VLDL, via les IDL. Elles sont captées par le foie et les autres tissus selon une médiation réceptrice impliquant la reconnaissance de l'Apo B-100 par le récepteur LDL. Les particules LDL sont hydrolysées par les enzymes lysosomiales, ce qui entraîne une libération du cholestérol libre qui (i) inhibe l'HMG-CoA réductase (hydroxyméthylglutaryl CoA), enzyme limitant la synthèse du cholestérol, (ii) inhibe la synthèse du récepteur LDL et (iii) stimule l'estérification du cholestérol en augmentant l'activité d'acyl CoA et de cholestérol acyl transférase (ACAT) (figure 5) (Holmes *et al.* 2019).

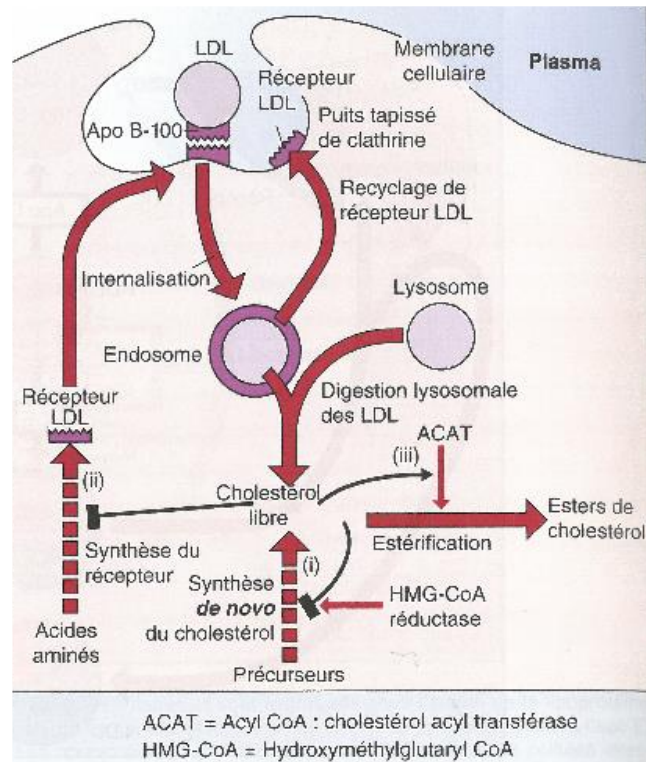


Figure 05 : Métabolisme des LDL (Marshall *et al.* 2005).

I.2.4. Métabolisme des HDL

Les HDL naissantes récupèrent du cholestérol libre des cellules hépatiques, des chylomicrons et des VLDL et sont ainsi converties en HDL3. Le cholestérol est estérifié par la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) ensuite les esters de cholestérol (CE) sont transférés aux particules résiduelles par la protéine de transport des esters de cholestérol (CETP), en échange de triglycérides. Cependant, les particules résiduelles sont épurées par le foie. Au niveau hépatique, le cholestérol est excrété dans la bile et transformé en acides biliaires. La plupart des HDL sont recyclées, bien que certaines soient vraisemblablement captées par le foie et catabolisées (figure 06).

Le cholestérol est estérifié ce qui le rend presque totalement apolaire. Ce changement de polarité permet au CE de s'accumuler à l'intérieur des particules de lipoprotéines et diminue leur surface, ce qui leur confère une forme sphérique.

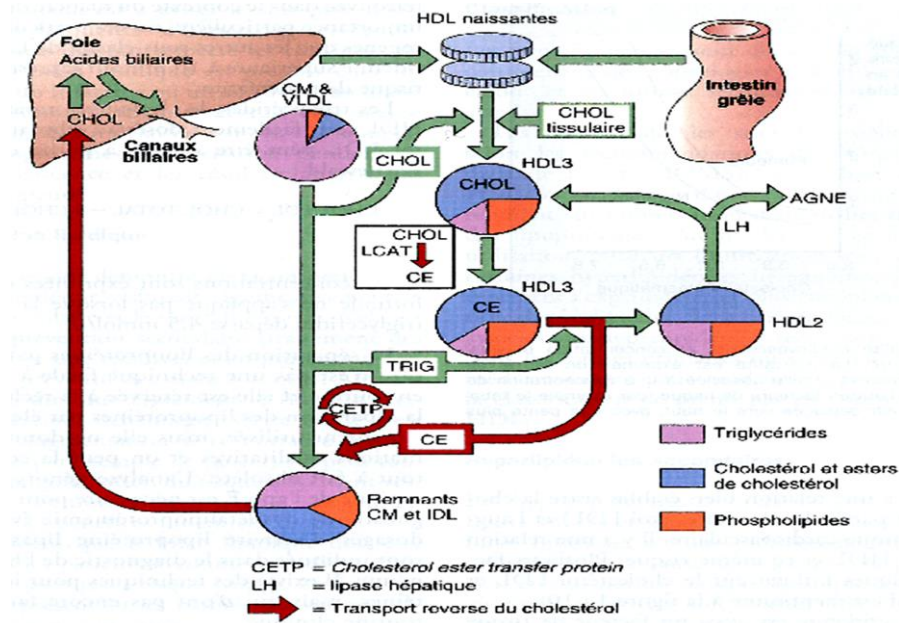


Figure 06 : Métabolisme des HDL (Marshall *et al.* 2005).

I.2.5. Métabolisme des chylomicrons

Les chylomicrons (CM) transportent les TG alimentaires aux tissus et sont hydrolysés sous l'action de la lipoprotéine lipase. Les particules résiduelles ou « remnants » sont épurées par le foie. Au niveau des cellules hépatiques, elles se lient à des récepteurs des remnants (qui reconnaissent l'apo-E) puis sont internalisées et catabolisées. Les apoprotéines A et B-48 sont synthétisées dans les cellules intestinales ; l'Apo C et l'Apo E sont cédées, comme les CE, par les HDL. La lipoprotéine lipase est activée par l'Apo C-II. Au fur et à mesure de l'hydrolyse des TG au sein des chylomicrons, l'Apo A, l'Apo C, le cholestérol et les phospholipides sont libérés de la surface puis transférés aux HDL qui ensuite estérifient le cholestérol. Les CE sont transférés en retour aux remnants en échange des TG par la CETP (figure 07).

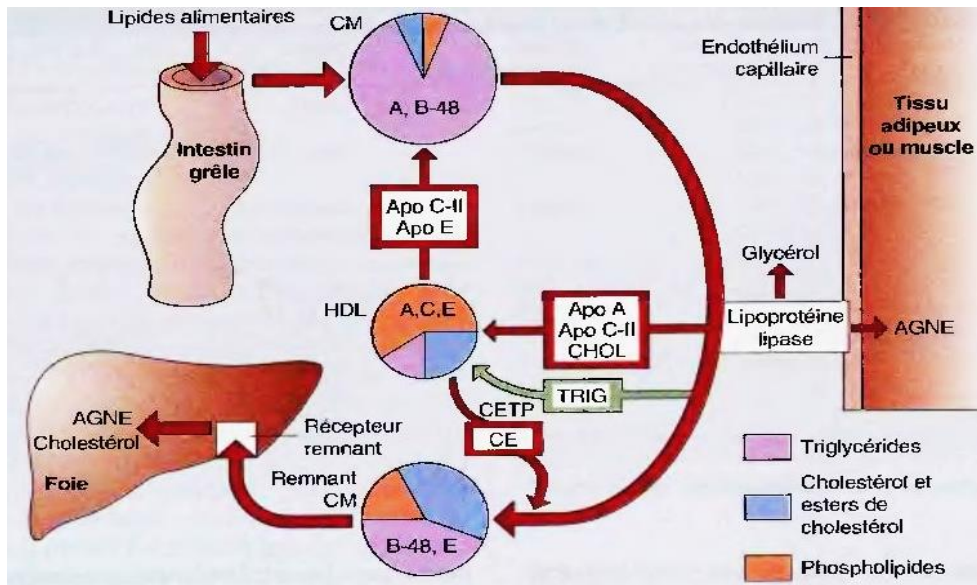


Figure 07 : Métabolisme des chylomicrons (Marshall *et al.* 2005).

I.2.6. Métabolisme des VLDL

Les VLDL sont synthétisées dans le foie, transportent les TG endogènes du foie vers les autres tissus et sont hydrolysées par action de la lipoprotéine lipase. En même temps, le cholestérol, les phospholipides, l'Apo C et l'Apo E sont libérées et transférées aux HDL. De cette façon, les VLDL sont converties en IDL. Le cholestérol est estérifié par les HDL et les CE sont transférés aux IDL par la CETP. Quelques IDL sont épurées par le foie mais, pour la plupart, l'hydrolyse des TG se poursuit sous l'action de la lipase hépatique (LH); elles sont ainsi converties en LDL. De ce fait, les VLDL riches en TG sont des précurseurs des LDL qui contiennent principalement des CE et l'Apo B-100 (figure 08).

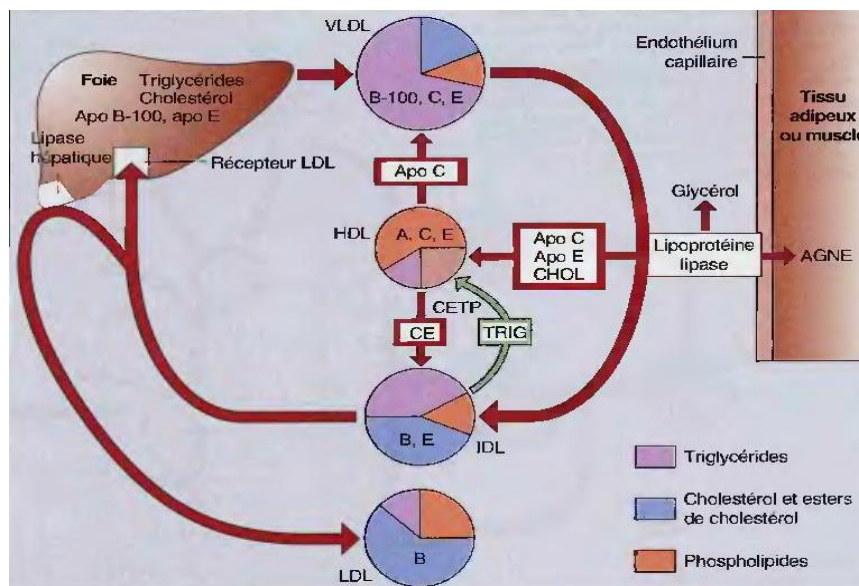


Figure 08 : Métabolisme des VLDL (Marshall *et al.* 2005).

I.2.7. Métabolisme pathologique des lipidiques

Les lipides dans les cellules sont constamment synthétisés et dégradés de sorte que leurs niveaux seront maintenus dans certaines limites. Lorsqu'une ou plusieurs enzymes impliquées dans le métabolisme lipidique sont défectueuses ou manquantes, divers troubles lipidiques peuvent se développer.

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, qui peuvent être primaire (génétiques) ou secondaire.

I.2.7.1. Hyperlipidémies secondaires

Les Hyperlipidémies secondaires sont fréquentes. Plusieurs médicaments tels que les diurétiques thiazidiques, les β -bloquants, les corticoïdes... peuvent provoquer ou majorer une hyperlipidémie.

I.2.7.2. Hyperlipidémies primitives

a) Hypercholestérolémie familiale (HF)

La cause monogénique la plus courante du cholestérol sérique élevé est l'hypercholestérolémie familiale hétérozygote (HFHe). Elle est principalement héréditaire et chez ces patients, les niveaux du cholestérol sont doublés par rapport à des parents sains. Elle peut être diagnostiquée depuis la naissance. Si la pathologie n'est pas traitée, elle se traduit par un xanthome (dépôts de cholestérol et de tissu fibreux) dans les tendons. HFHe augmente également le risque de maladie cardiovasculaire. De nombreux patients meurent d'une cardiopathie ischémique avant l'âge de 60 ans. HFHe résulte d'un catabolisme hépatique des LDL défectueux, principalement due à une mutation du récepteur LDL, plus rarement une mutation dans l'ApoB100.

Dans le cas d'une hypercholestérolémie familiale homozygote, les deux allèles du gène du récepteur des LDL présentent une mutation et par conséquent le cholestérol LDL (LDL-C) est considérablement élevé. Cependant, cette maladie est extrêmement rare (1 sur 10^6 individus) sauf en cas de consanguinité (Lammert and Zeeb 2014).

b) Hypercholestérolémie « commune » (Polygénique)

L'hypercholestérolémie polygénique est la cause la plus fréquente des concentrations élevées de cholestérol sérique. Les concentrations LDL-C sont modérées (140-300 mg/dl) et

les concentrations sériques de TG se situent dans les normes. Cette affection est causée par un génotype sensible aggravé par un ou plusieurs facteurs, dont l'alimentation athérogène (consommation excessive de gras saturés, de gras trans et, dans une moindre mesure, de cholestérol), l'obésité et le mode de vie sédentaire. Les gènes impliqués n'ont pas encore été découverts. L'hypercholestérolémie polygénique est associée à un risque élevé de maladie coronarienne (Narayanaswamy *et al.* 2020).

c) Dysbetalipoprotéimie familiale

La dysbetalipoprotéimie familiale (DF), ou hyperlipoprotéïnémie de type III, est causée par des mutations dans le gène de l'Apo E. L'Apo E sur les chylomicrons et les restes de VLDL médient leur catabolisme en se liant aux récepteurs dans le foie. La DF est généralement causée par l'homozygotie pour une variante commune appelée Apo E2, qui diffère de la forme Apo E3 de type sauvage par une substitution d'une cystéine par une arginine à la position 158. Apo E2 altère la liaison aux récepteurs des lipoprotéines tels que le récepteur LDL, ce qui va entraîner l'élimination défectueuse des restes de chylomicron et de VLDL (présence des IDL et de remnants de chylomicrons en excès). Comme les lipoprotéines résiduelles sont élevées et contenant à la fois des TG et du cholestérol, ce qui implique par conséquent l'élévation de leur taux plasmatique. Le xanthome palmaire et le xanthome tubéreux sur les coudes, les genoux ou les fesses sont des observations cutanées distinctives dans cette pathologie (Kathiresan *et al.* 2013). La maladie est associée au risque cardiovasculaire et aux risques de pathologies vasculaires cérébrales.

d) Hyperchylomicronémie familiale

L'hyperchylomicronémie familiale est un syndrome génétique rare hérité en mode autosomique récessif, se caractérise par une hypertriglycéridémie sévère à jeun et des accumulations massives de chylomicrons dans le plasma. Les personnes touchées présentent souvent des épisodes récurrents de douleurs abdominales et/ou de pancréatite, souvent dès la petite enfance, par ingestion d'un repas gras (Santamarina-Fojo *et al.* 1991, Jarauta *et al.* 2020).

e) Hypertriglycéridémie familiale

L'hypertriglycéridémie est une forme courante de dyslipidémie, fréquemment associée à une coronaropathie prématurée qui est généralement définie par l'apparition d'un infarctus du myocarde (Brunzell 2007). Elle est caractérisée par un excès de VLDL plasmatiques qui est due à une augmentation de la synthèse hépatique des VLDL. Cette pathologie se transmet en

mode autosomique dominant. La concentration des TG ne dépasse pas généralement 5mmol/l mais dans des cas sévères où d'autres facteurs sont souvent impliqués (l'obésité, l'alcoolisme...)

La pathologie est exprimée cliniquement par des xanthomes éruptifs et une lipémie rétinienne (figure 09).

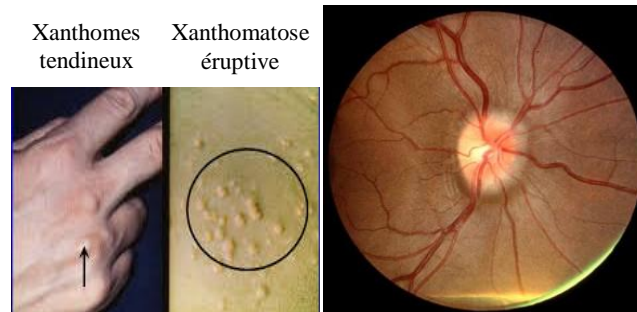


Figure 09 : Expression clinique de la triglycéridémie familiale.

f) Hyperlipidémie combinée familiale

L'hyperlipidémie familiale combinée (HL) est une affection héréditaire autosomique dominante caractérisée par une surproduction hépatique de l'Apo B. Cette pathologie conduit à une augmentation de la sécrétion des VLDL et à la conversion des VLDL en LDL. Son diagnostic repose sur l'augmentation du cholestérol et des TG, les patients ne présentent pas de xanthome tendineux ou une étiologie secondaire d'hyperlipidémie (Kathiresan *et al.* 2009).

I.3. Métabolisme des oligoéléments

I.3.1. Métabolisme du fer

I.3.1.1. Rôle physiologique du fer

Le fer (Fe) est un métal essentiel pour notre organisme en raison de nombreuses fonctions qu'il assure, tant au niveau cellulaire (métabolisme, production d'énergie et synthèse d'ADN), que systémique (transport de l'oxygène). Le fer est utilisé par le système semi-fermé et n'est pas activement excrété par le corps. Ce système est avantageux, car il prévient la carence de ce métal et n'est pas influencé par l'état environnemental. L'étude de son métabolisme est donc essentielle pour mieux comprendre et prévenir les nombreuses conséquences délétères de la carence en fer (Harigae 2018).

Un adulte absorbe de 1 à 2 mg de fer quotidiennement. La quantité requise chez l'enfant et l'adolescent est proportionnellement bien plus importante par rapport au poids pour faire face à l'expansion du volume sanguin.

Deux tiers du fer sont liés à l'hémoglobine présente dans les érythrocytes (compartiment fonctionnel). Le compartiment de transport plasmatique est constitué du fer lié à la transferrine et représente environ 0,1 % du fer total de l'organisme. Le foie contient 10 à 20 % du fer (non héminique), principalement sous sa forme de stockage (ferritine, compartiment de réserve). Le fer est facilement mobilisable en fonction des demandes de l'organisme. La myoglobine des muscles contient 3 à 4 % du fer total (forme héminique). Le reste du fer est distribué dans les autres tissus (Vaulont 2017).

1.3.1.2. Cycle du fer et absorption

Le fer pénètre dans le corps par le tractus gastro-intestinal, principalement par le duodénum. La quantité du fer absorbée est régulée en fonction des besoins du corps. L'érythropoïèse et/ou la carence ainsi que la surcharge en fer régulent l'absorption.

Seulement 1 à 2 mg du fer sont absorbés quotidiennement par l'intestin. La plupart du fer (20-25 mg/jour) est recyclé par les macrophages suite à une phagocytose des érythrocytes. Le duodénum est le site d'absorption du fer non héminique. En effet, le fer non héminique est transporté de la lumière intestinale après réduction du fer ferrique en fer ferreux. Dans les entérocytes, le fer non utilisé est stocké dans la ferritine et éliminé avec l'excrétion de la muqueuse, ou intégré dans le plasma par la ferroportine vers la membrane basolatérale en fonction des besoins du corps (figure 10 A et B) (Kaushansky *et al.* 2015, Brissot *et al.* 2018).

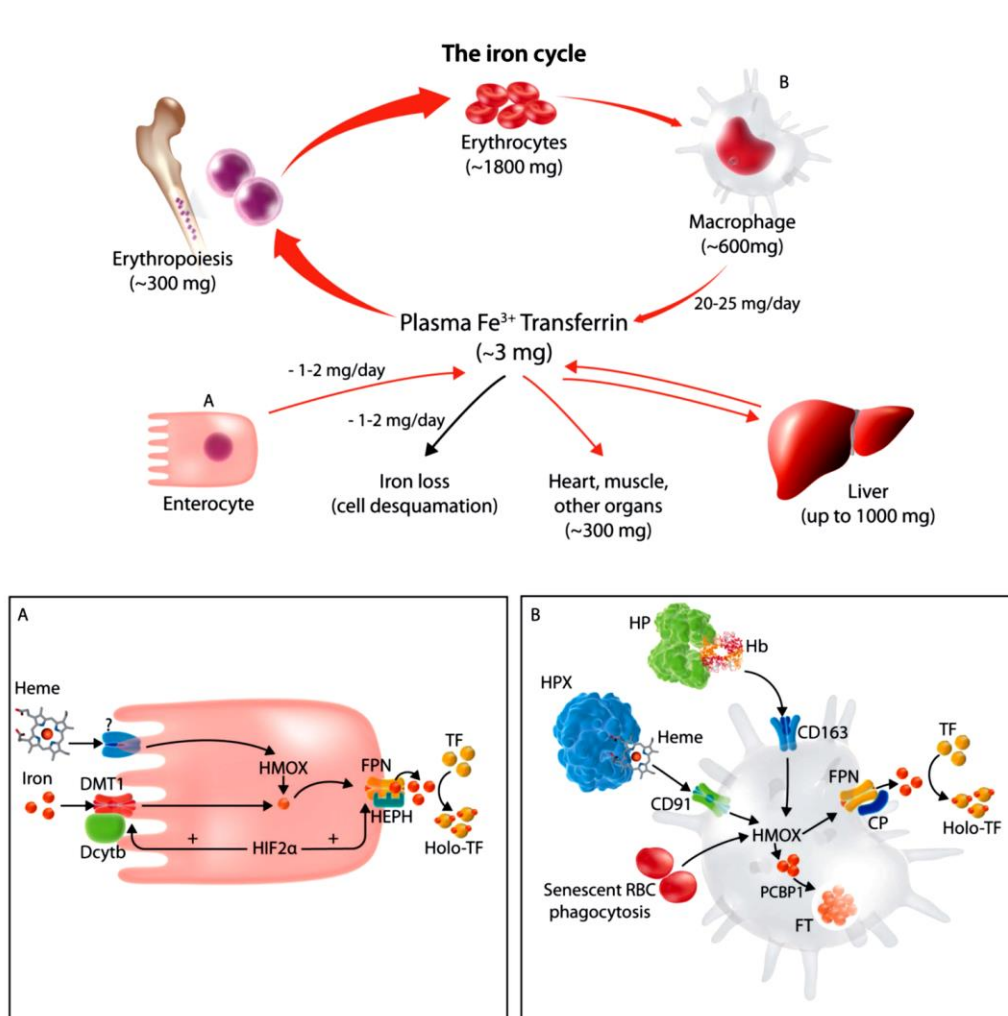
1.3.1.3. Absorption du fer héminique

La compréhension du mécanisme d'absorption du fer est rendue difficile par le fait que les voies d'absorption du fer inorganique et de l'hème sont différentes. Ces voies se confondent dans la cellule intestinale, par ce que l'hème apporté par l'alimentation n'apparaît pas dans le plasma. Le transporteur intestinal de l'hème est nommé HCP1 (protéine porteuse de l'hème 1) qui est identique au transporteur de folate couplé aux protons (PCFT ou SLC46A1). Les mutations dans HCP1/PCFT sont associées à la malabsorption héréditaire de folate et n'ont pas de phénotype de carence en hème ou en fer (Kaushansky *et al.* 2015).

1.3.1.4. Absorption du fer ferrique

Suite à la réduction du fer ferrique en fer ferreux par le cytochrome b réductase duodénal (dcytb), le fer ferreux est transporté dans les villosités intestinales par le transporteur de métal divalent (DMT)-1.

Il a été démontré qu'une voie dans laquelle une β_3 -intégrine et une protéine désignée comme la mobilferrine sont impliquées dans le transport du fer dans la cellule intestinale. Il a été suggéré que la β_3 -intégrine, la calréticuline et le DMT-1 forment un complexe appelé paraferritine (bien qu'il ne contienne pas de ferritine). Le transfert basolatéral est médié par la ferroportine en association avec l'hephaestine pour transporter et oxyder le fer à l'état ferrique. Le fer ferrique est absorbé par l'apotransferrarine plasmatique (Beutler 2010) (figure 10 C).



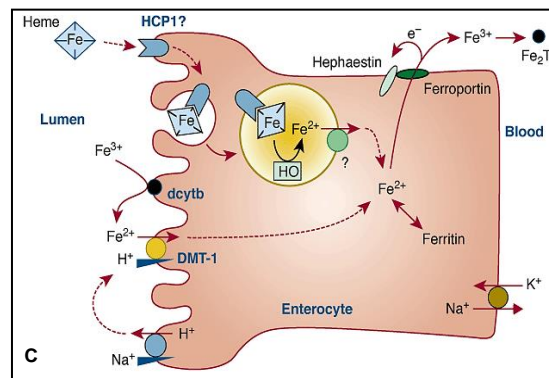


Figure 10 : Cycle du fer, mécanisme d'absorption et de transfert du fer au plasma par la villosité intestinale (Beutler 2010).

Le fer alimentaire non-héminique comprend les sels et les complexes organiques Fe(II), Fe(III). Fe^{3+} est réduit en Fe^{2+} par l'acide ascorbique et les ferrireductases de la membrane apicale qui comprennent le cytochrome b duodéal (dcytb). Le microclimat acide dans les bordures en brosse fournit un gradient de potentiel électrochimique H^+ , pour entraîner le transport de Fe^{2+} par le transporteur d'ions métalliques divalents (DMT-1) dans l'entérocyte. Le DMT-1 peut également contribuer à l'absorption d'autres ions métalliques importants sur le plan nutritionnel (par ex. Mn^{2+}). L'hème peut être absorbé par endocytose, et le Fe^{2+} est libéré dans l'endosome/lysosome, mais l'identité moléculaire des protéines impliquées, y compris la protéine porteuse de l'hème (HCP1), est encore à élucider. L'exportation basolatérale de Fe^{2+} peut être médiée par la ferroportine en association avec l'hephaestine. Le fer circule lié à la transferrine pour être libéré dans tous les organes / tissus par le récepteur de la transferrine 1. La plupart du fer (20-25 mg) recyclé par les macrophages, qui phagocytent les globules rouges sénescents (GR), est fourni à la moelle osseuse pour la production des GR. L'absorption quotidienne de fer alimentaire par les entérocytes duodénales est de 1 à 2 mg; la même quantité est perdue par la desquamation cellulaire et la perte de sang. L'excès de fer est stocké dans le foie et les macrophages comme réserve. Les nombres (en mg) sont une estimation moyenne. (A) Absorption intestinale du fer. Le transporteur de métaux DMT1 absorbe le fer ferreux, réduit par le DCYTB, du côté luminal de l'entérocyte. Le fer non utilisé à l'intérieur de la cellule est soit stocké dans la ferritine (FT), soit exporté vers la transferrine circulante (TF) par ferroportine (FPN), après oxydation du fer ferreux en fer ferrique par hephaestine (HEPH). Le facteur inductible d'hypoxie (HIF-2 α), stabilisé par une hypoxie locale, stimule l'expression des transporteurs apicaux (DMT1) et basolatéraux (FPN). Après son entrée dans la cellule par un mécanisme inconnu, est converti en fer par l'hème oxygénase. (B) Processus de recyclage du fer. Les macrophages récupèrent le fer de GR phagocytés après la dégradation de l'hème par l'hème oxygénase. Ils récupèrent également l'hémoglobine à partir de complexes hémoglobine (Hb)-haptoglobine (HP) ou bien hème-hémopexine (HPX). Le fer non utilisé à l'intérieur des cellules est soit stocké en FT, soit exporté vers la circulation par FPN avec la coopération de la céruleplasmine (CP). Cette dernière est la voie préférentielle dans des conditions normales. HO : hème oxygénase; Fe_2tf : transferrine diférique.

1.3.1.4. Régulation du métabolisme du fer

a) Mécanismes d'action de l'hepcidine

L'hepcidine est une hormone peptidique de 25 acides aminés, principalement produite par le foie. Elle est le ferrostat de l'organisme, elle permet d'équilibrer au mieux les niveaux du fer selon les besoins de l'organisme. Il s'agit d'une hormone hyposidérémiant qui régule négativement l'absorption du fer alimentaire au niveau du duodénum et son recyclage par les macrophages, permettant ainsi d'éviter tout excès du métal. L'hepcidine agit en inhibant l'export du fer à la membrane des cellules en interagissant avec la ferroportine (exporteur du fer) entraînant son internalisation puis sa dégradation dans le lysosome. La ferroportine constitue donc le récepteur de l'hepcidine. L'augmentation du fer sérique est détectée par les hépatocytes qui secrètent en retour plus d'hepcidine produisant ainsi une boucle de rétrocontrôle (Vaulont 2017).

1.3.1.5. Troubles du métabolisme du fer

Le fer est biologiquement essentiel mais aussi potentiellement toxique. Il est étroitement contrôlé aux niveaux cellulaire et systémique pour prévenir la carence et la surcharge en fer (Harigae 2018).

Le fer, essentiel pour la synthèse de l'hémoglobine, est indispensable à toutes les cellules pour la production de l'hème et du fer-soufre (Fe-S). Ces derniers sont des composants de protéines/enzymes impliqués dans des processus biologiques vitaux tels que, la respiration, la réplication et la réparation de l'ADN, réactions métaboliques et le système de défense. Bien qu'il soit essentiel à la vie son excès est toxique. La capacité d'accepter ou de libérer des électrons explique la propension du fer à endommager les composants cellulaires qui est la raison pour laquelle le fer du corps doit être étroitement régulé. La nature du fer est également évidente dans ses troubles, qui s'étendent de l'excès à la carence en fer et à sa maldistribution, lorsque certains tissus sont chargés et d'autres sont en carence en fer (Camaschella *et al.* 2020).

Les anomalies de production de l'hepcidine sont responsables de la grande majorité des maladies liées au métabolisme du fer. En effet, l'absence ou la diminution d'hepcidine entraîne une surcharge en fer et à l'inverse, son augmentation conduit à une anémie de type réfractaire au fer.

a) Carence en fer (anémie ferriprive)

La carence en fer est l'état dans lequel la teneur en fer dans le corps est inférieure à la normale. L'épuisement est le premier stade de la carence en fer, où son stockage est diminué ou bien absent. Par ailleurs, la concentration sérique en fer, la saturation en transferrine et les taux d'hémoglobine dans le sang sont normaux.

L'anémie ferriprive, le stade le plus avancé de la carence en fer, se caractérise par l'absence de réserves en fer, une faible concentration sérique en fer, une faible saturation en transferrine et une faible concentration sanguine en hémoglobine.

Dans les anémies ferriprives on observe une diminution physiologique de l'hepcidine dans l'objectif de lever le frein de l'absorption intestinale du fer et de son recyclage, permettant une mobilisation efficace du métal pour l'érythropoïèse (Galactéros 1988).

I.3.2. Métabolisme du magnésium

I.3.2.1. Rôle physiologique du magnésium

Le magnésium (Mg) est le principal cation divalent intracellulaire. Il joue un rôle physiologique essentiel dans de nombreuses fonctions du corps. Le Mg est indispensable pour la synthèse des acides nucléiques, des protéines et est un cofacteur important pour de nombreuses enzymes et transporteurs. Il a des effets importants sur le système cardiovasculaire et le magnésium intracellulaire forme un complexe clé avec l'ATP et joue un rôle clé dans de nombreux autres processus biologiques importants tels que la synthèse des protéines, la réplication cellulaire et le métabolisme énergétique. Le métabolisme du magnésium n'a pas été aussi bien défini que le métabolisme des autres ions. Le corps humain adulte normal contient environ 1000 mmols de magnésium (22-26 g) (Seo *et al.* 2008, Laurin *et al.* 2019). Dans le sérum, le magnésium se présente, comme le calcium, sous deux formes :

- *Forme diffusible* : comprenant le magnésium ionisé (55%), qui existe au niveau du rein et le magnésium complexé, lié à des anions comme les phosphates, citrate ou lactate (10 à 15%).
- *Forme non diffusible* : correspondant au magnésium lié aux protéines (30 à 35 %). C'est un cofacteur de nombreuses enzymes du métabolisme intermédiaire.

Plus de 99% de Mg^{2+} de l'ensemble du corps est situé dans l'espace intracellulaire, stocké principalement dans les os (60-65%), les muscles et les tissus mous (34-39%), tandis que moins de 1% est situé dans l'espace extracellulaire. Jusqu'à 70% de tout le plasma le Mg^{2+} existe sous forme active ionisée (libre), ce qui est important pour les processus physiologiques, y compris la transmission neuromusculaire et le tonus cardiovasculaire.

I.3.2.2. Absorption intestinale du magnésium

Environ 30 à 40% de la teneur alimentaire en magnésium est absorbée, principalement dans le jéjunum et l'iléon. L'absorption intestinale fractionnelle de magnésium est inversement liée à la consommation. La plus grande partie de l'absorption se produit dans le jéjunum, l'iléon et le côlon. À l'apport normal, l'absorption est principalement passive. Lors d'un apport faible en magnésium, un composant saturable de l'absorption du magnésium peut être impliqué (Schuchardt *et al.* 2017) (figure 11).

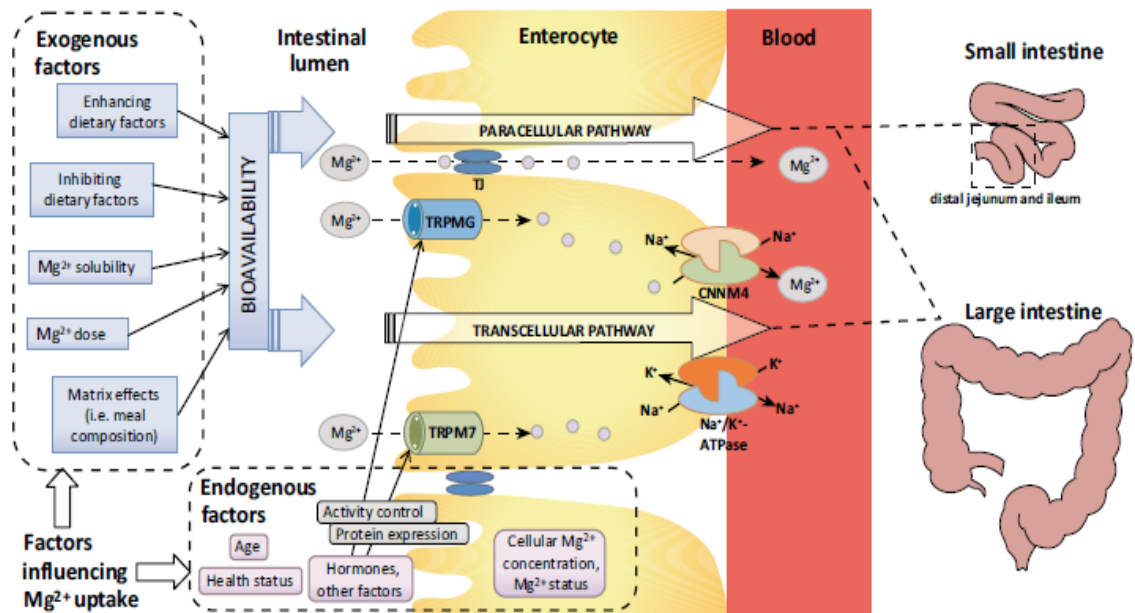


Figure 11 : Mécanisme moléculaire de l'absorption intestinale du magnésium (Schuchardt *et al.* 2017). Le mécanisme d'absorption de Mg^{2+} par les entérocytes dans le sang montre un double processus cinétique qui implique deux mécanismes : une voie active saturable (transcellulaire) et une voie passive non saturable (paracellulaire). L'absorption intestinale se produit principalement dans l'intestin grêle, exactement dans le jéjunum distal et l'iléon par la voie paracellulaire, qui est régulée par les jonctions paracellulaires serrées (JS). Le réglage fin de l'absorption de Mg^{2+} se produit dans le caecum et le côlon du gros intestin par la voie transcellulaire qui est médiée par les protéines membranaires (le canal TRPM6/7) et la voie paracellulaire. Le mécanisme d'extrusion basolatérale Mg^{2+} de l'entérocyte peut être réalisé via CNNM4, un antiport Na^+/Mg^{2+} . La force motrice est un gradient Na^+ , établi par l'ATPase Na^+/K^+ . CNNM4, Cyclin M4; TRPM6, Transient Receptor Potential Melastatin type 6; TRPM7, Transient Receptor Potential Melastatin type 7.

I.3.2.3. Troubles du métabolisme du magnésium

a) Carence en magnésium et hypomagnésémie

L'hypomagnésémie résulte habituellement d'une augmentation des pertes gastro-intestinales ou rénales. L'hypermagnésémie se produit rarement, à l'exception de l'insuffisance rénale et du surdosage iatrogène.

Une concentration sérique du magnésium total inférieure à 0,75 mmol/l est habituellement considérée anormalement faible. Toutefois, les concentrations sériques du magnésium total ne sont pas bien corrélées avec les concentrations sériques ionisées chez les patients gravement malades. Ces troubles sont dus à des altérations des protéines sériques, des perturbations acido-basiques et de l'influence potentielle des médicaments administrés simultanément sur l'équilibre du magnésium. Une faible concentration sérique du magnésium total peut bien représenter une pseudohypomagnésémie chez un patient gravement hypoalbuminé. La concentration sérique normale du magnésium ionisé se situe entre 0,52 et 0,60 mmol/l.

L'excitabilité neuronale et la transmission neuromusculaire sont augmentées dans les situations de carence en magnésium. Les manifestations cliniques comprennent des tremblements, des secousses myocloniques, des convulsions, des spasmes spontanés, l'ataxie et la dysphagie, etc. Dans le cas d'une hypomagnésémie grave, les intervalles PR et QT (paramètre de mesure de la fréquence cardiaque) sont prolongés, prédisposant à des arythmies ventriculaires, tachycardie et une onde T anormale. L'augmentation du tonus artériel est également fréquente lorsque le magnésium extracellulaire est faible (Laurin *et al.* 2019).

b) Hypermagnésémie

L'hypermagnésémie correspond à une concentration sérique supérieure à 0,95 mmol/l. Parce que l'efficacité des reins à excréter une charge en magnésium est très bonne, plus de 250 mmol/jour ou près de 100 % de la charge filtrée peuvent être éliminés par la personne dont la concentration plasmatique en magnésium est augmentée, et l'hypermagnésémie est rarement observée.

Les symptômes de l'hypermagnésémie sont rares lorsque les taux sériques de magnésium sont inférieurs à 2 mmol/l. Les premiers symptômes qui apparaissent sont les nausées, les vomissements et rougeur avec des réflexes tendineux réduits. Les manifestations neurologiques comprennent la paralysie flasque, la léthargie, le coma et la dépression respiratoire. Les effets cardiovasculaires de l'hypermagnésémie se produisent avec des concentrations sériques de magnésium supérieures à 2,5 mmol/l.

I.3.3. Métabolisme du cuivre

I.3.3.1. Rôle physiologique du cuivre

Le cuivre est un oligoélément indispensable à la vie car il fait partie intégrante de la structure de diverses oxydases. Il appartient au groupe des « éléments trace », sa quantité totale chez un adulte de 65 kg n'est que de 100 mg. Cette quantité est répartie comme suit : 35 mg dans les muscles, 20 mg dans le cerveau (cérébrocupréine), 10 mg dans les tissus conjonctifs, 5 mg dans les reins et 10 mg dans le sang.

Entre 80 et 95% du cuivre plasmatique est lié à la céruloplasmine. Il s'agit d'une alpha glycoprotéine avec des activités amine-oxydase et ferroxidase. Le processus de liaison de la céruloplasmine au cuivre se produit dans le foie juste après l'absorption hépatique de cet élément (Ferreira *et al.* 2017).

I.3.3.2. Absorption et excrétion du cuivre

L'absorption et l'excrétion du cuivre sont normalement de 1 à 5 mg par jour. L'apport alimentaire permet d'atteindre cet équilibre suite à une absorption intestinale et excrétion biliaire. Cet apport quotidien en cuivre est d'environ 2 à 5 mg par jour. Environ 50% de l'absorption du cuivre se produit dans les cellules intestinales situées dans le duodénum et l'intestin grêle proximal. Le cuivre pénètre alors dans le système veineux portal puis transporté vers le foie, lié principalement à l'albumine. Dans le foie, une partie du cuivre transporté est utilisée pour les fonctions métaboliques et incorporée dans les protéines. Une deuxième partie du cuivre est stockée dans les cellules, une troisième partie est libérée dans la circulation et le reste du cuivre (non nécessaire au métabolisme) est excrété dans la bile (figure 12). Chez les personnes saines, l'excès du cuivre alimentaire est finalement excrété dans la bile tandis que son excrétion par les reins reste infime (To *et al.* 2018).

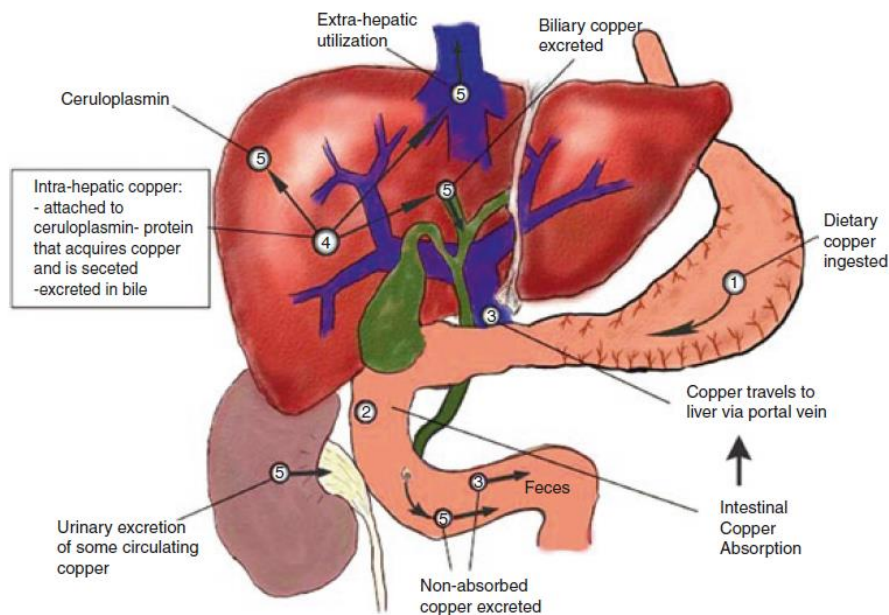


Figure 12 : Absorption du cuivre dans le corps (To *et al.* 2018).

I.3.3.3. Troubles du métabolisme du cuivre

Les troubles du métabolisme du cuivre comprennent la maladie de Menkes, le syndrome de Huppke-Brendel et le syndrome de MEDNIK (Ferreira *et al.* 2019).

a) Carence en cuivre et hypocuprémie

La carence en cuivre mène à des troubles de la croissance et du développement et/ou au dysfonctionnement neurologique. Cependant, l'excès du cuivre est aussi un problème pour la santé humaine.

La maladie de Menkes (MM) est un trouble récessif lié au chromosome X. Cette pathologie s'exprime par une carence en cuivre. Tandis que la maladie de Wilson est un trouble récessif autosomique qui s'exprime par une accumulation du cuivre (Shimizu 2016).

Les principaux symptômes de la MM s'identifient par une neurodégénérescence progressive et des perturbations des tissus conjonctifs ainsi que des anomalies des cheveux. Les premières manifestations de la maladie comprennent généralement l'hypothermie et l'hyperbilirubinémie prolongée.

Cette maladie se produit en raison de mutations dans le gène ATP7A et la grande majorité des mutations ATP7A sont des mutations intragéniques ou des délétions génétiques partielles.

ATP7A est une protéine transmembranaire dépendante de l'énergie (Atpase de type P). Elle est impliquée dans le transport du cuivre aux enzymes sécrétrices du cuivre et dans l'élimination du cuivre excédentaire des cellules. Les patients atteints de MM meurent habituellement avant la troisième année de leur naissance. Il n'existe pas de remède pour la maladie, mais un traitement très précoce à l'histidine cuivrée peut corriger certains symptômes neurologiques (Tümer *et al.* 2010).

b) Accumulation du cuivre et hypercuprémie

La maladie de Wilson (MW) est un trouble rare du métabolisme du cuivre qui affecte plusieurs organes du corps. Cette maladie est autosomique récessive résultant de mutations dans le gène ATP7B. Le manque de protéine ATP7B ou son dysfonctionnement entraîne une accumulation toxique du cuivre dans les hépatocytes en raison de l'incapacité à véhiculer le cuivre dans la bile. Le mécanisme des lésions cellulaires induites par le cuivre est la génération des espèces réactives d'oxygène. En présence d'agents réducteurs, le Cu^{2+} est réduit en Cu^{1+} puis ré-oxydé par une molécule d'oxygène, générant ainsi un radical $\cdot\text{O}_2$ et un radical $\cdot\text{OH}$ à partir de H_2O_2 . Les dommages oxydatifs produits par le cuivre peuvent alors activer les cellules stellaires hépatiques dans le foie pour sécréter du collagène et provoquant ainsi des fibroses et plus tard une cirrhose du foie (To *et al.* 2018).

I.4. Métabolisme phosphocalcique

Le rôle le plus évident du calcium et du phosphore est de constituer l'essentiel de la charge minérale du squelette. Ces deux éléments exercent au niveau cellulaire et membranaire des actions sans doute plus importantes encore, puisque l'organisme n'hésite pas à les puiser dans le squelette pour réguler leur taux sanguins (Courbebaisse *et al.* 2011).

I.4.1. Métabolisme du calcium

I.4.1.1. Rôle physiologique et métabolisme du calcium

Le calcium est le principal constituant minéral des os, il régule les événements cellulaires fondamentaux, tels que les activités enzymatiques et l'excitabilité des membranes cellulaires. Il est essentiel pour de nombreux processus physiologiques, y compris la fonction nerveuse, la contraction musculaire et la coagulation sanguine. Le calcium est également un ion de signalisation centrale qui est cruciale pour contrôler la croissance, la prolifération et la survie des cellules normales et malignes.

Les concentrations sériques du calcium sont hautement régulées, dans des conditions physiologiques elles varient de 2,1 jusqu'à 2,6 mmol/l. Les voies métaboliques qui contribuent au maintien des concentrations sériques du calcium (calcémie) sont les processus de remodelage osseux, l'absorption et la sécrétion intestinale ainsi que la clairance rénale (Courbebaisse *et al.* 2011).

Le métabolisme du calcium dépend principalement de l'activité de l'hormone parathyroïdienne (PTH). Des facteurs externes (l'alimentation, les médicaments et l'activité physique) peuvent interférer, dans une moindre mesure, avec le métabolisme du calcium. Un adulte normal a besoin de 800 à 1200 mg/jour de calcium pour équilibrer l'apport et les pertes.

La plus grande partie du calcium extracellulaire est présente sous forme de cristaux d'hydroxyapatite $[Ca_3(PO_4)_2]_3$, $Ca(OH)_2$, qui est le composant principal des os (70 %) et des dents (96 %). Tandis que le collagène de type I représente plus de 90 % de la matrice organique des os. Dans le sang, près de la moitié du calcium sérique est liée à l'albumine sérique (40-45 %) ou à la globuline (2-5 %). Par contre, un petit pourcentage (5-10 %) est lié à de petits anions (carbonate, citrate, lactate, phosphate), et le reste (45-50 %) est sous forme ionisée (Ca^{2+}).

L'acidose augmente, tandis que l'alcalose diminue les niveaux de calcium libre, modifiant la liaison entre le calcium et l'albumine. Ainsi, les changements de pH peuvent modifier les niveaux de Ca^{2+} sans affecter la concentration totale de calcium, puisque les ions hydrogène concurrencent le calcium pour les sites de liaison sur l'albumine (Lumachi *et al.* 2011).

I.4.1.2. Absorption intestinale du calcium

Le calcium absorbé par voie intestinale est distribué dans l'organisme par les liquides extracellulaires, dont le sang, qui font partie du pool échangeable. Sa destinée essentielle est le tissu osseux où il est déposé (accrétion) mais aussi repris (résorption) de manière équilibrée.

C'est à chaque niveau d'échange, tube digestif, os, rein que les actions hormonales permettront la régulation de la calcémie (figure 13).

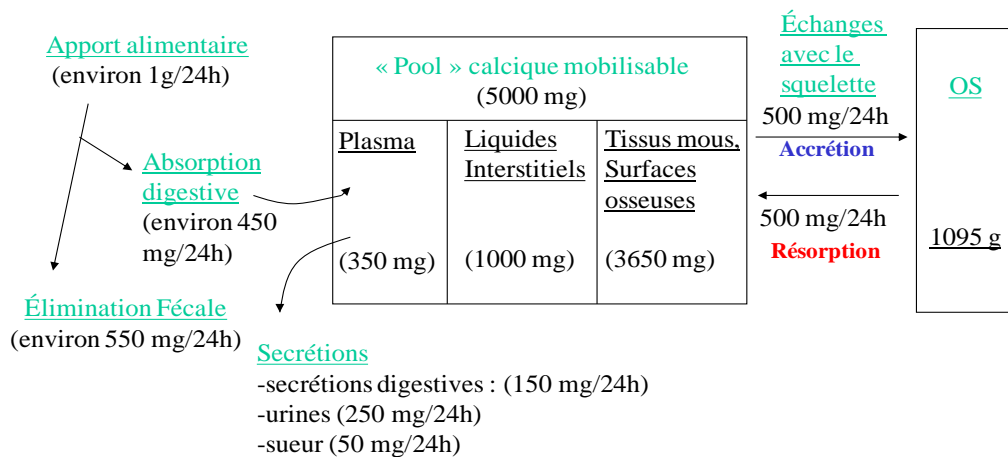


Figure 13 : Répartition du calcium dans l'organisme.

L'absorption « nette » du calcium correspond à la quantité absorbée moins la quantité sécrétée par les entérocytes vers la lumière intestinale. Si les apports alimentaires sont très faibles (200 mg ou moins), l'absorption nette du calcium est négative. Si l'absorption « nette » du calcium est inférieure à la quantité du calcium éliminée par le rein, la « balance calcique » est négative. Lorsque la quantité du calcium de la diète augmente, l'absorption dépend de deux mécanismes :

- Mécanisme passif paracellulaire : dépend du gradient de concentration et du gradient électrochimique entre la lumière intestinale et le plasma ;
- Mécanisme actif transcellulaire : médié par la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ qui stimule, dans l'entérocyte, différents gènes dont les produits participent à ce transport actif. La protéine TRPV6 crée un canal calcium à la bordure en brosse luminale de la cellule intestinale. Le calcium entrant dans la cellule est alors enfermé dans des vésicules qui contiennent une protéine liant le calcium, « la calbindine 9K ». Ces vésicules sont déplacées vers la membrane basolatérale avec laquelle elles fusionnent. Le calcium est extrudé vers le plasma via un échangeur sodium-calcium de faible affinité, mais de forte capacité (trois ions Na^+ entrent dans la cellule quand un ion calcium en sort) ou par l'intermédiaire d'une Ca-ATPase de haute affinité, mais de faible capacité. Ce processus est prépondérant lorsque les apports calciques sont faibles ou dans des conditions physiologiques (croissance, grossesse, lactation) ou pathologiques (granulomatoses, hyperparathyroïdies, etc.) durant lesquelles la concentration plasmatique de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ est élevée. Il permet d'augmenter significativement la fraction de calcium absorbé par rapport à la quantité ingérée (Courbebaisse *et al.* 2011).

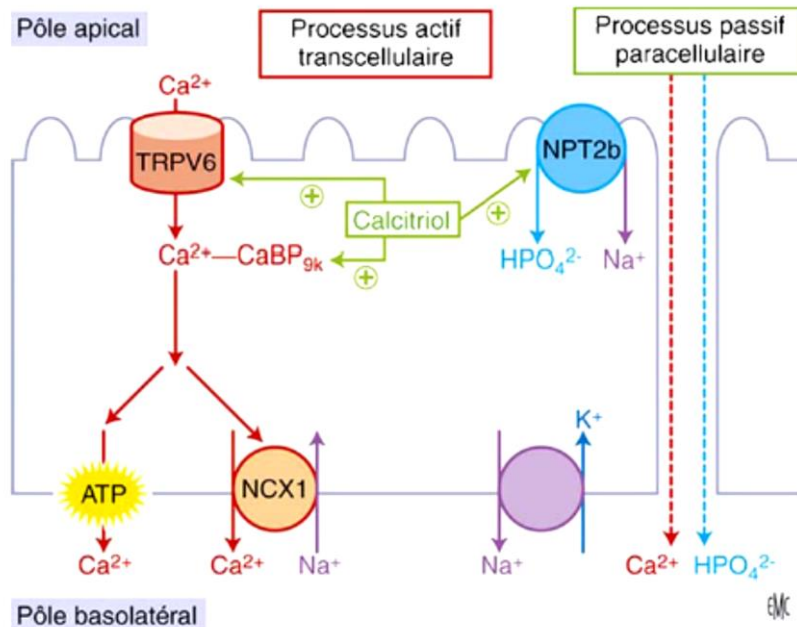


Figure 14 : Absorption digestive du calcium et du phosphate (Courbebaisse *et al.* 2011). La calbindine 9K (CaBP_{9k}), échangeur sodium/calcium NCX1, Ca-adenosine triphosphatase (ATPase).

1.4.1.4. Régulation du métabolisme du calcium

Le calcium circule dans le plasma partiellement lié aux protéines (environ 50 %) et le reste est sous forme ionisée libre. La fraction libre dans le plasma est maintenue dans les limites étroites principalement par les actions de la PTH et de 1,25-dihydroxyvitamine D3 (calcitriol). La sécrétion de calcitonine réagit également aux changements de concentrations du Ca^{2+} dans le plasma, mais elle est moins importante dans le contrôle global de l'homéostasie du Ca^{2+} . Le calcium dans le plasma est en échange dynamique avec le Ca^{2+} dans l'intestin, les tubules rénaux et les os (figure 15-16) (Waller *et al.* 2018).

a) Hormone parathyroïdienne et homéostasie calcique

La PTH est une hormone polypeptidique qui est le principal régulateur physiologique du Ca^{2+} dans le sang. Sa sécrétion par les cellules principales parathyroïdiennes est stimulée par une diminution du calcium ionisé dans le plasma. La sécrétion de PTH est inhibée lorsque la calcémie est élevée. Les principales actions de la PTH relatives à l'homéostasie calcique sont :

- Stimulation de la synthèse de la forme active de la vitamine D (calcitriol) dans le rein par une régulation positive de l'enzyme responsable de 1α hydroxylation ;
- Augmentation de la réabsorption du Ca^{2+} dans les tubules distaux des reins et amélioration de l'excrétion urinaire des phosphates. L'augmentation dans le plasma du ratio Ca^{2+} /phosphate augmente également le Ca^{2+} libre plasmatique ;

- Mobilisation du Ca^{2+} et du phosphate osseux par la stimulation des ostéoclastes, ce qui augmente la résorption osseuse (Waller *et al.* 2018).

b) Vitamine D et homéostasie calcique

La vitamine D (calciférol) est un groupe de composés qui ont des noyaux secostéroïdes (un noyau de stéroïdes avec une liaison dans le cycle stéroïdes ouvert). Il existe deux précurseurs de la vitamine D active. L'ergocalciférol (vitamine D2) est dérivé de l'alimentation et est absorbé par l'intestin. Toutefois, compte tenu des rayons ultraviolets B, la principale source de la vitamine D est la conversion du 7-déshydrocholéstérol dans la peau en cholécalciférol (vitamine D3). Par conséquent, la vitamine D est vraiment une hormone dérivée de la peau plutôt qu'une vitamine.

Les vitamines D2 et D3 sont ensuite métabolisées dans le foie en 25-hydroxyvitamine D3 (calcidiol), puis dans les reins en 1,25-dihydroxyvitamine D3 (calcitriol). 1 α -Hydroxylation est une étape essentielle pour l'activation de la vitamine D, et la PTH stimule l'activité de 1 α -hydroxylase dans les reins, augmentant ainsi la formation de calcitriol (figure 15). Le calcitriol se lie à des récepteurs spécifiques de la vitamine D dans le noyau de la cellule cible et le complexe « Vitamine D-Récepteur » agit comme un facteur de transcription qui augmente la synthèse des protéines de transport de Ca^{2+} dans l'intestin (Waller *et al.* 2018, Lung *et al.* 2020).

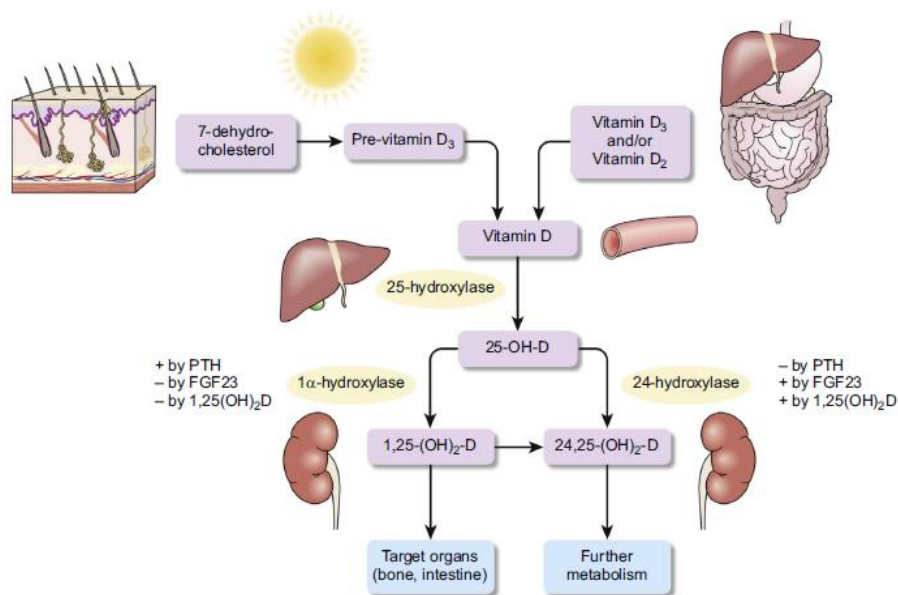


Figure 15 : métabolisme de la vitamine D (Waller *et al.* 2018).

Le principal effet des formes actives de la vitamine D est d'augmenter la concentration plasmatique de Ca^{2+} par :

- Faciliter l'absorption de Ca^{2+} par l'intestin grêle ;
- Renforcer la mobilisation du Ca^{2+} à partir des os en augmentant le nombre et l'activité ostéoclastiques.

c) Calcitonine et homéostasie calcique

La calcitonine est un peptide sécrété par les cellules parafolliculaires de la thyroïde lorsque ses récepteurs sensibles au calcium détectent une élévation du Ca^{2+} plasmatique. La principale cellule cible de la calcitonine est l'ostéoclaste, inhibée par stimulation de l'adénylate cyclase ce qui réduit ainsi le renouvellement osseux. La calcitonine diminue également la réabsorption du Ca^{2+} et du phosphate par les reins, augmentant ainsi leur excrétion rénale (figure 16) (Waller *et al.* 2018).

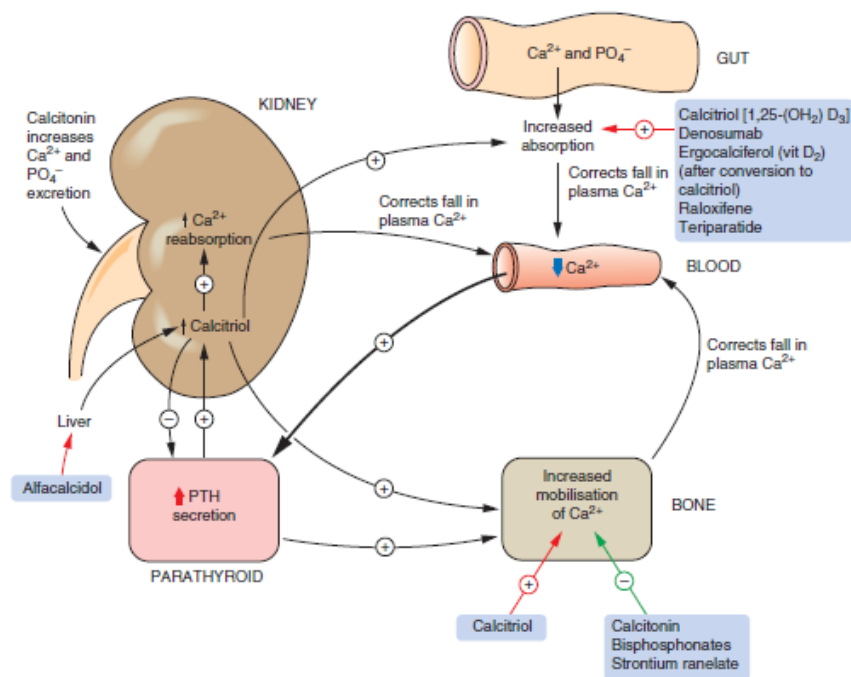


Figure 16 : Régulation du métabolisme du calcium (Waller *et al.* 2018). Une chute du Ca^{2+} plasmatique entraîne une augmentation de la libération de la PTH par la glande parathyroïde, ce qui augmente la formation du calcitriol [1,25-(OH)₂-D₃] dans les reins. Cela augmente à son tour l'absorption intestinale du Ca^{2+} . La PTH augmente encore la mobilisation osseuse du Ca^{2+} pour ramener la concentration plasmatique du Ca^{2+} à la normale. En revanche, une augmentation du Ca^{2+} plasmatique diminue la sécrétion de la PTH. La calcitonine, sécrétée par la thyroïde, diminue la réabsorption du Ca^{2+} des reins ainsi que le renouvellement osseux. Les médicaments utilisés pour l'hypercalcémie sont indiqués par des flèches vertes et les médicaments administrés pour l'hypocalcémie sont désignés par des flèches rouges.

1.4.1.5. Troubles du métabolisme du calcium

a) Hypercalcémie

Les principales causes de l'hypercalcémie sont :

- Augmentation de la résorption du Ca^{2+} par les os; par exemple dans le cas d'une hyperparathyroïdie primaire, sécrétion d'hormones parathyroïdiennes par les cellules cancéreuses et les métastases osseuses.
- Absorption accrue du Ca^{2+} dans l'intestin par utilisation excessive de la vitamine D ou dans le cas de la sarcoïdose.
- Réduction de l'excrétion rénale du Ca^{2+} , à titre d'exemple l'hypercalcémie produite par les diurétiques thiazidiques.

L'hypercalcémie survient lorsque la mobilisation du Ca^{2+} dans l'espace extracellulaire dépasse la capacité de son élimination. L'hypercalcémie modérée chronique entraîne un déclin progressif de la fonction rénale, la formation de calculs rénaux et la calcification ectopique (cornée, vaisseaux sanguins). L'hypercalcémie grave cause l'anorexie, les nausées, les vomissements, la constipation, la somnolence et la confusion ce qui aboutit à un coma. L'hypercalcémie affecte la capacité du rein de réabsorber le sel et l'eau ce qui, en association avec les vomissements, peut entraîner une diminution du volume plasmatique et une insuffisance pré-rénale. Un traitement urgent est indiqué lorsque la concentration plasmatique du Ca^{2+} dépasse 3,5 mmol/l, car une mort subite peut être entraînée suite à un arrêt cardiaque (Waller *et al.* 2018).

b) Hypocalcémie

Il existe deux causes principales de l'hypocalcémie :

- Carence en PTH : par exemple dans le cas d'une hypoparathyroïdie idiopathique ou bien après une ablation chirurgicale de la parathyroïdie.
- Carence en vitamine D : par exemple suite à une carence alimentaire, une exposition limitée à la lumière du soleil ou suite à une insuffisance rénale (insuffisance de 1α -hydroxylation).

L'hypocalcémie produit une irritabilité neuromusculaire avec une paraesthésie des extrémités ou autour de la bouche, des crampes musculaires et la tétanie. Lorsqu'elle est sévère, elle peut provoquer des crises. L'hypocalcémie chronique, surtout dans l'hypoparathyroïdie congénitale, est associée à une déficience mentale, à des crises d'épilepsie, à une calcification intracrânienne (par ex. plexus choroïde) et à des cataractes oculaires (Waller *et al.* 2018).

L'hypocalcémie est aussi observée suite à une insuffisance rénale, une hypomagnésémie, un déficit en magnésium, une pancréatite et une ostéoporose.

I.4.2. Métabolisme du phosphate

I.4.2.1. Rôle physiologique du phosphate

Le phosphore (P) soit sous forme de phosphate inorganique (Pi) ou bien organique est un composant majeur de tous les tissus. Il est essentiel pour plusieurs fonctions vitales du corps : la minéralisation squelettique, le stockage et la libération de l'énergie métabolique, la signalisation intracellulaire, l'activation enzymatique, le maintien de l'homéostasie acide-base et contraction musculaire squelettique et lisse. Un corps adulte en bonne santé contient environ 22 mol (630 g) de phosphate, dont 85 % sont présents dans le squelette sous forme d'hydroxyapatite $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})]$, 10 % à 15 % dans le muscle squelettique et 1 % dans le liquide extracellulaire (Leung *et al.* 2019).

La concentration du phosphate plasmatique est maintenue dans un intervalle relativement étroit (0,80 à 1,50 mmol/l). Cet intervalle varie selon l'âge : les valeurs plus élevées durant la petite enfance, puis elles diminuent progressivement jusqu'à l'âge adulte (DiMeglio *et al.* 2000). La consommation quotidienne moyenne du phosphate est d'environ 50 mmol. Son absorption alimentaire est plus importante lorsqu'il se présente sous une forme soluble (viandes) que lorsqu'il se présente sous une forme insoluble (légumes).

I.4.2.2. Absorption intestinale du phosphate

L'absorption intestinale des phosphates est beaucoup plus efficace que celle du calcium. En gros, 60 à 70 % des phosphates ingérés sont absorbés suite à un régime alimentaire équilibré. Comme le calcium, l'absorption du phosphate est médiée par des mécanismes transcellulaires actifs (régulés) et paracellulaires passifs. Le transport transcellulaire saturable de cet élément devient plus limité et la plupart du phosphate absorbé est transporté par la voie non saturable paracellulaire. L'absorption du calcium et du phosphate individuellement est plus efficace lorsqu'ils sont ingérés séparément, car le phosphate se lie au calcium dans l'intestin, ce qui gêne l'absorption des deux minéraux.

L'absorption du phosphate peut se produire dans tout l'intestin grêle, mais les sites intestinaux de l'efficacité maximale d'absorption du phosphate varient entre les espèces. Chez l'être humain, le phosphate est absorbé plus efficacement dans les segments proximaux de l'intestin grêle (duodénum et jéjunum). Dans l'épithélium intestinal, plusieurs transporteurs de phosphate sont exprimés. Toutefois, le co-transporteur sodium-phosphate 2b (NPT2b)

représente 90 % du transport actif des phosphates et environ la moitié du transport total des phosphates. NPT2b dans l'intestin et les co-transporteurs NPT2a et NPT2c dans le rein sont des glycoprotéines membranaires avec huit domaines couvrant la membrane et les domaines intracellulaires longs N-terminal et C-terminal.

Le NPT2b transporte le sodium et le phosphate avec une fraction molaire de 3:1 ($3\text{Na}^+ : 1\text{HPO}_4^{2-}$), ce qui génère un potentiel de tension négative de la lumière intestinale. Lors des apports alimentaires élevés en phosphate, l'internalisation du NPT2b limite l'absorption du phosphate. L'expression membranaire apicale de NPT2b peut être régulée par l'endocytose (figure 17), ce processus est régulé par une phosphorylation médiée par la protéine kinase C (PKC). L'apport alimentaire faible ou élevé en phosphates modifie l'expression de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ et de NPT2b respectivement, pour réguler ou réduire l'absorption des phosphates. Comme pour le calcium, la diminution du phosphate alimentaire stimule les processus pour améliorer l'efficacité d'absorption (DiMeglio *et al.* 2014).

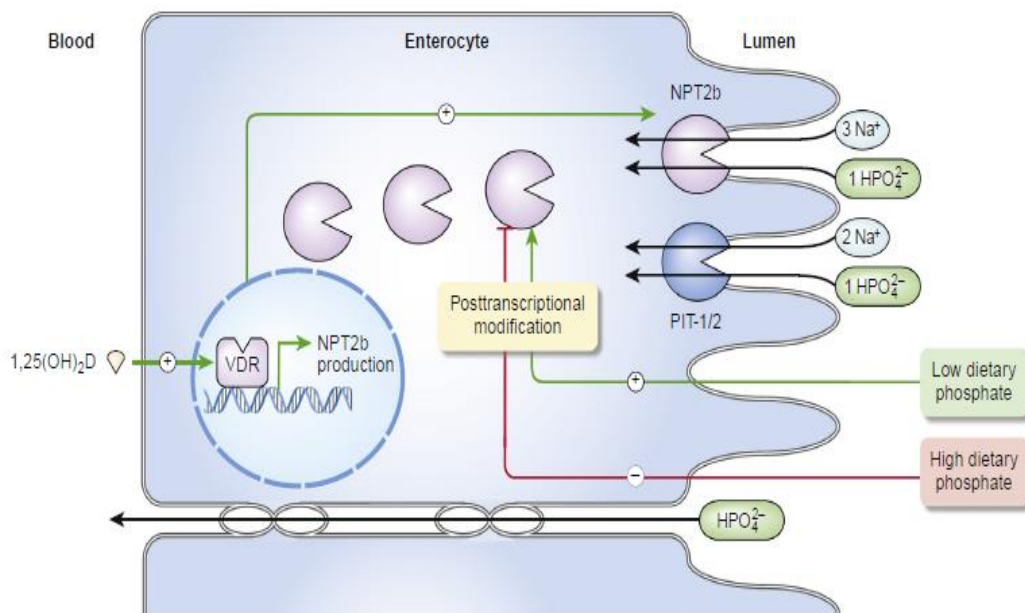


Figure 17 : Absorption intestinale du phosphate (DiMeglio *et al.* 2014). Le cotransporteur de phosphate-sodium 2b (NPT2b) est le principal transporteur dans l'intestin. La liaison de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ au récepteur de la vitamine D (VDR) entraîne une augmentation de l'expression de NPT2b, ce qui augmente l'absorption. La teneur en phosphate alimentaire entraîne une modification post-transcriptionnelle modifiant ainsi l'expression de la protéine NPT2b au niveau de la bordure en brosse, indépendamment de la transcription et de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Les PIT-1 et PIT-2 sont des transporteurs de phosphate à expression omniprésente, mais ils ne sont pas régulés. L'absorption paracellulaire passive se produit également.

1.4.2.3. Homéostasie du métabolisme du phosphate

L'homéostasie du phosphate est régulée par plusieurs hormones, principalement l'hormone parathyroïdienne (PTH), le 1,25-dihydroxycholecalciférol (1,25 DHCC) et le facteur de croissance des fibroblastes 23 (FGF23).

Le phosphate est un composant clé d'une variété de composés biochimiques (les protéines, les acides nucléiques et les phospholipides) qui sont impliqués dans de nombreux processus biologiques. Le phosphate intracellulaire est important dans les molécules du stockage de l'information (ADN et ARN), de la signalisation des voies de transduction, de l'activation des enzymes/protéines via la phosphorylation et l'AMPc ainsi que pendant le processus de métabolisme énergétique et de génération de l'ATP. Le phosphate absorbé dans les intestins et excrété par les reins. Chez les adultes, chaque jour, environ 300 mg du phosphate sont échangés entre le tissu osseux et le milieu extracellulaire. De plus, en réponse aux changements de pH, le phosphate se déplace entre les compartiments intracellulaires, extracellulaires et squelettiques en tant qu'un système tampon qui aide à maintenir le pH du plasma et de l'urine relativement constant.

Trois hormones régulent les concentrations de phosphate plasmatique à savoir 1,25(OH)₂D, PTH et FGF23. Ces hormones modifient l'absorption du phosphate intestinal « 1,25(OH)₂D » et la réabsorption tubulaire rénale de phosphate (PTH et FGF23). Cependant, PTH et 1,25(OH)₂D fonctionnent principalement pour réguler l'équilibre du calcium, tandis que FGF23 est impliqué principalement dans l'équilibre du phosphate. Toutefois, il est à noter que ni FGF23 ni PTH ne sont en mesure de compenser entièrement l'absence de l'autre dans l'équilibre des phosphates, c'est-à-dire que l'absence de l'une ou l'autre hormone entraîne une hyperphosphatémie. La régulation primaire du phosphate corporel total se produit au niveau de la réabsorption du phosphate filtré par les cellules rénales du tubule proximal. De plus, la production du tubule proximal rénal de 1,25(OH)₂D modifie l'absorption du phosphate intestinal. Les modifications de l'apport alimentaire en phosphate induisent des changements dans la régulation de la production de chacune de ces hormones (Courbebaisse *et al.* 2011, DiMeglio *et al.* 2014).

La figure 18 illustre le mécanisme de régulation hormonal du métabolisme phosphocalcique.

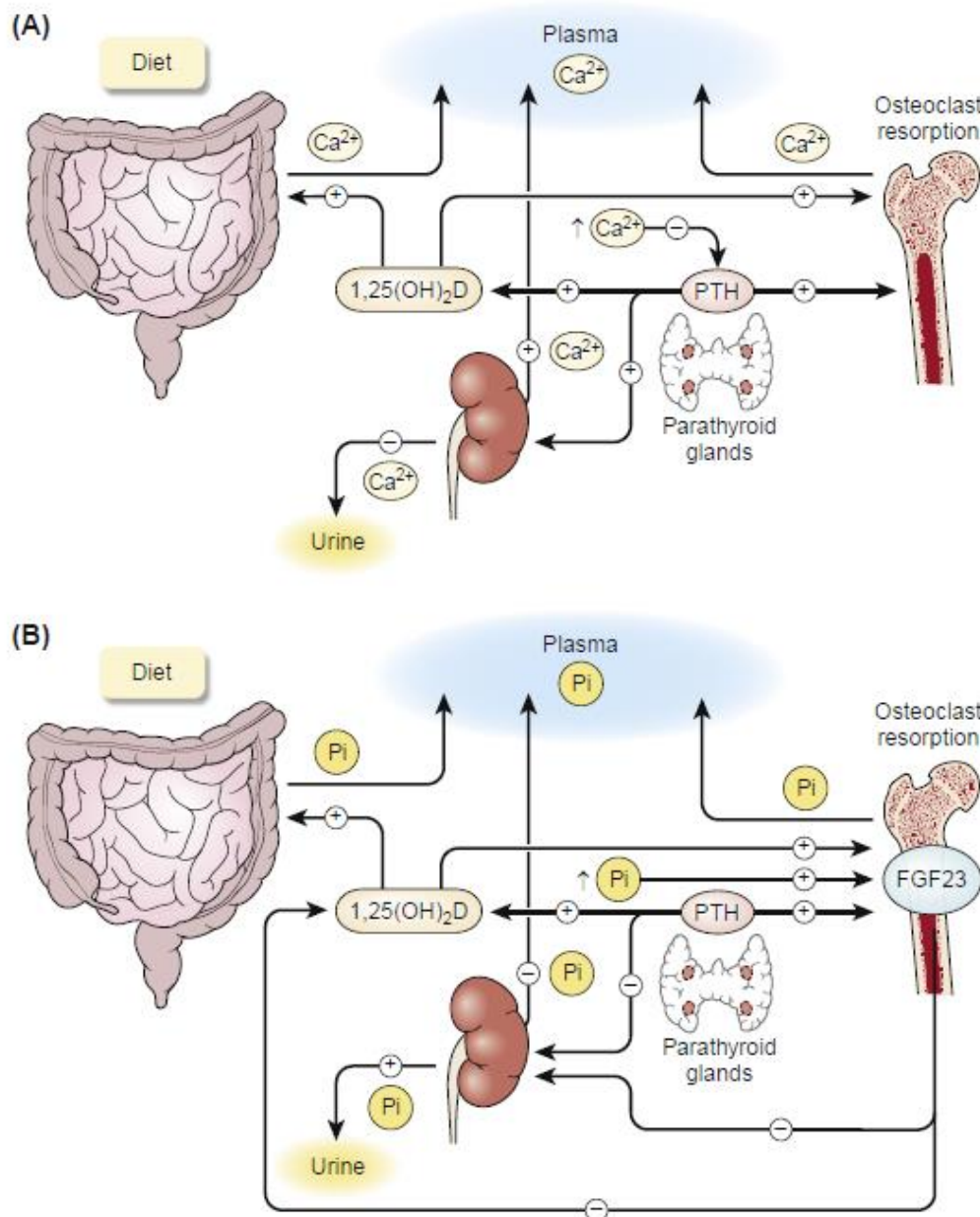


Figure 18 : Régulation hormonale du métabolisme phosphocalcique (DiMeglio *et al.* 2014).

(A) La glande parathyroïde détecte le taux de calcium extracellulaire et sécrète l'hormone parathyroïdienne (PTH) en réponse à des faibles concentrations plasmatiques de calcium. Le calcium élevé réprime la sécrétion de la PTH. La PTH stimule la résorption osseuse du calcium ainsi que sa réabsorption dans les reins. La PTH stimule également la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, ce qui augmente la résorption ostéoclastique du calcium provenant des os de même que l'absorption intestinale du calcium. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ inhibe également la production de la PTH. (B) Le facteur de croissance 23 (FGF23) est produit dans les ostéocytes. La PTH et le FGF23 inhibent tous deux la réabsorption du phosphate rénal. Le FGF23 inhibe aussi la production rénale de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ et la PTH. L'effet absolu de FGF23 est de diminuer la concentration du phosphate plasmatique. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ stimule l'absorption intestinale du phosphate. Le phosphate et le $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ stimulent la production de FGF23.

1.4.2.4. Troubles du métabolisme du phosphate

a) Hypophosphatémie

Chez un adulte, l'hypophosphatémie est caractérisée par une concentration sérique du phosphate de 0,8 mmol/l, à une concentration de 0,3 mmol/l elle est classée comme une hypophosphatémie grave. Bien que rare dans la population générale, l'incidence de l'hypophosphatémie chez les patients hospitalisés est de 2,2 % à 3,1 %, mais elle est plus élevée dans certains sous-groupes de patients comme ceux des unités de soins intensifs (29 % à 34 %) ; ceux qui souffrent d'alcoolisme chronique (30 %) et ceux qui subissent une chirurgie posthépatique.

Les fausses causes de l'hypophosphatémie peuvent provenir de facteurs pré-analytiques selon la méthode et l'analyseur utilisés, comme l'interférence de la bilirubine et l'administration de mannitol. Le mannitol peut se lier au molybdate et causer une pseudohypophosphatémie.

La cause de l'hypophosphatémie est souvent multifactorielle, mais il existe trois mécanismes majeurs par lesquels elle peut se produire à savoir : la redistribution transcellulaire du phosphate dans les cellules, la diminution de l'absorption intestinale et l'augmentation des pertes rénales/gastro-intestinales. La redistribution du phosphate de l'espace extracellulaire vers l'espace intracellulaire (redistribution interne) est la raison la plus fréquente d'hypophosphatémie chez les patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs.

La présentation des symptômes et des signes de l'hypophosphatémie peut varier et dépendre de la gravité et de la chronicité de la carence en phosphate en relation avec les niveaux du phosphate plasmatique. Parmi ces symptômes nous pouvons citer :

- Symptômes hématologiques (diminution de 2,3-diphosphoglycerate, baisse de l'oxygénation des tissus, diminution de la phagocytose, diminution de l'activité bactéricide et une thrombocytopénie),

- Symptômes dans les muscles squelettiques et lisses (la myopathie proximale et une rhabdomyolyse, une douleur osseuse, une ostéomalacie, rachitisme et un retard de croissance),

- Symptôme du système nerveux central (tremblements, convulsions et confusion), système cardiovasculaire (cardiomyopathie), système respiratoire (insuffisance respiratoire), système rénal (hypercalciurie, hypermagnésurie et acidose métabolique).

La plupart de ces caractéristiques sont apparentes dans l'hypophosphatémie grave lorsque les concentrations du phosphate chutent en dessous de 0,3 mmol/l. Bien que les changements squelettiques tels que le rachitisme ou l'ostéomalacie soient la seule anomalie cohérente diagnostiquée dans l'hypophosphatémie modérée de longue durée (Leung *et al.* 2019).

b) Hyperphosphatémie

L'hyperphosphatémie peut être causée par quatre mécanismes principaux : la charge aiguë en phosphate, le déplacement transcellulaire, la diminution de l'excrétion rénale et la pseudohyperphosphatémie.

L'hyperphosphatémie est présente lorsque les concentrations sériques du phosphore sont supérieures à la norme. Elle est le plus souvent due à une consommation excessive de phosphate dans le contexte d'une maladie rénale chronique, où la clairance du phosphate est altérée. Une autre cause fréquente d'hyperphosphatémie chronique est l'hypoparathyroïdie. Les troubles héréditaires liés au métabolisme du facteur FGF23 causant l'hyperphosphatémie sont plus rares.

L'hyperphosphatémie aiguë se produit dans le cadre d'un apport en phosphate excessivement élevé (une suralimentation, une administration intraveineuse, des lavements au phosphate) ou parfois en raison d'une intoxication à la vitamine D. L'hyperphosphatémie due à la lyse cellulaire peut se produire pendant la phlébotomie ou pendant le traitement de l'échantillon du sang (pseudo-hyperphosphatémie), mais aussi pendant l'hémolyse intravasculaire, ou le syndrome de lyse tumorale, particulièrement avec hémopathies malignes.

Une hyperphosphatémie aiguë grave, associée à une hypocalcémie symptomatique (tétanie, convulsions et hypotension), peut mettre la vie en danger. À des niveaux élevés de phosphate plasmatique, ce dernier se lie au calcium, ce qui entraîne la précipitation et le dépôt de phosphate et de calcium dans les tissus mous, ce qui engendre leur calcification. La calcification peut se produire dans n'importe quel organe, y compris le myocarde, les poumons, le foie, la peau, la cornée et la conjonctive. Parfois, la calcification vasculaire peut produire la gangrène et la calciphylaxie. L'hyperphosphatémie, même à des degrés légers, est associée aux résultats des maladies cardiovasculaires et à la mortalité (DiMeglio *et al.* 2014, Leung *et al.* 2019).

II. Méthodes d'exploration des marqueurs plasmatiques

II.1. Exploration de la glycorégulation

Du plus simple au plus complexe, trois moyens principaux du dépistage de diabète sont à décrire à savoir : dépister la glycosurie, doser la glycémie et pratiquer des épreuves complémentaires. Ces examens sont complétés par d'autres tests utilisés dans le cadre du typage du diabète, de sa surveillance et de ses complications.

II.1.1. Auto-surveillance de la glycémie

Afin d'obtenir le contrôle de la glycémie et de le maintenir sur une base quotidienne, il est essentiel pour les patients atteints de diabète de faire une autosurveillance de la glycémie. Les données obtenues grâce à la surveillance servent à évaluer l'efficacité du protocole de traitement et la fréquence de l'hypoglycémie ainsi qu'à examiner le régime alimentaire. En effet, la précision et la facilité d'utilisation de l'appareil de surveillance du glucose ont beaucoup progressé.

II.1.1.1. Glucosurie

La glucosurie est la présence de glucose dans les urines. Elle résulte de la filtration glomérulaire importante de glucose. Elle se produit chez tous les individus normaux en quantités allant jusqu'à 25 mg/dl. Une augmentation anormale de la glucosurie (plus de 25 mg/dl dans l'urine fraîche) résulte soit d'une glycémie plasmatique élevée, soit d'une capacité d'absorption du glucose rénal altérée, ou des deux.

La glycosurie est une mise en évidence du pouvoir réducteur de l'urine sur la liqueur de Fehling ou de Benedict. Dans ce cas la valeur de la glycémie doit être supérieure à 1,80 g/l. Il s'agit d'une auto-surveillance en utilisant des bandelettes urinaires (Cowart *et al.* 1990).

II.1.1.2. Glycémie

La glycémie correspond au taux de glucose dans le sang. La zone de normalité est comprise entre 3,9 et 5,8 mmol/l (soit 0,7 à 1,05 g/l). Ce taux varie selon l'âge (-20% « de 1 mois à 4 ans » ; -5 à -10% « de 4 à 10 ans » ; + 10 % « après 60 ans »).

Il s'agit d'un dosage colorimétrique à la suite de deux réactions enzymatiques couplées (figure 19).

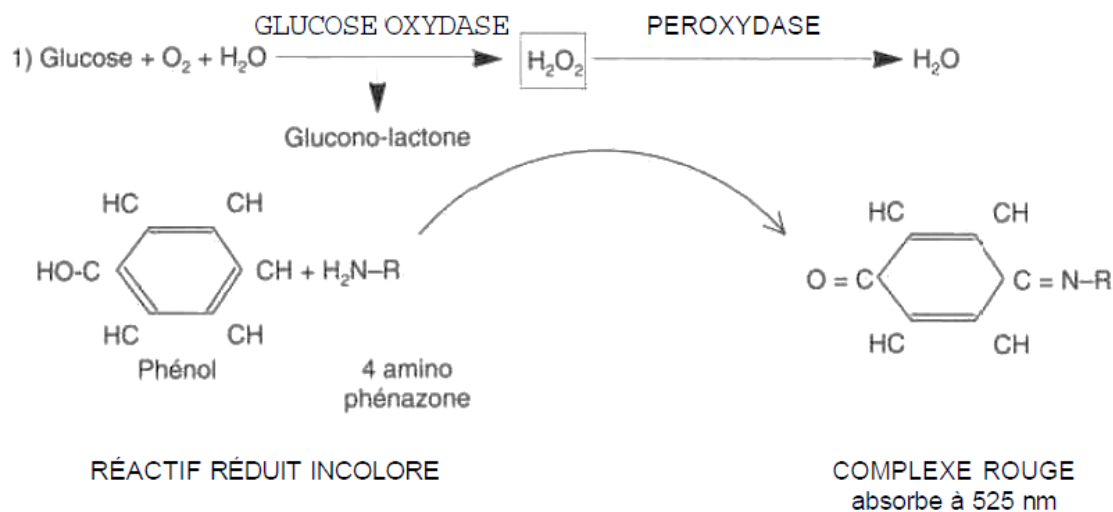


Figure 19 : Principe du dosage de glucose par méthode enzymatique.

Cette méthode peut aussi être réalisée à l'aide de bandelettes réactives dont l'extrémité, imprégnée de réactifs, reçoit une goutte de sang. La variation de coloration est appréciée soit visiblement à l'aide d'une échelle colorée soit par un lecteur portable indépendant et elle permet d'estimer la valeur de la glycémie.

II.1.2. Épreuves dynamiques et dosages complémentaires (test de tolérance au glucose)

Le principe de cette épreuve a été déduit de l'observation 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).

Le test de tolérance au glucose est utilisé pour déterminer la capacité d'une personne à gérer une charge en glucose. Le test peut montrer si une personne peut métaboliser une quantité normalisée de glucose. Les résultats peuvent être classés comme normaux, altérés ou anormaux. Ce test peut être utilisé pour diagnostiquer le diabète sucré de type 1, le diabète sucré de type 2 et le diabète gestationnel. Il s'agit d'un test sanguin qui consiste à prélever plusieurs échantillons de sang au fil du temps, habituellement 2 heures (Eyth *et al.* 2020).

II.1.2.1. Hyperglycémie provoquée par voie orale

L'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) est une méthode qui permet d'apprécier la tolérance glucidique en suivant les variations de la glycémie, après une charge en glucose administrée per os (voie orale).

Le protocole d'une HGPO consiste à administrer une quantité de glucose standard de 75 g dans un minimum d'eau (250 ml). Le sujet étant à jeûne depuis 12 heures avec une alimentation équilibrée (200 à 300 g de glucides) dans les trois jours qui précèdent l'épreuve. Il est recommandé de proscrire (si possible) les corticoïdes, les diurétiques thiazidiques, les catécholamines, les oestroprogestatifs qui diminuent la tolérance au glucose.

Les glycémies sont dosées à T0 (avant absorption du sirop de glucose), puis de demi-heure en demi-heure pendant 3 ou 4 heures. La glycosurie est recherchée et dosée s'il y a lieu après 1 heure et 2 heures.

Dans le cas normal, la glycémie augmente et atteint son maximum entre 30 et 60 minutes. Cette variation doit être inférieure à 2,8 mmol/l (0,5 g/l) puis elle redescend à son niveau initial en un temps inférieur à 2 heures (figure 20). Après le retour à la normale survient une onde d'hypoglycémie, liée à l'insulinosécrétion (baisse de 0,8 mmol environ pendant 20 à 40 minutes). La glycosurie doit être nulle.

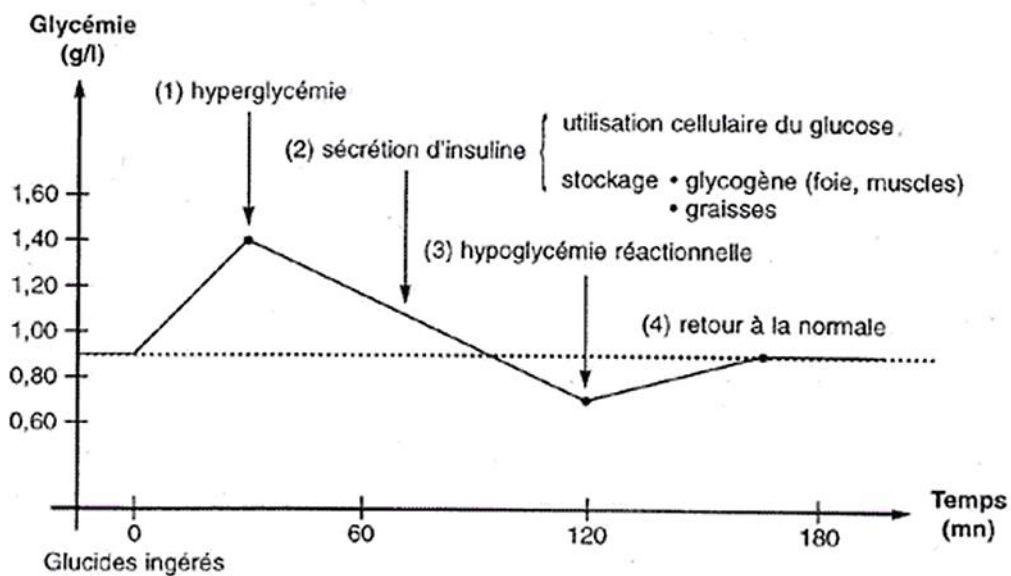


Figure 20 : variation de la glycémie au cours d'une HGPO chez un sujet sain

Tableau IV : Variation des taux de glycémie au cours d'une HGPO chez un sujet sain et diabétique.

	Valeurs normales	Hyperglycémie à jeun « altération de la glycémie à jeun »	Intolérance au glucose	Diabète sucré
T0 mmol/l	< 6,1	6,1-7,0	-	>7,0
g/l	<1,1	1,10-1,26	-	>1,26
T120 mmol/l	<7,8	-	7,8-11,1	>11,1
g/l	<1,40	-	1,4- 2,0	≥2,0

En ce qui concerne le diagnostic du diabète gestationnel, une épreuve de dépistage (HGPO) est pratiquée avec 50 g de glucose. Si la glycémie est > 1,40 g/l à T 60, un test de diagnostic avec 100 g de glucose est alors pratiqué (le sujet est diabétique si deux glycémies retrouvées : glycémie >1,05 g/l à T0 et > 1,90 g/l à T 60 ou glycémie > 1,65 g/l à T 120 et > 1,45 g/l à T 180) (Chanson 2013).

II.1.2.2. Hyperglycémie provoquée par voie veineuse

Il s'agit d'une évaluation de la capacité sécrétoire du pancréas (sécrétion d'insuline) et de la tolérance glucidique chez un sujet. L'injection intraveineuse de glucose entraîne une sécrétion immédiate d'insuline par les cellules bêta du pancréas, ce qui permettra de tester la réponse du pancréas. Elle explore le coefficient d'assimilation du glucose K (taux de glucose présent dans les liquides extracellulaires consommé par minute).

Les mêmes précautions de base doivent être prises que pour l'hyperglycémie provoquée par voie orale.

Une glycémie à jeûne à temps zéro est prélevée, puis une injection intraveineuse de 25 g de glucose (sous forme de soluté hypertonique) est effectuée en 4 à 6 minutes. Les échantillons sont prélevés toutes les 10 minutes pendant 90 minutes pour le dosage de la glycémie. Celle-ci s'élève en moins de 5 minutes et rejoint sa base en 60 minutes environ en décroissance exponentielle, qui permet de déterminer le coefficient d'assimilation du glucose K, qui est dans le cas normal autour de $1,74 \times 10^{-2}$ (Marrack *et al.* 1961).

II.1.2.3. Hyperglycémies provoquées sensibilisées

a) Test à la cortisone glucose

Le test à la cortisone glucose a été décrit comme une approche possible de la prédiction du diabète sucré.

Ce test consiste à administrer *per os* 50 mg d'acétate de cortisone, 8 heures puis 2 heures avant une hyperglycémie provoquée. La cortisone entraîne un état d'hyperglycémie prolongée, c'est-à-dire une concentration exagérée de la glycémie qui, 2 heures après l'ingestion du glucose, est encore présente chez les individus normaux présentant alors une glycémie de 1,40 g. Toute glycémie dépassant 1,4 g/l à la deuxième heure témoigne d'un diabète latent (diabète sucré sans manifestations cliniques) (Fajans *et al.* 1961).

b) Test à l'insuline glucose

Une analyse d'insuline dans le sang est le plus souvent utilisée pour: découvrir la cause de l'hypoglycémie, diagnostiquer ou surveiller la résistance à l'insuline, surveiller l'état des personnes atteintes de DST2 et aussi de diagnostiquer une tumeur du pancréas (insulinome).

Un test à l'insuline est parfois utilisé avec d'autres tests (hémoglobine glyquée) qui permettent de diagnostiquer et surveiller le DST1. Ce test consiste à administrer 30 g de glucose *per os* et 5 U d'insuline qui doivent se compenser. La glycémie reste telle qu'elle est chez le sujet normal.

II.1.2.4. Insulinémie

L'insulinémie est le taux de l'insuline dans le sang. Chez l'homme, une unité d'insuline métabolise 3 à 4 g de sucre. Un adulte sain sécrète environ 50 à 70 U d'insuline par jour, ce qu'il faut pour métaboliser la consommation quotidienne courante de l'ordre de 200 à 300 g de glucides.

Les méthodes de dosage reposent sur des techniques radio-immunologiques qui est une compétition entre l'insuline radioactif et l'insuline présente dans l'échantillon à doser. Des techniques immuno-enzymatiques où l'insuline à doser est prise en sandwich entre un anticorps fixé sur un support solide et un anticorps marqué par une enzyme ; dont l'activité facilement mesurable et qui est proportionnelle à la quantité d'insuline présente dans l'échantillon. 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. En effet, 1 unité U d'insuline = 0,04 mg ou bien 40 µg d'insuline (Szybiński *et al.* 2001).

II.1.2.5. Dosage du peptide C. test au glucagon

Ce test mesure le niveau du peptide C dans le sang ou les urines. Le peptide C, est une substance synthétisée dans le pancréas avec l'insuline. Le peptide C et l'insuline sont libérés du pancréas en même temps et en quantités équimolaire. Donc un test du peptide C peut montrer le taux d'insuline produit par l'organisme. Ce test peut être un bon moyen de mesurer les niveaux d'insuline car le peptide C a une durée de vie plus longue (20 à 30 min) que l'insuline (3 à 5 min).

Le test de peptide C est souvent utilisé pour distinguer la différence entre le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Dans le cas du diabète de type 1, le pancréas produit peu ou pas d'insuline, et peu ou pas de C-peptide. Dans le cas du diabète de type 2, le corps produit de l'insuline, mais ne l'utilise pas bien. Cela peut faire en sorte que les niveaux de peptide C soient plus élevés que la normale. Ce test nous permet aussi de diagnostiquer l'étiologie d'une hypoglycémie, de vérifier si les traitements contre le diabète fonctionnent et de vérifier l'état d'une tumeur pancréatique.

On étudie souvent le peptide C sous stimulation du pancréas endocrine par le test au glucagon, après administration par voie intraveineuse ou intramusculaire de 1 mg du glucagon. Le glucagon est une hormone hyperglycémiant (qui provoque une augmentation de la glycémie) sécrétée par les cellules α 2 (ou cellules A) des îlots de Langerhans du pancréas et qui agit principalement sur le foie en provoquant une glycogénolyse (Raache *et al.* 2015).

Les dosages sont faits au bout de 4, 6, 10 et 20 minutes. Les taux sont de 1 à 2 ng/ml à jeûne et s'élèvent rapidement vers la 4^{ème} à la 6^{ème} minute où ils atteignent le double du taux de base.

II.1.2.6. Autres types d'examens

D'autres types d'examens sont utilisés dans le cadre de la surveillance du diabète, de ses complications et de son typage.

a) Protéines glyquées

Les protéines sanguines ou tissulaires sont susceptibles de se lier spontanément au glucose sanguin et que cette liaison est d'autant plus facile que la concentration en glucose est importante.

Le test d'hémoglobine A1c (HbA1c) mesure la quantité de glucose dans le sang associée à l'hémoglobine. L'hémoglobine est la partie des globules rouges qui transporte l'oxygène à partir des poumons vers le reste du corps. Un test HbA1c montre la quantité moyenne de glucose attachée à l'hémoglobine au cours des trois derniers mois (figure 21). C'est une moyenne de trois mois qui correspond à la durée de vie des globules rouges. Il peut être effectué à n'importe quel moment de la journée et ne nécessite aucune préparation spéciale comme le jeûne. Ces propriétés en ont fait le test préféré pour évaluer le contrôle glycémique chez les personnes diabétiques. Il est aussi utilisé comme un test de diagnostique pour le diabète et comme un test de dépistage pour les personnes à risque élevé de diabète (WHO 2011, Jaisson *et al.* 2018). Les techniques permettant le dosage spécifique de l'HbA1c exploitent soit les caractéristiques physico-chimiques (chromatographie échangeuse d'ions, électrophorèse), soit immunologiques de la molécule (les anticorps reconnaissent le peptide N-terminal des chaînes β -modifiées par la fixation de glucose). Les laboratoires peuvent utiliser ces différentes méthodes pour déterminer le taux de HbA1c. Néanmoins, la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est l'une des méthodes les plus populaires car cette méthode élimine les composants labiles que d'autres méthodes (Raache *et al.* 2015, Eyth *et al.* 2020).

Pour qu'un test HbA1c soit classé comme normal, ou comme non diabétique, la valeur doit être inférieure à 6 % (4-6%) (McMillin 1990).

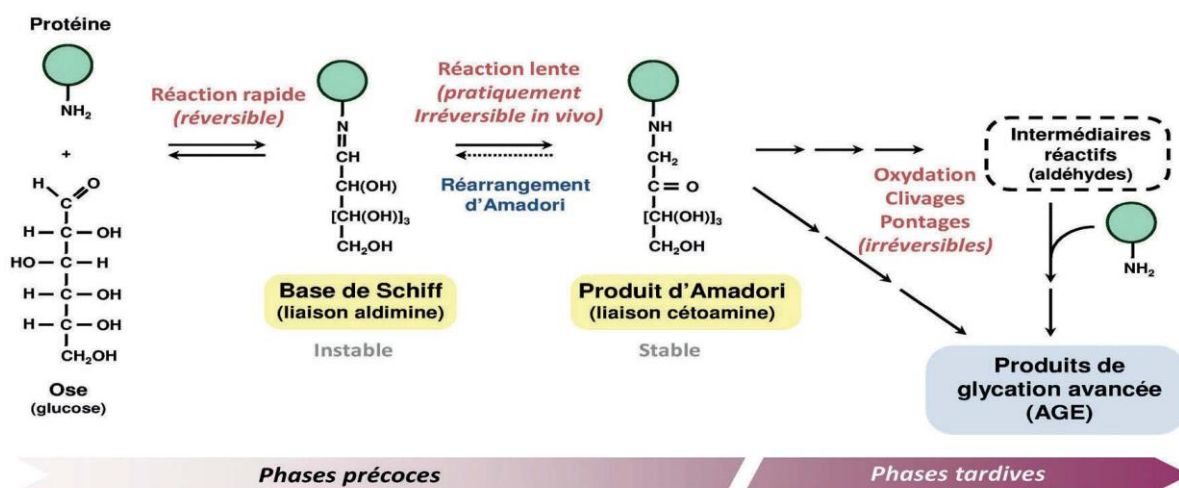


Figure 21 : Réaction de glycation des protéines (Jaisson *et al.* 2018). La réaction de glycation commence par la formation d'une base de Schiff issue de la fixation de sucres réducteurs (glucose), sur les groupements aminés des protéines. Cette base de Schiff subit ensuite un réarrangement moléculaire conduisant à un produit d'Amadori qui est une cétoamine stable (phases précoces). À plus long terme (phases tardives), le produit d'Amadori est soumis à de multiples réactions de clivage, d'oxydation, de réticulation, ce qui induit à la formation d'un groupe hétérogène de composés « Produits de Glycation Avancée » (AGE, Advanced Glycation End-products). (ref Pdf Les produits de glycation avancée des protéines).

b) Corps cétoniques urinaires et sanguins

L'acidocétose diabétique (ACD) est la caractéristique d'une carence en insuline absolue. Elle se produit principalement chez les personnes atteintes de diabète de type 1, bien qu'il soit occasionnellement observé dans le diabète de type 2 ou le diabète gestationnel. L'insuline a plusieurs actions, selon la concentration présente dans la circulation. À très faible concentration, l'insuline inhibe la lipolyse et la cétogenèse (figure 22). Toutefois, dans des situations de carence absolue en insuline ou lorsque la concentration d'hormones contre-régulatrices comme le glucagon, le cortisol ou la catécholamine est élevée, il y a peu ou pas d'absorption cellulaire du glucose par l'insuline, ce qui nécessite ainsi un substrat énergétique alternatif (Dhatariya 2016).

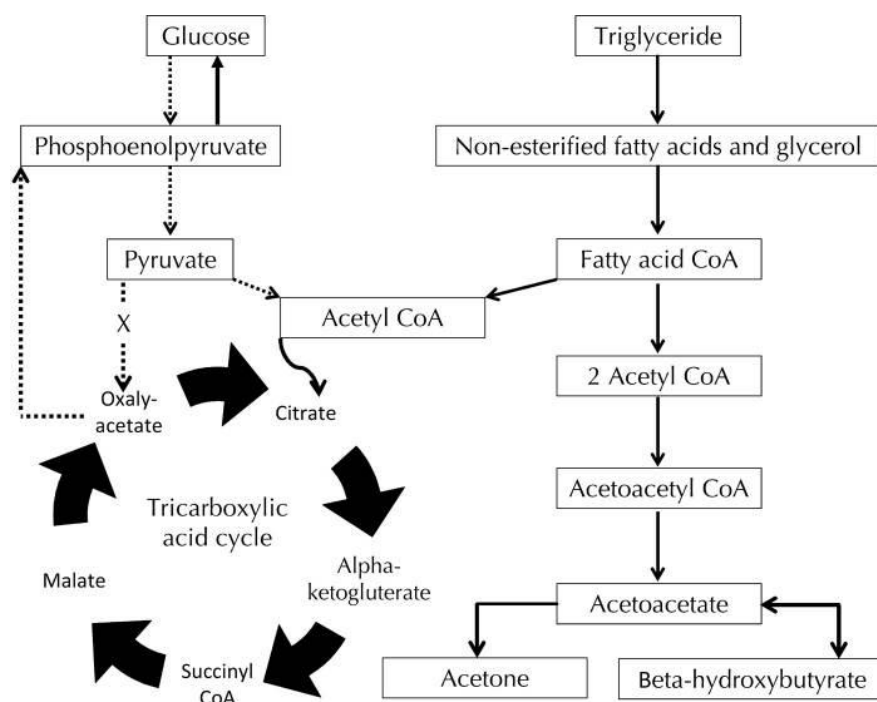


Figure 22 : Voie métabolique de la cétogenèse (Dhatariya 2016). Lors d'une carence en insuline, l'absorption de glucose dans les cellules est limitée et un substrat énergétique alternatif est nécessaire. La dégradation des acides gras non estérifiés permet l'entrée d'acyl-CoA dans le cycle de l'acide tricarboxylique, générant ainsi de l'ATP. Toutefois, la production excessive d'acyl-CoA conduit à la production d'acétoacétate et le bêta-hydroxybutyrate (un acide hydroxyle), causant l'acidocétose en période de carence prolongée en insuline.

Le dérèglement métabolique résultant d'une carence en insuline entraîne une augmentation de l'activité des lipases sensibles aux hormones dans les adipocytes et la génération d'acides gras libres à partir de la dégradation des triglycérides. Les acides gras sont oxydés en bêta pour former de l'acétylcoenzyme A (CoA), qui entre habituellement dans le cycle de l'acide tricarboxylique (ATC). Toutefois, dans cette situation de carence absolue en

insuline et de dégradation des acides gras, la quantité élevée d'acétyl CoA entrant dans le cycle de l'ATC dépasse les systèmes enzymatiques puis convertie en corps cétoniques dans le foie. Ces cétones fournissent un substrat énergétique alternatif, principalement sous forme de β -hydroxybutyrate et de l'acétoacétate à un rapport approximatif de 10:1 (Foster *et al.* 1983, McGarry *et al.* 1989).

Les tests de cétone dépendent traditionnellement de la collecte d'urine. Une alternative a été mise au point pour tester les cétones dans le sang capillaire et les récents appareils permettent désormais une surveillance précise. Les analyses de cétone dans le sang offrent l'avantage de détecter tôt la production de cétone par rapport aux analyses d'urine. De plus, les cétones sont éliminées plus rapidement dans le sang que dans l'urine, ce qui peut entraîner une mauvaise interprétation ou un traitement excessif lors du contrôle de la cétonurie (Goffinet *et al.* 2017).

Différentes méthodes ont été développées pour la surveillance des corps cétoniques à savoir les bandelettes urinaires et la β -hydroxybutyrate capillaire (BOHB). Les bandelettes urinaires fournissent une mesure semi-quantitative de l'acétoacétate par réaction au nitroprusside. Cette méthode ne donne qu'une faible indication sur les niveaux d'acétone et ne mesure pas la BOHB, qui est la cétone la plus répandue pendant l'ACD. Le BOHB augmente plus nettement pendant la privation d'insuline et est converti en acétoacétate, ainsi la mesure d'urine fournit seulement une indication rétrospective de l'état métabolique (Federici *et al.* 2006). Au niveau du sang, le taux normal de l'acéto-acétate est situé entre 20 et 80 $\mu\text{mol/l}$ et le 3 hydroxybutyrate entre 60 et 170 $\mu\text{mol/l}$.

II.2. Exploration des protéines plasmatiques

Le plasma sanguin, la lymphe et d'autres liquides biologiques contiennent habituellement de un à sept grammes de protéines par 100 millilitres de liquide. Celui-ci renferme de petites quantités de centaines d'enzymes et un grand nombre d'hormones protéiques (Koshland *et al.* 2020).

Les protéines plasmatiques constituent un composant organique essentiel dans le plasma. Elles sont aussi appelées protéines sériques. Les protéines plasmatiques sont composées de protéines simples (holoprotéines) et complexe ou conjuguées (hétéroprotéines) (Nedelkov *et al.* 2005).

Les protéines plasmatiques sont un groupe hétérogène sur différents plans : structural, fonctionnel et quantitatif. Il existe environ 300 protéines dans le plasma sous forme

d'holoprotéines, glycoprotéines et lipoprotéines. Elles exercent différents rôles physiologiques tels que : pression oncotique, transport spécifique/non spécifique, inhibition de protéases plasmatiques et tissulaires, coagulation, immunité humorale (immunoglobulines) et système tampon du sang...

La quantité de protéines plasmatiques et la proportion relative de protéines seules dans le plasma sont affectées par des maladies. Par conséquent, les protéines plasmatiques ont une signification dans le diagnostic et le pronostic des pathologies. Selon leurs concentrations dans le plasma, il existe des protéines sériques prédominantes (10-40 g/l) telles que l'albumine et les IgG, majeures (1-10 g/l) telles que fibrinogène, transferrine, IgA, M ..., mineures (0,1-1 g/l) telles que plasminogène (fibrinolyse) ..., traces (0,1 g/l) telles que CRP, IgE ... (Gupta 2019).

II.2.1. Protidémie

La protidémie est le taux sérique de protéines, son dosage est difficile du fait de l'hétérogénéité des protéines dosées. Elle peut être mise en évidence par (i) la mesure de l'indice de réfraction du sérum, elle est peu utilisée pour les protéines plasmatiques et réservée aux liquides de ponction (interférences avec la bilirubine, TG...); (ii) par dosage colorimétrique (réaction de Biuret), en milieu alcalin (NaOH), les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec le sulfate de cuivre donnant un complexe de couleur rouge-violet détecté à 540 nm par spectrophotomètre.

Les valeurs normales de protidémie varient de 46-74 g/l chez le nouveau-né et de 65-80 g/l chez un adulte. Des variations physiologiques de la protidémie peuvent survenir chez les personnes âgées (légère diminution), pendant la grossesse (diminution de 10 %) et lors d'un exercice physique prolongé (augmentation de 10%).

Des variations pathologiques de protidémie peuvent être enregistrées telles qu'une hypoprotéïnémie qui se porte principalement sur la sérum albumine. Cette pathologie est peut être due à une diminution de la synthèse de l'albumine affectée par un apport nutritionnel insuffisant (syndrome de Kwashiorkor marasme) ou à une atteinte des hépatocytes (cirrhose, hépatite...). Elle peut être aussi due à une augmentation de sa perte suite à une atteinte urinaire glomérulaire, lésions intestinales et à des brûlures étendues (Gatta *et al.* 2012, Gounden *et al.* 2020). L'hyperprotéïnémie porte essentiellement sur les immunoglobulines (maladie de Kahler, plasmocytome, myélome...)(Gutman *et al.* 1941).

II.2.2. Types de protéines sériques

II.2.2.1. Pré-albumine

La pré-albumine est une holoprotéine sanguine importante de 50 kDa, synthétisée principalement par le foie. Son rôle est de transporter la thyroxine (principale hormone de la thyroïde) et la vitamine A à travers tout l'organisme. Cette protéine possède une durée de vie courte (<12h). La synthèse de la pré-albumine dépend directement du bon fonctionnement du foie et d'apport alimentaire récent en protéines et en calories.

La pré-albumine est considérée comme un marqueur de dénutrition et par conséquent son taux diminue dans le sang. Elle est plus sensible que l'albumine ou la transferrine pour les formes de dénutrition débutante « aigüe ». La concentration de la pré-albumine est diminuée au cours de la phase aiguë de l'inflammation, des atteintes hépatiques, rénales ou digestives. Par contre, son taux est augmenté au cours d'une corticothérapie, d'une grossesse (œstrogènes),... (Goldstein *et al.* 2001, Jeejeebhoy 2004)

II.2.2.2. Albumine

L'albumine est une protéine globulaire de poids moléculaire de 69 kDa. Elle est synthétisée dans le foie, elle constitue 50 à 60 % de protéines plasmatiques totales. Son pH isoélectrique est bas (4,7) ce qui lui confère une migration rapide à l'électrophorèse. L'albumine possède une durée de vie longue de 15 à 19 jours.

L'albumine exerce une pression osmotique colloïdale (POC) dans le plasma des vaisseaux. L'albumine est un composé organique macromoléculaire, elle ne peut pas traverser l'endothélium capillaire. Dans les vaisseaux elle maintient la pression osmotique colloïdale totale de 70 à 80 %. Dans un capillaire, la POC varie de 25 à 30 mm Hg, l'albumine contribue au maintien de cette POC à 22 mm Hg. La POC ou pression oncotique est la force qui attire l'eau à l'intérieur du plasma à partir du fluide interstitiel. Elle aide à maintenir la teneur en eau dans le plasma.

Par ailleurs, l'albumine fonctionne comme un transporteur de faible affinité et de grande capacité de plusieurs composés endogènes et exogènes. La liaison des composés à l'albumine peut réduire leur toxicité, comme dans le cas de la bilirubine non conjuguée chez le nouveau-né et les médicaments. En outre, l'albumine lie au moins 40 % du calcium circulant et contribue aussi au transport d'hormones telles que la thyroxine, le cortisol, la testostérone et d'autres. L'albumine véhicule également des médicaments acides et neutres comme la pénicilline, le diazépam et l'acide acétylsalicylique. Cette protéine est le principal transporteur des acides gras

et possède des propriétés antioxydantes importantes. Elle est de même impliquée dans le maintien de l'équilibre acide-base car elle agit comme un tampon du plasma. L'albumine est utilisée comme un marqueur de l'état nutritionnel et de la gravité de la maladie, en particulier chez les patients chroniques et gravement malades (Gupta 2019, Gounden *et al.* 2020).

a) Variations pathologique de l'albumine

- Hypo-albuminémie

Une hypo-albuminémie est une diminution de la concentration d'albumine sérique observée lors des maladies hépatiques (insuffisance hépato-cellulaire), des processus inflammatoires chroniques (protéine négative de l'inflammation), des néoplasies, de malnutrition en protéines (marqueur de dénutrition) et dans le cas des atteintes rénales ou digestives (augmentation de perte).

L'hypo-albuminémie se traduit par le déplacement du fluide du compartiment vasculaire dans les espaces interstitiels. Cela conduit à la formation d'œdème dans le corps. Généralement, il se produit lorsque la concentration du sérum albumine est inférieure à 2,5 g/l (Gatta *et al.* 2012, Gupta 2019, Gounden *et al.* 2020).

- Hyper-albuminémie

Les taux sériques d'albumine augmentent parallèlement à l'augmentation de l'apport en protéines, le plus souvent elle se traduit chez les patients hospitalisés suite à une perfusion de solution d'albumine. Elle peut être aussi provoquée suite à une déshydratation (Mutlu *et al.* 2006).

- Bis-albuminémie

La bis-albuminémie est une anomalie caractérisée par une double bande d'albumine observée sur électrophoregramme de protéines sériques (figure 23). Cette anomalie peut être héréditaire ou acquise. La bis-albuminémie familiale héréditaire est une anomalie rare sans conséquences pathologiques ou thérapeutiques. En revanche, la détection d'une bis-albuminémie acquise et transitoire peut indiquer une surdose d'antibiotiques (β lactamate) ou la présence d'ascite ou d'un pseudokyste pancréatique (Bell *et al.* 1967, Jaeggi-Groisman *et al.* 2000).

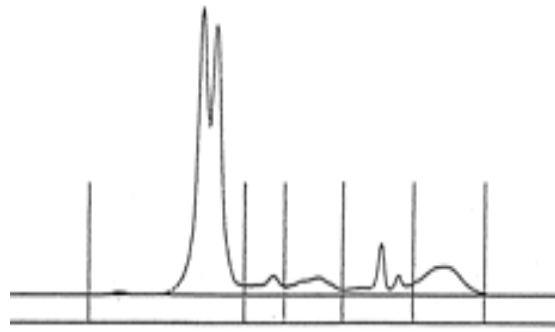


Figure 23 : Électrophoregramme d'un patient présentant une bis-albuminémie (Jaeggi-Groisman *et al.* 2000).

- An-albuminémie

L'analbuminémie (hypoalbuminémie idiopathique) est une anomalie congénitale rare de l'albumine, caractérisée par des niveaux très faibles de cette protéine (<6%). Le manque d'albumine est compensé par l'augmentation des quantités de diverses protéines plasmatiques (Russi *et al.* 1983) (figure 24). Cliniquement cette pathologie se manifeste par l'apparition de discrets œdèmes.

L'analbuminémie congénitale est un trouble autosomique récessif. Chez les personnes homozygotes ou hétérozygotes, l'anomalie conduit à l'absence complète ou à des concentrations fortement diminuées d'albumine sérique. L'analbuminémie congénitale entraîne souvent une augmentation de la morbidité et de la mortalité pendant la grossesse et pendant la petite enfance. Toutefois, si les personnes affectées peuvent compenser suffisamment les nombreuses propriétés et fonctions de l'albumine, elles peuvent survivre sans avoir la protéine et mener une vie relativement normale (Minchiotti *et al.* 2019).

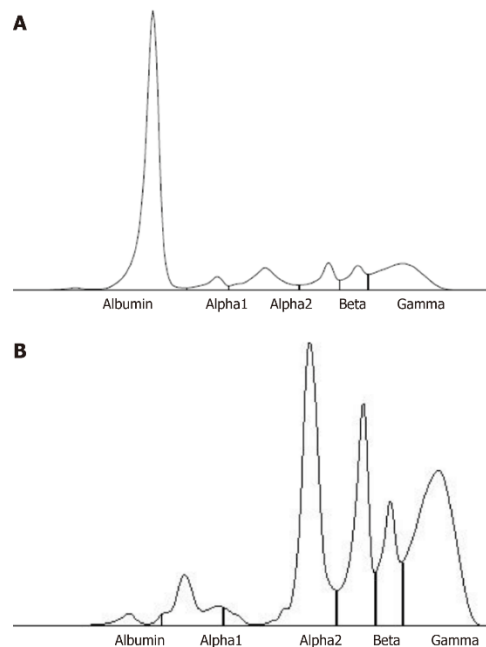


Figure 24 : Eléctrophoregramme d'une personne saine (A) et d'un sujet malade présentant une analbuminémie (B) (Suppressa *et al.* 2019).

II.2.2.3. Globulines

Les fractions globulines ont des composants alpha (α), bêta (β) et gamma (γ). Chacune des trois fractions primaires de globuline contient des protéines actives sous différentes conditions physiologiques et physiopathologiques (Harris 2009).

a) Alpha globulines

Les alpha-globulines se composent de deux fractions principales, α_1 et α_2 . Dans ce groupe de globulines se trouvent des protéines inflammatoires de phase aiguë comme la α -lipoprotéine, l' α_1 antitrypsine, la α_2 macroglobine et l'haptoglobine. La α_2 macroglobine migre parfois dans la gamme β .

➤ α_1 globulines

- α_1 antitrypsine

L' α_1 antitrypsine est une glycoprotéine de 55 kDa synthétisée dans le foie, elle représente 90 % des α_1 globulines. Il s'agit d'un inhibiteur de la trypsine sérique et aussi inhibiteur de l'activité des protéases (antiprotéase) au niveau plasmatique et tissulaire. La concentration normale de l' α_1 antitrypsine chez un adulte varie de 200 à 400 mg/100 ml.

C'est une protéine réactive importante en phase aiguë de l'inflammation. Sa concentration augmente au cours de l'inflammation et de l'infection telles que les lésions aiguës, cirrhose du

foie, carcinome hépatocellulaire, malignité et les brûlures. L' $\alpha 1$ antitrypsine protège les tissus de l'activité lytique de l'élastase. Cette dernière est sécrétée par des neutrophiles et dégrade la protéine d'élastine dans les tissus pulmonaires et hépatiques (Gupta 2019).

- Variations pathologiques de $\alpha 1$ antitrypsine

Une augmentation physiologique de l' $\alpha 1$ antitrypsine est constatée au cours de la grossesse. Dans le cas pathologique l'augmentation de l'enzyme est notée au cours des processus inflammatoires (phase aiguë « acute phase proteins »).

La carence en $\alpha 1$ antitrypsine (figure 25) est une maladie génétique (homozygote ou hétérozygote). L'absence de l' $\alpha 1$ antitrypsine provoque une perturbation des tissus pulmonaires par l'élastase ce qui se traduit par un emphysème pulmonaire (destruction des espaces aériens). Cette déficience en $\alpha 1$ antitrypsine entraîne une cirrhose hépatique par accumulation de protéines dans les hépatocytes (Perlmutter 2016).

L' $\alpha 1$ antitrypsine joue aussi un rôle diagnostique, elle est utilisée comme un marqueur tumoral dans les tumeurs de gonades.

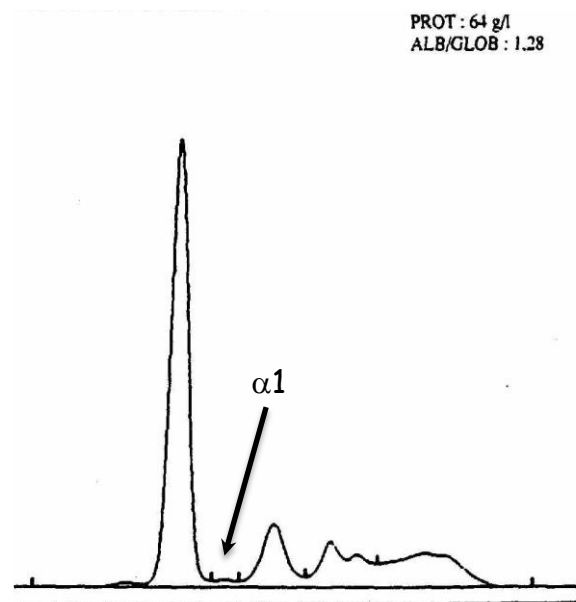


Figure 25 : Eléctrophoregramme d'un patient présentant un déficit en $\alpha 1$ -antitrypsine.

- Orosomucoïde

L'orosomucoïde est une petite glycoprotéine de 41 kDa, synthétisée et métabolisée au niveau hépatique. Elle possède un pHi très acide de 2,5 et une durée de vie de 3 jours. Il s'agit d'une protéine de la phase aiguë de l'inflammation, elle apparaît dans 18 à 24 h. Son taux se

normalise 10 jours après l'inflammation. Les valeurs usuelles de l'orosomucoïde varient de 0,55 à 1,4 g/l (Clemetson 1997).

- Variations pathologiques de l'orosomucoïde

Une diminution de l'orosomucoïde est enregistrée au cours d'une insuffisance hépatocellulaire, pertes protéiques glomérulaires (syndrome néphrotique), pertes protéiques digestives (entéropathie exsudative), dénutrition, imprégnation oestrogénique et dans le cas d'une prise de certains médicaments tel que l'érythromycine.

Le taux de l'orosomucoïde augmente au cours de la phase aiguë de l'inflammation (infections, certaines néoplasies malignes ...) et dans le cas d'une rétention par insuffisance rénale (infiltration).

- α_2 globulines

- haptoglobine

L'haptoglobine est petite glycoprotéine de 41 kDa synthétisée dans le foie. Elle est composée de deux chaînes légères (alpha) et de deux chaînes lourdes (bêta) liées les uns aux autres par des ponts disulfures. Sa concentration sérique normale chez l'adulte se situe entre 0,50 et 1,5 g/l.

L'haptoglobine a une durée de vie de 3 jours, son catabolisme a lieu dans le foie et dans les macrophages. Il s'agit d'une protéine de la phase aiguë de l'inflammation apparaît au cours de 18 à 24 h, sa normalisation est enregistrée après 10 jours de l'inflammation. L'haptoglobine se lie à l'hémoglobine libre par sa chaîne alpha et forme un complexe haptoglobine-hémoglobine. Ce complexe ne peut pas traverser la filtration glomérulaire ce qui empêche la perte d'hémoglobine libre dans les urines. Le complexe haptoglobine-hémoglobine est capturé par les macrophages et la rate ; l'hémoglobine libre subit ainsi une biodégradation (Gupta 2019). L'haptoglobine possède des fonctions antioxydantes et cytoprotectrices.

- Variations pathologiques de l'haptoglobine

L'haptoglobine est une protéine de la phase aiguë. Son taux sérique augmente en cas d'inflammation aiguë et d'infection.

L'haptoglobine contribue dans le diagnostic de l'anémie hémolytique. Sa concentration sérique diminue dans cette pathologie.

- α_2 macroglobuline

L' α_2 macroglobuline est une grosse glycoprotéine de 850 kDa, produite par le foie et sa demi-vie est de 5 jours. Il s'agit d'une antiprotéase et d'une protéine de transport de molécules diverses (hormones, ions...). Sa concentration sérique est de 1,50 à 3,5 g/l. Au cours de la grossesse et du syndrome inflammatoire une augmentation légère en cette protéine est détectée. Par contre une augmentation importante de la protéine est observée au cours du syndrome néphrotique.

- Variations pathologiques de α_2 macroglobuline

Un dédoublement de pic de α_2 macroglobuline est souvent enregistré lors d'une électrophorèse de protéine sérique (figure 26). Ce phénomène peut être physiologique due à la présence de variant moléculaire de l'haptoglobine (3 haplotypes) et au sérum hémolysé (migration de l'hémoglobine et consommation de l'haptoglobine). Dans le cas pathologique, ce dédoublement de pic est constaté par la présence de β lipoprotéines et de chaînes légères d'immunoglobulines.

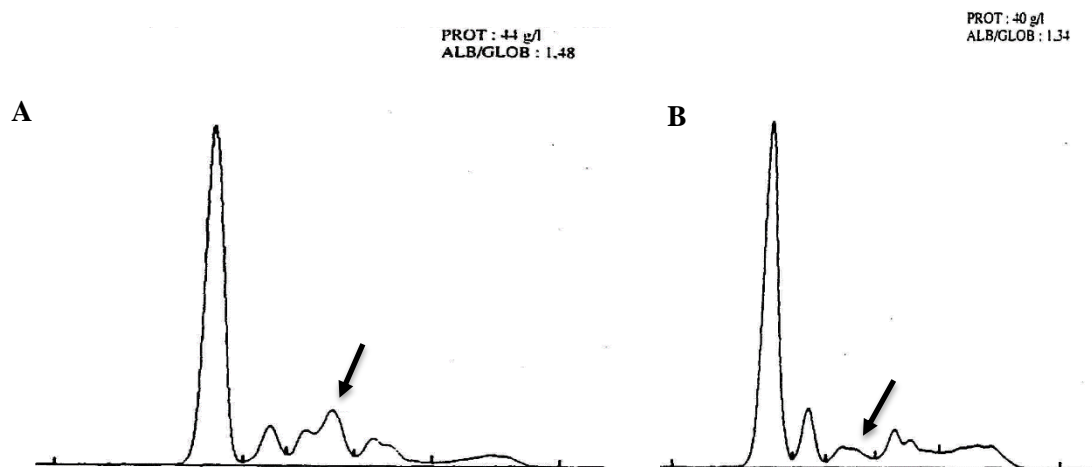


Figure 26: Électrophorégrammes de patients présentant un dédoublement de pic de α_2 globulines. (A) sérum hémolysé pic Hb, (B) sérum hémolysé avec syndrome inflammatoire

La diminution de α_2 globulines peut être observée dans le cas d'un sérum légèrement hémolysé (*in vitro/in vivo*) ce qui implique ainsi une consommation de l'haptoglobine. Dans le cas pathologique, cette diminution peut être due à une insuffisance hépato-cellulaire, une dénutrition...

L'augmentation de α_2 globulines peut être enregistrée dans le cas du syndrome inflammatoire. L'inflammation est la seule cause possible de l'augmentation de l'haptoglobine.

Cette augmentation est aussi notée dans le cas du syndrome néphrotique suite à une atteinte glomérulaire entraînant une protéinurie sélective. Une augmentation de l' α_2 macroglobuline (jusqu' à 20g/l) s'accompagne généralement d'une hypoalbuminémie (figure 27), hyper β (augmentation d'Apo B) et d'une hypo γ ; surtout dans la néphrose lipidique (syndrome néphrotique à glomérules). En général, la protéinurie est supérieure à 3g/l.

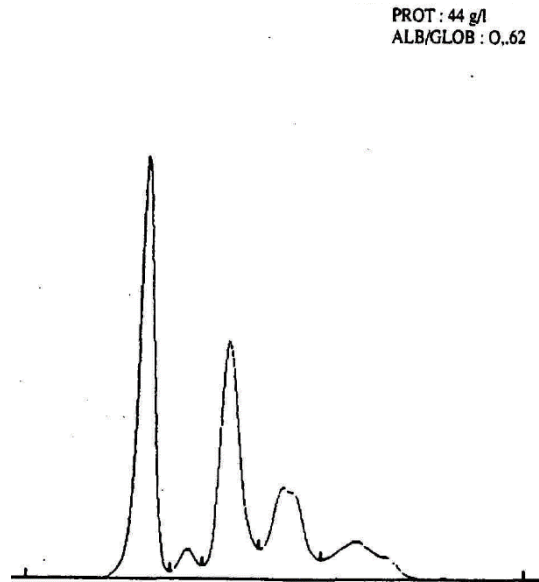


Figure 27: Électrophorégramme d'un patient présentant un syndrome néphrotique (augmentation de l' α_2 macroglobuline)

b) Beta globulines

- β_1 globulines
 - Transferrine

La transferrine est une petite glycoprotéine de 41 kDa synthétisée dans le foie. Elle est composée d'une seule chaîne polypeptidique (apo-transferrine) qui se lie avec deux ions ferriques. Sa concentration sérique normale est de 2 à 4 g/l. La transferrine assure le transport des ions du fer (Fe^{2+}) de ses sites de réserve (ferritine) ou de ses sites d'absorption vers les sites utilisateurs. La transferrine aide à la distribution du fer à l'état ferrique. Elle délivre le fer à la moelle osseuse pour la biosynthèse de l'hémoglobine. La transferrine joue un rôle positif dans l'immunité innée.

- Variations pathologiques de la transferrine

La concentration sérique de la transferrine diminue dans le cas de la cirrhose hépatique, la glomérulonéphrite, la dénutrition, l'inflammation, d'infection aiguë, de fuites protéiques digestives (entéropathie exsudative) et de brûlures.

La concentration sérique de transferrine augmente dans l'anémie ferriprive (figure 28), il s'agit du premier signe d'une carence martiale (avant la diminution de l'hémoglobine). Elle augmente aussi après consommation des œstrogènes.

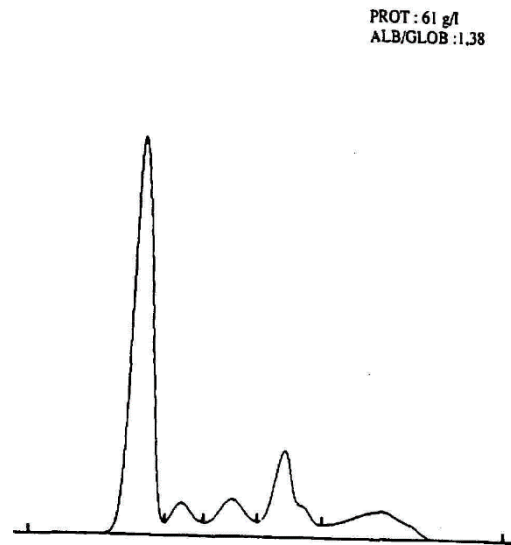


Figure 28: Electrophoregramme d'un patient présentant une hypertransferrinémie (carence martiale)

- B2 globulines
 - Complément C3

La protéine C3 est une glycoprotéine sérique abondante (1,3 mg/ml) formée de deux chaînes, α (110 kDa) et β (75 kDa), reliées par un pont disulfure. La caractéristique importante de cette protéine réside dans sa capacité transitoire de se lier de façon covalente à des accepteurs tels que des bactéries, des complexes immuns et d'autres protéines (Villiers 1995).

- Variations pathologiques du complément C3

La diminution de la protéine C3 est observée dans le cas d'un déficit congénital, d'une cirrhose décompensée et lors d'une hyperconsommation (infections, affections auto-immunes, vascularites ...). Une hypocomplémentémie de consommation, in vitro, le plus souvent correspondant à un sérum vieilli.

L'augmentation de la protéine C3 se manifeste lors d'une inflammation, d'une cholestase (obstruction biliaire rendant impossible son catabolisme) et une imprégnation oestrogénique.

c) Gamma globulines

Les γ globulines sont des glycoprotéines subdivisés en γ_1 et γ_2 globulines. Les principaux composants des gamma globulines sont les anticorps ou immunoglobulines (Ig). Les

immunoglobulines sont synthétisées par les plasmocytes et sécrétées dans la circulation générale après une réponse immunitaire spécifique vis-à-vis d'un antigène. Il existe cinq classes d'immunoglobulines: Ig A, G, M, (D, E). Les immunoglobulines IgA, IgM et IgE se trouvent principalement dans la région γ 1 (et dans une certaine mesure dans la région β 2), et IgG se trouve principalement dans la région γ 2 (Eckersall 2008).

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines dont la structure de base est composée de deux chaînes lourdes (H) et de deux chaînes légères (L) liées par des ponts disulfures d'une masse moléculaire de 150 kDa. La structure de la chaîne H régit la classe des immunoglobulines, nommée par les lettres grecques correspondantes : γ en IgG, μ en IgM, α en IgA, ϵ en IgE et δ en IgD. La structure de la chaîne L est soit kappa (κ) ou lambda (λ) et désigne le type. Les variations structurelles dans les régions variables des chaînes H et L fournissent une subdivision ultérieure en sous-types et sous-classes (Schroeder *et al.* 2010).

Les protéines Bence-Jones sont des unités à chaîne légère, leur présence reflète la synthèse asynchrone des chaînes H, de sorte que les chaînes L excédentaires apparaissent et sont sécrétées dans les urines. Ils ne sont pas détectés sur électrophorèse de protéines sériques, mais ils peuvent être détectés par des techniques immunochimiques et sont souvent trouvés dans le diagnostic des gammopathies, en particulier les myélomes multiples (Eckersall 2008).

- IgM

L'immunoglobuline M (IgM) est une protéine de poids moléculaire élevé (macroglobuline), composé de cinq ou rarement de six sous-unités (monomères IgM). Comme les molécules IgG, les monomères IgM sont composés de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères, qui sont reliées entre elles par des ponts disulfures. Les monomères IgM sont trouvés à une faible concentration dans le sérum humain. Chaque molécule pentamérique d'IgM est composée de 10 chaînes lourdes, 10 chaînes légères et généralement d'une chaîne de jonction (J). La concentration sérique normale des IgM est de 0,5 à 2 mg/ml (Schroeder *et al.* 2010).

- Variations pathologiques des IgM

Une augmentation polyclonale est observée au début de toute réponse humorale avant le switch en IgG. Cette augmentation se manifeste aussi durant les syndromes néphrotiques, il existe une augmentation des IgM accompagnée d'une diminution fréquente des IgG. Le taux des IgM est extrêmement élevé dans le cas de la maladie de Waldenström: synthèse d'IgM monoclonale (lymphome lymphoplasmocytaire).

La diminution du taux des IgM est observée dans certains cas de cancers tels que le myélome à IgG ou à IgA, lors d'une splénectomie (ablation de la rate) et suite à un choc septique (une défaillance circulatoire aiguë provoquée par un agent infectieux).

- IgG

L'immunoglobuline G (IgG) est la classe principale des immunoglobulines. Environ trois quarts de toutes les immunoglobulines sériques appartiennent à cette classe. Les molécules d'IgG se composent de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères. Chaque molécule d'IgG possède deux sites identiques de liaison d'antigènes. Lors de l'électrophorèse à pH alcalin, les IgG migrent plus lentement que presque toutes les autres protéines sériques. La concentration sérique des IgG est de 0,5 à 16,0 mg/ml (Actor 2011).

- Variations pathologiques des IgG

Une augmentation polyclonale est enregistrée lors des infections bactériennes qui reste presque constante au cours de l'infection, lors de maladies de système immunitaire ou maladie auto-immunes. Cette augmentation est aussi manifestée dans les myélomes à IgG: synthèse d'IgG monoclonale accompagnée d'une répression de synthèse des IgM et des IgA (figure 29C).

Une diminution du taux des IgG est observée dans certains cas de cancers, des myélomes à IgA et dans le syndrome néphrotique.

- IgA

L'immunoglobuline A (IgA), la troisième classe majeure d'immunoglobulines, joue le rôle le plus important dans l'immunité de muqueuse. Les IgA est la classe la plus produite que tous les autres isotypes d'immunoglobulines combinées. Les molécules d'IgA sont présentes dans le sérum, dans l'intestin et dans les sécrétions exocrines, comme la salive, le colostrum, le lait maternel et les larmes. La concentration sérique normale des IgA varie de 0,5 à 4 mg/ml.

Les molécules d'IgA des vertébrés supérieurs sont synthétisées principalement dans le tissu lymphoïde gastro-intestinal. L'intestin et les autres surfaces muqueuses, qui sont ensemble 20 fois plus grandes que la surface de la peau, sont les principales sources de l'invasion de pathogènes. Sur les surfaces muqueuses, les molécules d'IgA inhibent la liaison des microorganismes qui peuvent pénétrer à travers les muqueuses et empêchent ainsi leur invasion dans le corps (Actor 2011).

- Variations pathologiques des IgA

Il existe une augmentation polyclonale des IgA avec un syndrome inflammatoire associé au cours des agressions des muqueuses respiratoires, digestives, urinaires ou gynécologiques (infections, certains cancers ORL, sein et digestifs). Aussi, une augmentation polyclonale des IgA sans syndrome inflammatoire associé, causé par le tabagisme, éthylisme, diabète ... Comme on note aussi une augmentation des IgA dans les myélomes à IgA avec une synthèse d'IgA monoclonale accompagnée d'une répression de synthèse des autres classes d'Ig.

Une diminution du taux des IgA est observée suite à un déficit congénital (figure 29. A), myélome à IgG ou à IgA et suite à une consommation de certains traitements médicamenteux immunosuppresseur (corticoïdes, chimiothérapie...).

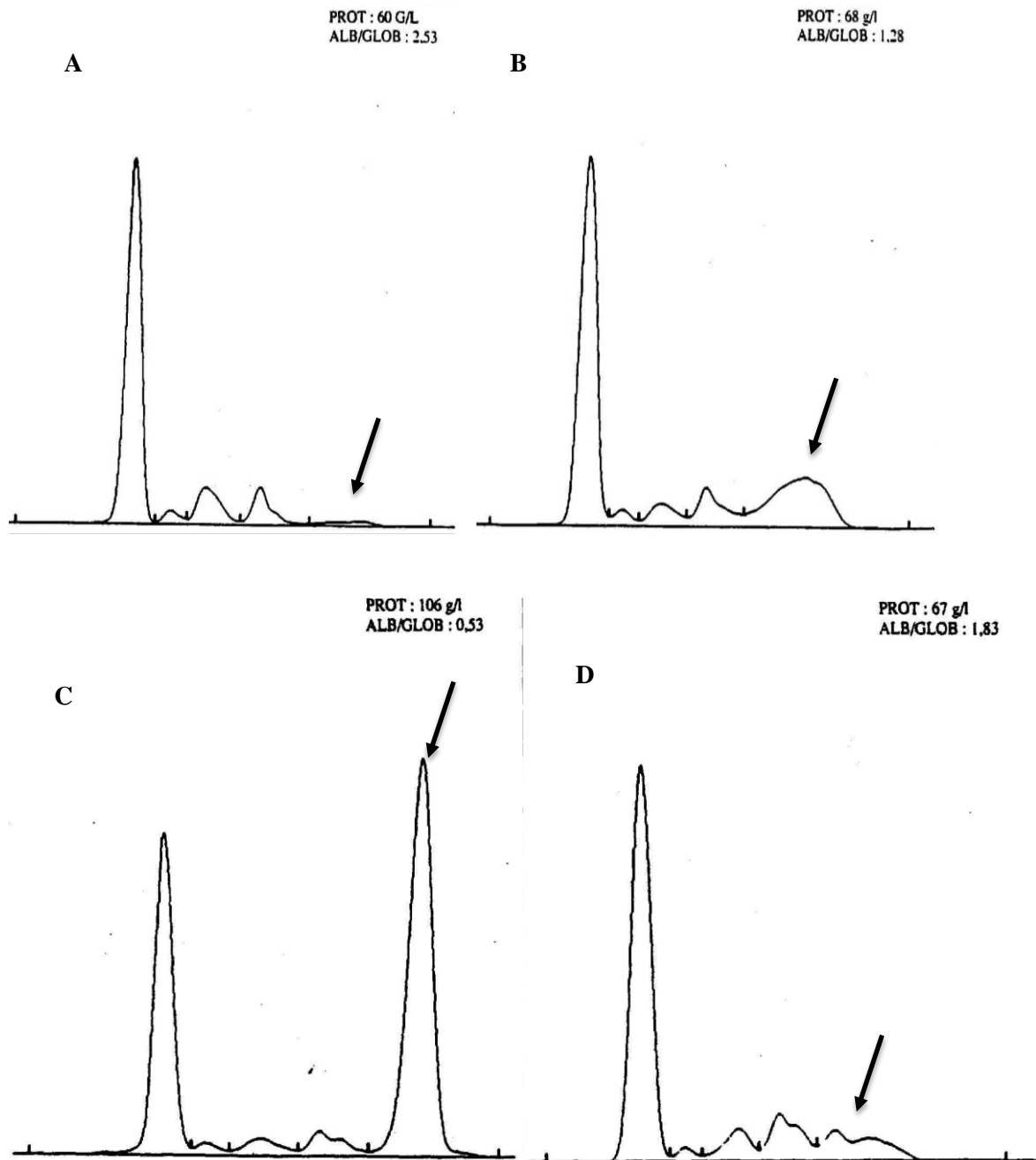


Figure 29 : Eléctrophoregrammes de patients présentant des γ globulinémies. (A) hypo γ globulinémie au cours d'un déficit immunitaire global, (B) hyper γ globulinémie polyclonale au cours d'une maladie auto-immune, (C) hyper γ globulinémie monoclonale avec diminution des autres classes d'Ig au cours de myélomes et (D) hyper- γ globulinémie monoclonale bénigne chez le sujet âgé.

Dans le cas de découverte d'un pic monoclonal on effectue le typage de l'immunoglobuline, il s'agit de déterminer le caractère malin ou bénin. Pour cela les techniques utilisées sont l'immunoélectrophorèse et l'immunofixation.

II.2.3. Méthodes d'analyse des protéines sériques

Des tests de protéinémie totale peuvent être effectués sur le sérum ou le plasma. La méthode utilisée pour mesurer la quantité totale de protéines en solution, varie en fonction de la quantité de protéines dissoutes et donc choisi en fonction du liquide biologique étudié. La technique utilisée pour mesurer les protéines totales peut être basée sur des mesures chimiques ou physiques.

Dans le laboratoire de diagnostic, les méthodes chimiques sont utilisées parce qu'elles peuvent être facilement adaptées aux analyses automatisées. D'autre part, la détermination hors laboratoires de la protéinémie totale, par exemple, dans une pratique vétérinaire, peut être effectuée par l'utilisation de réfractomètre, qui dépend des propriétés physiques de la protéine en solution (Lumachi *et al.* 2011).

II.2.3.1. Méthodes d'analyse de protéines sériques totales

a) Méthodes d'analyse chimique

❖ Solubilité des protéines en milieu alcalin

Les protéines en solution sont sensibles aux changements de pH de l'environnement qui entraînent une altération de l'ionisation des groupements secondaires des acides aminés acides et basiques. Ceci altère les forces électrostatiques entre les résidus, qui maintiennent normalement la protéine dans sa conformation native. Le changement du pH, en particulier aux extrêmes de la gamme de pH, perturbe donc les structures tertiaires et quaternaires des protéines. Ce qui conduit à une solubilité réduite, provoquant la précipitation de la protéine dans la solution. Les réactifs tels que l'acide trichloroacétique, le sulfate d'ammonium et l'acide tungstique provoquent la précipitation des protéines. Ces réactifs sont utilisés pour quantifier la concentration totale de protéines dans les liquides biologiques, lorsque la concentration en protéines est comprise entre 0,1 et 1 g/dl (Pfeiffer *et al.* 1977).

❖ Réaction de Biuret

La réaction Biuret, dans laquelle la protéine forme un complexe avec le cuivre (Cu^{2+}) dans la solution alcaline, est devenue l'essai chimique standard pour déterminer les protéines du sérum total ou du plasma. Ce complexe, qui dépend de la présence de liaisons peptidiques, est de couleur bleu-violet. Cette méthode est utilisée dans les analyseurs biochimiques automatisés et également la technique de base pour les essais de protéines totales dans les analyseurs de chimie sèche. La méthode de Biuret est très précise pour la gamme de protéines

totales présentes dans le sérum est de 10 à 100 g/l, mais elle n'est pas assez sensible pour les concentrations de protéines présentes dans d'autres fluides corporels où la gamme de concentrations est plus faible tel que le liquide céphalorachidien (LCR) (Briend-Marchal *et al.* 2005).

❖ Méthodes chimiques sensibles

Afin de mesurer le taux des protéines totales dans les fluides à des concentrations inférieures à 1 g/l, des dosages de protéines plus sensibles doivent être utilisés. Pendant de nombreuses années, la méthode Folin-Ciocalteu a été choisie pour mesurer de faibles concentrations de protéines. Cette méthode est basée sur la réaction du groupement phénolique du tryptophane et de la tyrosine avec le réactif de Folin-Ciocalteu produisant ainsi un chromogène bleu. Une modification de cette méthode, encore plus sensible, a été mise au point en utilisant l'acide bicinchonique. D'autres méthodes basées sur la liaison du colorant (bleu de Coomassie en milieu acide) à la protéine sont également utilisés pour quantifier les solutions de protéines diluées.

Ces méthodes sensibles dépendent des réactions entre le réactif et un certain nombre d'acides aminés spécifiques dans les protéines, tel que le groupement phénol des acides aminés aromatiques. Les résultats varient en fonction de la proportion de ces acides aminés dans les protéines mesurées. La protéine utilisée pour calibrer l'essai peut avoir un effet significatif sur les résultats. Traditionnellement, l'albumine sérique bovine est utilisée comme calibrant (Zaia *et al.* 2005, Eckersall 2008).

b) Méthodes d'analyse physiques

❖ La réfractométrie

La lumière est réfractée lorsqu'elle passe de phase air à la forme liquide. Si le liquide contient des protéines dissoutes, le degré de réfraction (indice de réfraction) change en proportion de la concentration de protéines. Avec des instruments appropriés et une utilisation prudente, la détermination de l'indice de réfraction du sérum peut donner une évaluation précise de la concentration en protéines totales. L'utilisation de réfractomètres portatifs permet une détermination rapide des protéines dans le sérum, le plasma ou d'autres liquides organiques qui est l'une des méthodes les plus usitées aux laboratoires. La plupart des réfractomètres sont mis au point pour lire directement le taux de protéines sériques et urinaires.

En raison de la dépendance à la transmission de la lumière, il est important que l'échantillon soit clair, non turbide, non lipémique et non hémolysé.

La réfractométrie peut être utilisée pour déterminer la concentration du fibrinogène dans le plasma. Cette protéine de poids moléculaire élevé (340 kDa), représente environ 5 % des protéines plasmatiques totales. Sa concentration peut être estimée à partir de la différence de teneur en protéines avant et après le traitement thermique du plasma à 56 °C pendant 3 minutes ; cela provoque la précipitation du fibrinogène (George *et al.* 2001).

❖ Dosage par néphélométrie et turbidimétrie

La néphélométrie est considérée depuis longtemps comme la méthode de référence du dosage des protéines spécifiques dans la gamme des concentrations de l'ordre du mg/l. Elle permet d'éliminer certaines interférences spectrales mais nécessite des appareils dédiés à cette fonction. La néphélométrie évalue la diffusion de la lumière sur les particules du milieu trouble dépendant de la taille des particules, de leur indice de réfraction, de la longueur d'ondes ainsi que de la radiation incidente émise par un laser. La lumière diffusée est mesurée dans une direction différente de celle de la lumière incidente avec un angle α .

La turbidimétrie est le principe couramment utilisé pour le dosage des protéines spécifiques sur la plupart des automates commercialisés. Elle met en jeu des méthodes pratiques, globalement plus économiques mais considérées comme moins fiables que la néphélométrie. La turbidimétrie est identique à la photométrie d'absorption car elle évalue la diminution d'intensité de la lumière incidente lorsqu'elle traverse le milieu trouble. La lumière transmise étant mesurée dans la même direction que la lumière incidente (Thuillier *et al.* 2008).

II.2.3.2. Méthodes d'analyse de protéines par fractionnement

La teneur totale en protéines du sérum est constituée d'un grand nombre de protéines individuelles. Les changements dans la composition de protéines et leurs différentes fractions peuvent être utilisés dans le diagnostic des pathologies.

Pratiquement toutes les maladies affectent les protéines présentes dans le sérum et que le diagnostic serait plus déterminant en utilisant des méthodes protéomiques pour suivre les changements dans de nombreuses protéines sériques en même temps. En revanche, des un diagnostic efficace peut être obtenu en utilisant les méthodes actuelles pour fractionner le sérum afin de déterminer la concentration de ses principales protéines.

La plupart de ces méthodes nécessitent la détermination initiale de la concentration totale de protéines sériques, qui est ensuite utilisée dans le calcul de la teneur en protéines de différentes fractions. Dans sa forme la plus simple, la fraction globuline peut être estimée si les concentrations totales de protéines (protidémie) et d'albumine sont connues. En effet, la

concentration de globuline résulte de la différence entre les concentrations totales de protéines et d'albumine. Pour l'estimation quantitative des fractions globulines (α , β , ou γ globulines), le pourcentage de chaque fraction d'un échantillon de sérum peut être déterminé par électrophorèse et la concentration de chaque fraction est calculée à partir de la protidémie.

Parmi les méthodes d'analyse de protéine sérique par fractionnement : la méthode de fractionnement en utilisant le sel, l'acide, glutaraldéhyde et la méthode de fixation de colorant (rapport albumine-globuline) en utilisant le vert et le pourpre de bromocrésol (Eckersall 2008).

II.2.3.3. Electrophorèse des protéines sériques

L'électrophorèse est la méthode utilisée pour la séparation analytique des protéines. L'électrophorèse des protéines sériques (EPS) est actuellement considérée comme une référence pour le fractionnement des protéines sériques. Le sérum plutôt que le plasma est utilisé comme échantillon pour la séparation électrophorétique car il réduit les difficultés de l'interprétation par élimination du fibrinogène. De nombreuses modifications ont été apportées aux principes de base de l'électrophorèse depuis la séparation des protéines dans un champ électrique qui a été utilisée la première fois par Tiselius. Plusieurs de ces méthodes ont été appliquées aux protéines sériques, mais seulement quelques-unes ont été employées dans la biochimie clinique (Keay *et al.* 1982).

a) Principe de l'électrophorèse

Le principe de toute électrophorèse protéique repose sur le mouvement de molécules protéiques chargées dans un champ électrique. Dans des études originales au début du 20^e siècle, l'électrophorèse a été réalisée en solution. Cette « électrophorèse libre » a été par la suite remplacée par des méthodes séparant les protéines dans un milieu de soutien solide. A cet effet, les protéines chargées et les ions tampons peuvent se déplacer. L'utilisation du support a l'avantage de réduire les problèmes d'interférence et permet une plus grande reproductibilité. En plus de la nature des milieux solides, la migration des protéines dépend de leur taille et de leur charge, du pH et de la composition ionique du tampon et de la force du champ électrique.

La charge de la protéine dépend de l'équilibre des acides aminés acides et basiques dans sa structure primaire et varie en fonction du pH. Ainsi, à un pH neutre, une protéine avec une forte proportion d'acides aminés acides aura une charge négative globale ; tandis qu'une protéine avec une prépondérance d'acides aminés basiques aura une charge positive globale. L'EPS est généralement effectuée à un pH basique (8,6) de sorte que la plupart des protéines auront une charge négative. Les molécules ayant une charge négative se déplacent vers l'anode

(électrode positive), lorsqu'un courant électrique traverse la solution. L'électroendosmose constitue un inconvénient de l'électrophorèse d'agarose qui se produit en raison des impuretés dans l'agarose, provoquant ainsi la migration des protéines plus basiques (γ globulines) vers la cathode (électrode négative) (Eckersall 2008).

Une électrophorèse sans support a été aussi employée dans la séparation des protéines, en utilisant une colonne capillaire très étroite. Cette « électrophorèse de zone capillaire » a l'avantage de fournir des analyses plus rapides et reproductibles pour les échantillons individuels, mais l'équipement est plus adapté que celui de l'EPS.

Ces méthodes ont été appliquées au fractionnement des protéines sériques avec des résultats analogues à ceux de l'EPS conventionnel, bien que l'hémolyse et la lipémie aient causé des interférences dans les régions β et α , respectivement. Des protéines spécifiques comme l'haptoglobine peuvent également être mesurées par électrophorèse de zone capillaire.

b) Electrophorèse sur gel d'agarose et sur gel de cellulose

Pendant plusieurs décennies, l'acétate de cellulose était la méthode utilisée dans les laboratoires de diagnostic. Cependant, l'utilisation facile, la grande reproductibilité et la disponibilité commerciale de gels d'agarose ont fait en sorte que l'utilisation de l'EPS est la plus courante. L'agarose est un matériau à base de polysaccharides dérivé d'algues. Lorsqu'il est utilisé en électrophorèse à une concentration d'environ 1 % (m/v), l'agarose forme un gel à travers lequel la protéine sérique peut se déplacer librement. L'introduction d'un bac en plastique de gels préalablement préparés permet facilement de manipuler, colorer et quantifier les résultats obtenus.

En général, lors d'une analyse EPS, les échantillons de sérum sont dilués à 1:5 dans le tampon et 5 μ l sont déposés près du centre du gel (légèrement sur le côté cathodique). Une fois l'échantillon diffusé dans l'agarose, une tension est appliquée et les protéines sont mises à se séparer. La mobilité des protéines est basée sur leurs charges dans le tampon (pH 8,6) et leurs tailles. L'albumine est l'une des protéines les plus mobiles en se déplaçant vers l'anode en raison de sa petite taille et sa charge négative élevée à pH 8,6. À l'autre extrême, les immunoglobulines (en particulier les γ globulines) présentent une charge négative faible, affectées par l'électroendosmose, migrent vers la cathode. Les α et β globulines ont une mobilité intermédiaire entre l'albumine et les γ globulines. L'agarose en EPS permet la séparation de ces groupes et des fractions α 1, α 2, β 1, β 2, γ 1 et γ 2 de protéines peuvent être observées.

Après l'électrophorèse, les protéines sont fixées dans le gel et visualisées par coloration sous forme de taches en utilisant par exemple le noir Amido. Après coloration et nettoyage du gel, la proportion des protéines dans chaque fraction peut être estimée par densitométrie. Dans la plupart des appareils, un imprimé généré par ordinateur fournit une représentation graphique des lectures d'absorbance du densitomètre et calcule également le pourcentage de protéines par fraction. Cela permet de calculer la teneur en protéines de chaque fraction en fonction de la concentration totale de protéines sériques (Keay *et al.* 1983). La figure 30 présente un exemple d'EPS sur gel d'acétate de cellulose d'un sujet sain.

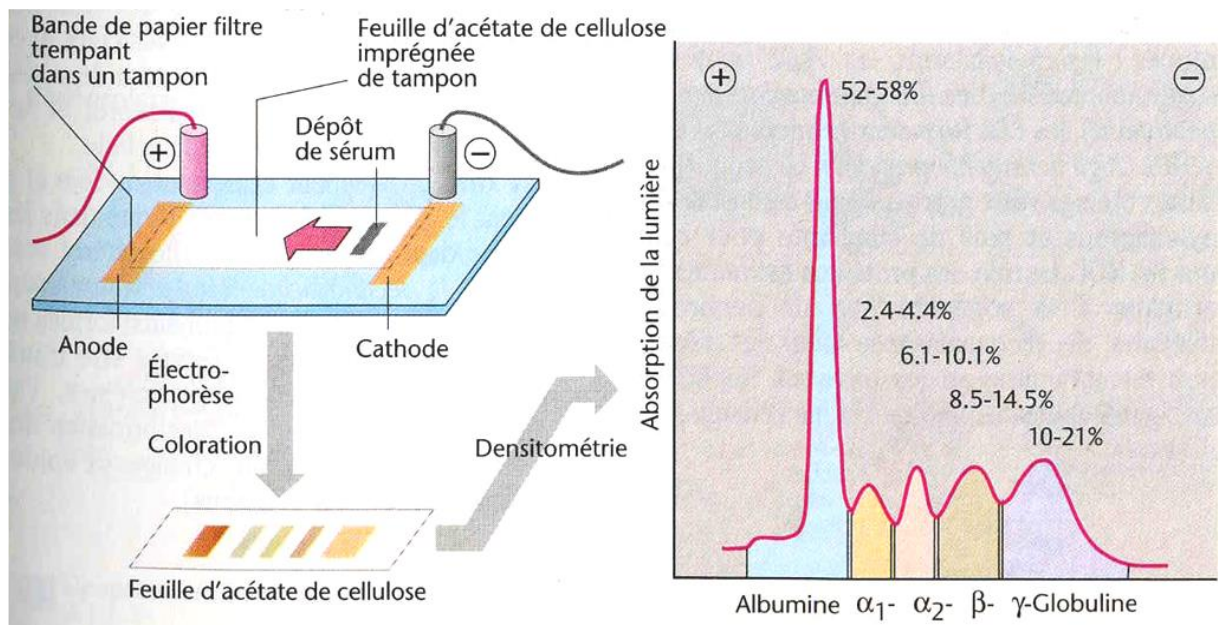


Figure 30 : Electrophorèse sur gel d'acétate de cellulose d'un sujet sain.

c) Électrophorèse sur gel de polyacrylamide

Le support le plus largement utilisé pour l'électrophorèse protéique est le gel de polyacrylamide (PAGE). L'utilisation de ce milieu apporte un facteur supplémentaire à la séparation électrophorétique des protéines. Lors de la polymérisation de l'acrylamide pour former le gel utilisé dans l'électrophorèse, la proportion de liaisons croisées entre les chaînes de polymères peut être contrôlée et le gel forme un tamis moléculaire qui ralentit la migration des protéines en fonction de leurs tailles. Une fois dans le gel, la séparation est basée sur un équilibre de masse et de charge de la protéine. La modification la plus largement utilisée de ce système est de prétraiter les protéines par chauffage dans une solution de détergent (dodécylsulfate de sodium, SDS) et un agent réducteur tel que le β -mercaptoéthanol. Ceux-ci ont pour effet de séparer les sous-unités maintenues ensemble par des liaisons disulfures et

d'enrober toutes les protéines de charge négative de sorte que la séparation, avec le même détergent y compris dans le gel et les tampons, sera basée uniquement sur la taille car toutes les protéines se déplacent vers l'anode en raison de leur charge négative.

La séparation des protéines sériques sur SDS-PAGE augmente la difficulté de l'interprétation de l'électrophorégramme. Les protéines ne sont plus regroupées dans les régions de globuline familiales, mais sont dans une série de bandes définies par la masse moléculaire relative (MMr). Le traitement et la décomposition des protéines complexes en leurs sous-unités compliquent l'interprétation. L'abondance élevée seulement de quelques-unes des protéines, comme l'albumine et les immunoglobulines, complique davantage l'interprétation. À cela s'ajoutent les méthodes plus exigeantes sur le plan technique requises pour la SDS-PAGE, de sorte que cette méthode est largement réservée au laboratoire de recherche. Néanmoins, la séparation de protéines sériques par SDS-PAGE a révélé des changements dans les bandes protéiques liés à des maladies, mais il n'y a pas eu d'application généralisée de la méthode en biochimie clinique (Eckersall 2008).

II.2.3.4. Méthodes d'analyse spécifiques des protéines sériques

La plupart des protéines sériques sont mesurées par des méthodes immunologiques qui nécessitent un anticorps spécifique dirigé contre la protéine sérique cible.

L'immunoélectrophorèse est une technique de séparation des protéines sériques, il s'agit d'une réaction d'immunoprécipitation en milieu gélifié. Dans un premier temps, elle consiste en une migration électrophorétique en gel d'agarose ou de gélose après dépôt de la solution à analyser dans un puits. Cette migration est effectuée dans un tampon alcalin de faible molarité. À la fin de la migration une rigole transversale est creusée dans la gélose et un antisérum y est déposé. Ce second temps consiste donc en une double diffusion dans un plan perpendiculaire à l'axe de migration électrophorétique.

Au niveau des zones d'équivalence respectives, il se forme des arcs de précipitation ce qui indique une réaction antigène-anticorps. Initialement les protéines sont séparées selon leur charge et se répartissent selon le profil électrophorétique habituel. L'utilisation d'antisérums globaux, reconnaissant toutes les protéines du sérum humain, ce qui permet ensuite de démembrer chaque groupe en visualisant les arcs respectifs de précipitation (Chevailler *et al.* 2011).

II.3. Les enzymes sériques

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. Dès qu'un organe ou un tissu est lésé, il libère dans la circulation sanguine des enzymes qui lui sont propres et se retrouvent ainsi libres dans le plasma à de fortes concentrations. Pour diagnostiquer une pathologie, des tests enzymatiques sont fréquemment pratiqués dans les laboratoires d'analyses médicales. La plupart de ces tests sont réalisés sur des prélèvements sanguins, par le dosage de substrat ou bien de l'activité enzymatique (Mason 1964).

II.3.1. La phosphatase alcaline

La phosphatase alcaline est une enzyme dimérique de type métalloglycoprotéique. Son activité optimale est comprise entre un pH de 7,5 à 9,6. Il s'agit d'une phosphomonostérase qui coupe la liaison ester phosphorique par hydrolyse libérant ainsi l'acide phosphorique. La phosphatase alcaline est présente dans de nombreuses cellules telles que : les zones de croissance des os, la muqueuse intestinale, le rein, le foie, le cerveau et les leucocytes. Son élimination se fait par la bile (Wilkinson 1978). Chez un adulte sain on trouve 30 à 125 U/l de phosphatases alcalines. Par contre, chez l'enfant le taux de cette enzyme est beaucoup plus élevé (110 à 400 U/l).

II.3.1.1. Variations pathologiques de la phosphatase alcaline

Des taux élevés de phosphatases alcalines sont observés dans les affections hépatiques et osseuses. Cette élévation est un signe de cholestase, de cancers primitifs du foie et de présence des calculs dans les voies biliaires.

La maladie de Paget est une ostéodystrophie bénigne, pouvant affecter un ou plusieurs os. Les taux de phosphatases alcalines peuvent être 20 à 30 fois plus élevés que la normale ce qui engendre l'apparition des ostéomalacies (démérialisation des os), le rachitisme et les tumeurs osseuses. La maladie de Paget se caractérise par une hypertrophie, une déformation des os touchés et des anomalies de l'architecture osseuse. Cette maladie est aussi caractérisée par une accélération du remodelage osseux et une augmentation de la résorption en zone pagétique (avec des ostéoclastes anormaux et en excès) ; avec une augmentation de l'activité des ostéoblastes et de la vitesse de la minéralisation (COFER 2011).

II.3.1.1. Détermination de l'activité enzymatique des phosphatases alcalines

Les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du paranitrophénylphosphate (PNPP) en paranitrophénol et acide phosphorique. Le paranitrophénol (PNP) de coloration jaune est libéré proportionnellement à l'activité de l'enzyme et mesuré par photométrie en milieu alcalin (figure 31) (Wilkinson 1978).

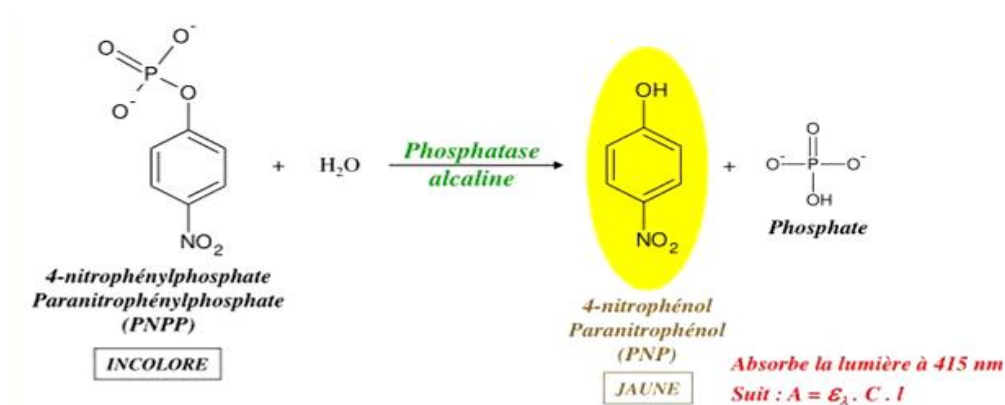
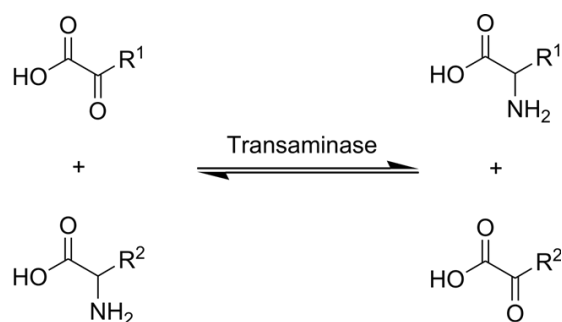


Figure 31 : Principe de la méthode de mesure de l'activité de la phosphatase alcaline.

II.3.2. Les transaminases

Les transaminases permettent le transfert du groupement amine d'un acide aminé sur un acide α -cétonique. L'acide aminé est alors transformé en acide α -cétonique correspondant et l'acide α -cétonique en acide aminé (Wilkinson 1978), selon la réaction suivante.



La transaminase glutamo-oxaloacétique (TGO) ou l'aspartate amino-transférase (ASAT) catalyse la réaction suivante :



Les deux principales réactions de transamination sont catalysées par les transaminases TGO ou ASAT et par glutamate pyruvate transaminase (TGP) ou l'alanine aminotransférases (ALAT). La TGO est essentiellement présente dans le cœur mais on la trouve également dans

le foie, le rein et les muscles. Les valeurs usuelles des transaminases varient de 5 à 40 U/l (cinétique UV à 37 °C). La TGP et l'ALAT sont essentiellement présentes dans le foie mais on les trouve également dans le cœur et le rein. Leurs valeurs normales se situent entre 5 et 55 U/l (Cinétique UV à 37 °C) (Boison 2007).

II.3.2.1. Variations pathologiques des transaminases

La mesure de l'activité des transaminases est très utile pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde. Dans les affections hépatiques le taux de TGO est élevé et beaucoup plus que le taux de TGP. Cette augmentation est causée par une hépatite chronique (nécrose cellulaire) et une obstruction des voies biliaires. La concentration de la TGO est aussi élevée dans le cas d'une embolie pulmonaire et d'infarctus rénaux.

II.3.2.2 Détermination de l'activité enzymatique des transaminases

a) Détermination de l'activité de la TGO

Les mesures sont effectuées à l'aide de réactions couplées pour permettre l'utilisation du coenzyme NADH, H⁺, dont on mesure la diminution de l'absorbance.

La TGO catalyse la réaction suivante :



Cette réaction est couplée avec la réaction suivante :

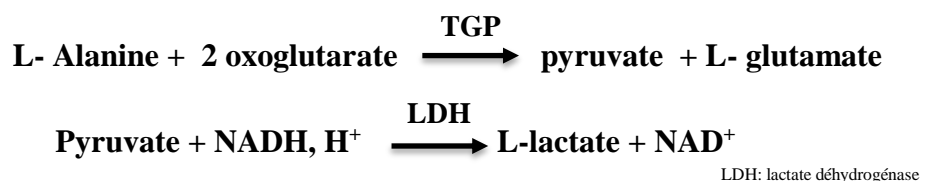


La vitesse de l'oxydation du NADH est proportionnelle à l'activité catalytique de la TGO. Elle est déterminée par la mesure de la diminution de l'absorbance à 340 nm.

b) Détermination de l'activité de la TGP

Les réactions sont toujours couplées afin de permettre l'utilisation du NADH.

La TGP catalyse la réaction suivante :



La vitesse de l'oxydation du NADH est proportionnelle à l'activité catalytique de la TGP. Elle est déterminée par la mesure de la diminution de l'absorbance à 340 nm (Wilkinson 1978).

II.3.3. Détermination de l'activité de lactate déshydrogénase

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme cytoplasmique présente dans tous les tissus et catalysant la transformation réversible de lactate-pyruvate. Elle est facilement libérée dans le plasma lors d'une lésion tissulaire. La LDH sérique possède cinq variétés d'isoenzymes différentes qui peuvent être séparées par EPS sur acétate de cellulose. Les valeurs usuelles de la LDH sont de 200 à 600 U/l (cinétique UV à 37 °C par la méthode des plaques LDH Vitros, lecture à 340 nm) (Farhana *et al.* 2020).

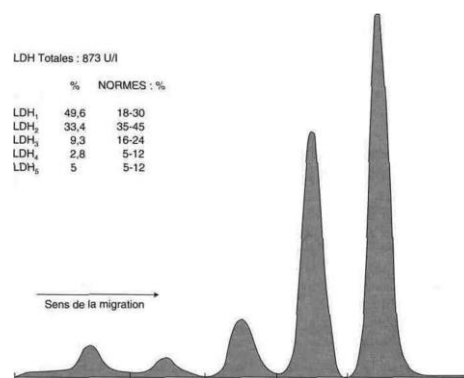
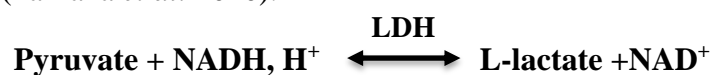


Figure 32 : Profil électrophorétique des isoenzymes des LDH d'un sérum de malade présentant un infarctus du myocarde.

II.3.3.1. Variations pathologiques de la LDH

L'augmentation de l'activité de la LDH est observée dans de nombreuses pathologies à savoir : les néoplasmes, les maladies cardio-respiratoires hypoxiques, l'infarctus du myocarde, les anémies hémolytiques, la cirrhose hépatique, l'infarctus rénal, les traumatismes, les atteintes musculaires ainsi que l'hypotension (Farhana *et al.* 2020).

II.3.4. Détermination de l'activité enzymatique de la créatine kinase

La créatine kinase (CK) est une enzyme d'origine musculaire, myocardique et cérébrale. Elle catalyse le transfert d'un phosphate de l'ATP sur la créatine, permettant ainsi le stockage d'énergie en vue de la contraction musculaire. La concentration normale de la CK varie de 40 à 290 U/l (Cinétique UV à 37 °C) (Bhagavan 2002).



L'ensemble des réactions suivantes permet de déterminer l'activité de la CK :



GgPDH= Glucose 6 phosphate déshydrogénase

La vitesse de formation du NADPH est proportionnelle à l'activité catalytique de la CK. Elle est déterminée par la mesure de l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

II.3.5. Détermination de l'activité enzymatique de lipases

La lipase pancréatique (ou stéapsine) une enzyme du suc pancréatique fonctionne en présence de sels biliaires et d'un cofacteur d'origine protidique, la colipase. Elle dégrade les TG du contenu intestinal en diglycérides puis en monoglycérides dont une partie de ces derniers sera transformée en glycérol et acides gras. La valeur normale de la lipase varie entre 20 et 210 U/l à 37 °C (cinétique à 400 nm).

La détermination de l'activité de la lipase se fait par turbidimétrie, selon la réaction suivante :



II.3.5.1. Variations pathologiques de la lipase

Une hyperlipasémie est observée dans le cas des pancréatites aiguës et chroniques, les cancers de la tête du pancréas et dans les atteintes hépatiques.

La lipasémie peut augmenter en cas d'insuffisance rénale. Des cas de macrolipasémie ont été décrits dans de nombreuses circonstances, notamment la maladie cœliaque. Le taux de la lipasémie peut rester pendant longtemps élevé (Philippe 2013).

Références bibliographiques

Actor, J. K. (2011). Humoral Immunity: Antibody Recognition of Antigen. Immunology and Microbiology. M. Hyde. Philadelphia, Elsevier.

Bell, H. E., Nicholson, S. F., Thompson, Z. K. (1967). "Bisalbuminemia of the fast type with a homozygote." *Clinica Chimica Acta* **15**(2): 247-252.

Beutler, E. (2010). Disorders of Iron Metabolism. Williams Hematology. M.-H. Medical. New York, Access Medicine: 2460.

Bhagavan, N. V. (2002). Enzymes III: Clinical Applications. Medical Biochemistry N. V. Bhagavan. San Diego, Academic Press: 121-132.

Bhagavan, N. V. (2002). Metabolic Homeostasis. Medical Biochemistry N. V. Bhagavan. San Diego, Academic Press: 485-519.

Boison, D. (2007). Transaminases. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. S. J. Enna, D. B. Bylund. New York, Elsevier: 1-2.

Briend-Marchal, A., Medaille, C., Braun, J. P. (2005). "Comparison of total protein measurement by biuret method and refractometry in canine and feline plasma." *Revue Medecine* **156** 615 – 619.

Brissot, P., Pietrangelo, A., Adams, P. C., de Graaff, B., McLaren, C. E., Loréal, O. (2018). "Haemochromatosis." *Nature Reviews Disease Primers* **4**(1): 18016.

Brunzell, J. D. (2007). "Hypertriglyceridemia." *New England Journal of Medicine* **357**(10): 1009-1017.

Camaschella, C., Nai, A., Silvestri, L. (2020). "Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era." *Haematologica* **105**(2): 260-272.

Capeau, J., Desbois-Mouthon, C., Magré, J., Caron, M., Vigouroux, C., Lascols, O., Cherqui, G. (1996). "Mécanismes moléculaires et cellulaires de l'action de l'insuline. Application à la physiologie et à la pathologie." *Nutrition Clinique et Métabolisme* **10**(4): 231-242.

Chanson, P. (2013). "Dépistage du diabète gestationnel: l'HGPO plus performante que la glycémie à jeun ou l'hémoglobine glyquée." *La Revue du Praticien* **63**(7): 923.

Chevallier, A., Abbal, M., Farcet, J.-P., Iffrah, N., Prin, L., Preud'homme, J.-L., Weill, B. (2011). Immunoglobulines monoclonales. U. M. V. Francophone. Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie: 1-39.

Clemetson, K. J. (1997). Blood glycoproteins. New Comprehensive Biochemistry. J. Montreuil, J. F. G. Vliegthart, H. Schachter, Elsevier. **29**: 173-201.

COFER (2011). Indications et stratégies d'utilisation des principaux examens d'imagerie. U. M. V. Francophone: 1-20.

Courbebaisse, M., Souberbielle, J. C. (2011). "Phosphocalcic metabolism: regulation and explorations." *Nephrologie & thérapeutique* **7**(2): 118-138.

Cowart, S. L., Stachura, M. E. (1990). Glucosuria. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. H. K. Walker, W. D. Hall, J. W. Hurst. Boston, Butterworths.

DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A., Weiss, R. (2015). "Type 2 diabetes mellitus." *Nature Reviews Disease Primers* **1**(1): 15019.

Dhatariya, K. (2016). "Blood Ketones: Measurement, Interpretation, Limitations, and Utility in the Management of Diabetic Ketoacidosis." *The Review of Diabetic Studies* **13**(4): 217-225.

DiMeglio, L. A., Imel, E. A. (2014). Calcium and Phosphate: Hormonal Regulation and Metabolism. Basic and Applied Bone Biology. D. B. Burr, M. R. Allen. San Diego, Academic Press: 261-282.

DiMeglio, L. A., White, K. E., Econs, M. J. (2000). "Disorders of phosphate metabolism." *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* **29**(3): 591-609.

Eckersall, P. D. (2008). Proteins Proteomics and the Dysproteinemias. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. J. J. Kaneko, Harvey, J.W. and Bruss, M.L. San Diego, Academic Press: 117-155.

Eyth, E., Basit, H., Smith, C. J. (2020). Glucose Tolerance Test. StatPearls. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing.

Eyth, E., Naik, R. (2020). Hemoglobin A1C. StatPearls. Treasure Island, StatPearls Publishing.

Fajans, S. S., Conn, J. W. (1961). "Comments on the Cortisone-Glucose Tolerance Test." *Diabetes* **10**(1): 63.

Farhana, A., Lappin, S. L. (2020). Biochemistry, Lactate Dehydrogenase. StatPearls. Treasure Island, StatPearls Publishing.

Federici, M. O., Benedetti, M. M. (2006). "Ketone bodies monitoring." *Diabetes Research and Clinical Practice* **74**: 77-81.

Feingold, K. R., Grunfeld, C. (2000). Introduction to Lipids and Lipoproteins. Endotext. K. R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce, G. Chrousos, W. W. de Herder, K. Dungan, A. Grossman, J. M. Hershman, J. Hofland, G. Kaltsas, C. Koch, P. Kopp, M. Korbonits, R. McLachlan, J. E. Morley, M. New, J. Purnell, F. Singer, C. A. Stratakis, D. L. Trencce, D. P. Wilson. South Dartmouth MDText.

Ferreira, C. R., Gahl, W. A. (2017). "Disorders of metal metabolism." *Translational Science of Rare Diseases* **2**: 101-139.

Ferreira, C. R., Van Karnebeek, C. D. M. (2019). Inborn errors of metabolism. Handbook of Clinical Neurology. N. N. L. S. d. V. a. H. C. Glass. **162** 449-481.

Foster, D. W., McGarry, J. D. (1983). "The Metabolic Derangements and Treatment of Diabetic Ketoacidosis." **309**(3): 159-169.

Galactéros, F. (1988). "Iron deficiency anemias." *Revue de l'Infirmière* **38**(20): 30-32.

- Gatta, A., Verardo, A., Bolognesi, M. (2012). "Hypoalbuminemia." *Internal and Emergency Medicine* **7** 193-199.
- George, J. W., O'Neill, S. L. (2001). "Comparison of refractometer and biuret methods for total protein measurement in body cavity fluids." *Veterinary Clinical Pathology* **30**(1): 16-18.
- Goffinet, L., Barrea, T., Beauloye, V., Lysy, P. A. (2017). "Blood versus urine ketone monitoring in a pediatric cohort of patients with type 1 diabetes: a crossover study." *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism* **8**(1-2): 3-13.
- Goldstein, D. J., McQuiston, B. (2001). Nutrition and Renal Disease. Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease. A. M. Coulston, C. L. Rock, E. R. Mosen. San Diego, Academic Press: 617-636.
- Gounden, V., Vashisht, R., Jialal, I. (2020). Hypoalbuminemia. StatPearls. Treasure Island StatPearls Publishing.
- Gupta, A. (2019). Plasma Proteins. Comprehensive Biochemistry for Dentistry: Textbook for Dental Students. Singapore, Springer Singapore: 67-75.
- Gutman, A. B., Moore, D. H., Gutman, E. B., McClellan, V., Kabat, E. A. (1941). "Fractionation of serum proteins in hyperproteinemia, with special reference to multiple myeloma." *The Journal of Clinical Investigation* **20**(6): 765-783.
- Harigae, H. (2018). "Iron metabolism and related diseases: an overview." *International Journal of Hematology* **107**(1): 5-6.
- Harris, D. J. (2009). Clinical tests. Handbook of Avian Medicine. T. N. Tully, G. M. Dorrestein, A. K. Jones, J. E. Cooper. Edinburgh, W.B. Saunders: 77-84.
- Holmes, M. V., Ala-Korpela, M. (2019). "What is 'LDL cholesterol'?" *Nature Reviews Cardiology* **16**(4): 197-198.
- Jaeggi-Groisman, S. E., Byland, C., Gerber, H. (2000). "Improved Sensitivity of Capillary Electrophoresis for Detection of Bisalbuminemia." *Clinical Chemistry* **46**(6): 882-883.
- Jaisson, S., Gillery, P. (2018). "Les produits de glycation avancée des protéines." *Revue Francophone des Laboratoires* **2018**(502): 48-55.
- Jarauta, E., Bea-Sanz, A. M., Marco-Benedi, V., Lamiquiz-Moneo, I. (2020). "Genetics of Hypercholesterolemia: Comparison Between Familial Hypercholesterolemia and Hypercholesterolemia Nonrelated to LDL Receptor." *Frontiers in Genetics* **11**: 554931.
- Jeejeebhoy, K. N. (2004). Nutritional Assessment. Encyclopedia of Gastroenterology. L. R. Johnson. New York, Elsevier: 759-766.
- Kathiresan, S., Rader, D. J. (2009). Lipoprotein Disorders. Genomic and Personalized Medicine. P. D. H. F. Willard, G. S. Ginsburg. New York, Academic Press: 634-651.
- Kathiresan, S., Rader, D. J. (2013). Lipoprotein Disorders. Genomic and Personalized Medicine. G. S. Ginsburg, H. F. Willard, Academic Press: 501-515.
- Kaushansky, K., Lichtman, M. A., Prchal, J., Levi, M. M., Press, O. W., Burns, L. J., Caligiuri, M. (2015). Williams Hematology, McGraw-Hill Education.

Keay, G., Doxey, D. L. (1982). "Species characteristics of serum proteins demonstrated after agarose gel electrophoresis." *Veterinary Research Communications* **5**(3): 263-270.

Keay, G., Doxey, D. L. (1983). "Serum albumin values from healthy cattle, sheep and horses determined by the immediate bromocresol green reaction and by agarose gel electrophoresis." *Research in Veterinary Science* **35**(1): 58-60.

Klepper, J. (2013). "Glucide metabolism disorders (excluding glycogen myopathies)." *Handbook of Clinical Neurology* **113**: 1689-1694.

Koshland, D. E., Haurowitz, F. (2020). Protein. England Encyclopædia Britannica.

Laurin, L.-P., Leblanc, M. (2019). Disorders of Potassium and Magnesium. Critical Care Nephrology. C. Ronco, R. Bellomo, J. A. Kellum, Z. Ricci. Philadelphia, Content Repository Only!: 339-344.e331.

Leung, J., Crook, M. (2019). "Disorders of phosphate metabolism." *Journal of Clinical Pathology* **72**(11): 741-747.

Lumachi, F., Motta, R., Cecchin, D., Ave, S., Camozzi, V., Basso, S., Luisetto, G. (2011). "Calcium metabolism & hypercalcemia in adults." *Current Medicinal Chemistry* **18**(23): 3529-3536.

Lung, B. E., Mowery, M. L., Komatsu, D. E. E. (2020). Calcitriol. StatPearls. Treasure Island, StatPearls Publishing.

Marrack, D., Marks, V. (1961). "Glucose Assimilation in Insulinomas Studied by Means of the Intravenous Glucose Tolerance Test." *Proceedings of the Association of Clinical Biochemists* **1**(4): 74-76.

Marshall, W. J., Bangert, S. K., Raynaud, E. (2005). Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic, Elsevier.

Mason, E. E. (1964). "Enzymes in Blood Plasma." *Archives of Internal Medicine* **114**(1): 169-170.

McGarry, J. D., Woeltje, K. F., Kuwajima, M., Foster, D. W. (1989). "Regulation of ketogenesis and the renaissance of carnitine palmitoyltransferase." *Diabetes Metabolism Reviews* **5**(3): 271-284.

McMillin, J. M. (1990). Blood Glucose. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. H. K. Walker, W. D. Hall, J. W. Hurst. Boston, Butterworths.

Minchiotti, L., Caridi, G., Campagnoli, M., Lugani, F., Galliano, M., Kragh-Hansen, U. (2019). "Diagnosis, Phenotype, and Molecular Genetics of Congenital Analbuminemia." *Congenital Analbuminemia* **10**(336).

Mutlu, E. A., Keshavarzian, A., Mutlu, G. M. (2006). "Hyperalbuminemia and elevated transaminases associated with high-protein diet." *Scandinavian Journal of Gastroenterology* **41**(6): 759-760.

Narayanaswamy, M., Sharma, S. (2020). Polygenic Hypercholesterolemia. StatPearls. Treasure Island StatPearls Publishing.

- Nedelkov, D., Kiernan, U. A., Niederkofler, E. E., Tubbs, K. A., Nelson, R. W. (2005). "Investigating diversity in human plasma proteins." **102**(31): 10852-10857.
- Perlmutter, D. H. (2016). "α1-antitrypsin Deficiency: A Misfolded Secretory Protein Variant with Unique Effects on the Endoplasmic Reticulum." *Endoplasmic Reticulum Stress in Diseases* **3**(1): 63-72.
- Pfeiffer, N. E., McGuire, T. C. (1977). "A sodium sulfite-precipitation tests for assessment of colostral immunoglobulin transfer to calves." *Journal of the American Veterinary Medical Association* **170**(8): 809-811.
- Philippe, L. (2013). "Amylases et lipases." *Hépto-Gastro et Oncologie Digestive* **20** 650-655.
- Raache, R., Azzouz, M., Belanteur, K., Aissou, A., Boudiba, A., Abbadi, M. C., Amroun, H., Attal, N. (2015). "L'intérêt du dosage du peptide C et l'insuline chez les sujets diabétiques." *Annales d'Endocrinologie* **76**(4): 530-531.
- Roep, B. O., Thomaidou, S., van Tienhoven, R., Zaldumbide, A. (2020). "Type 1 diabetes mellitus as a disease of the β-cell (do not blame the immune system?)." *Nature Reviews Endocrinology*.
- Russi, E., Weigand, K. (1983). "Analbuminemia." *Klinische Wochenschrift* **61**(11): 541-545.
- Santamarina-Fojo, S., Brewer, H. B., Jr (1991). "The Familial Hyperchylomicronemia Syndrome: New Insights Into Underlying Genetic Defects." *JAMA* **265**(7): 904-908.
- Schroeder, H. W., Jr., Cavacini, L. (2010). "Structure and function of immunoglobulins." *Journal of Allergy Clinical Immunology* **125**(2): 41-S52.
- Schuchardt, J. P., Hahn, A. (2017). "Intestinal Absorption and Factors Influencing Bioavailability of Magnesium-An Update." *Current Nutrition and Food Science* **13**(4): 260-278.
- Seo, J. W., Park, T. J. (2008). "Magnesium metabolism." *Electrolyte & Blood Pressure* **6**(2): 86-95.
- Sepulchre, E., Radermecker, R. P. (2013). "Les inhibiteurs du cotransporteur du glucose SGLT2 rénal: une nouvelle classe thérapeutique dans le diabète de type 2." *Journal de Cardiologie* **7**: 429-434.
- Shimizu, N. (2016). "Copper metabolism and genetic disorders." *Japanese Journal of Clinical Medicine* **74**(7): 1151-1155.
- Suppressa, P., Carbonara, C., Lugani, F., Campagnoli, M., Troiano, T., Minchiotti, L., Sabbà, C. (2019). "Congenital analbuminemia in a patient affected by hypercholesterolemia: A case report." *World Journal of Clinical Cases* **7**(4): 466-472.
- Szybiński, Z., Szurkowska, M. (2001). "Insulinemia-a marker of early diagnosis and control of efficacy of treatment of type II diabetes." *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* **106**(3): 793-800.

Thuillier, F., Demarquilly, C., Szymanowicz, A., Gaillard, C., Boniface, M., Braidy, C., Daunizeau, A., Gascht, D., Gruson, A., Lagabrielle, J. F., Lasnier, E., Lemdani, M., Macchi, V., Poulin, G., de Sainte Hermine, C., Sancho, J., Schellenberg, F., Sevin, O., Vaubourdoille, M. (2008). "Nephelometry or turbidimetry for the determination of albumin, ApoA, CRP, haptoglobin, IgM and transthyretin: which choice?" *Annales de Biologie Clinique* **66**(1): 63-78.

To, U., Schilsky, M. L. (2018). Introduction to Copper Metabolism and Wilson Disease. Management of Wilson Disease. Y. N. H. T. C. Yale. University New Haven USA, Humana Press, Cham: 1-16.

Tripathy, D., Carlsson, M., Almgren, P., Isomaa, B., Taskinen, M. R., Tuomi, T., Groop, L. C. (2000). "Insulin secretion and insulin sensitivity in relation to glucose tolerance: lessons from the Botnia Study." *Diabetes* **49**(6): 975.

Tümer, Z., Møller, L. B. (2010). "Menkes disease." *European Journal of Human Genetics* **18**(5): 511-518.

Vaulont, S. (2017). "Métabolisme du fer." *Archives de Pédiatrie* **24**(5): 532-539.

Villiers, C. (1995). "C3, protéine du complément: une molécule aux multiples capacités." *Médecine Sciences* **11**(10): 1419-1429.

Waller, D. G., Sampson, A. P. (2018). Calcium metabolism and metabolic bone disease. Medical Pharmacology and Therapeutics. D. G. Waller, A. P. Sampson, Elsevier: 481-489.

Welters, A., Lammert, E. (2014). Diabetes mellitus. Metabolism of human diseases organ physiology and pathophysiology. E. L. M. Zeeb. Wien Heidelberg New York Dordrecht London, Springer 163-169.

WHO (2011). Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus: Abbreviated Report of a WHO Consultation, Geneva: World Health Organization. **2**.

Wilkinson, J. H. (1978). Plasma Enzyme Activities. Enzymes in Health and Disease. G. D. W. JH. London, Inaugural Scientific Meeting of the International Society for Clinical Enzymology: 1-7.

Zaia, D. A. M., Marques, F. R., Zaia, C. T. B. V. (2005). "Spectrophotometric determination of total proteins in blood plasma: a comparative study among dye-binding methods." *Journal Brazilian Archives of Biology and Technology* **48**: 385-388.