

Exploration des lipides plasmatiques

1° Données physiologiques :

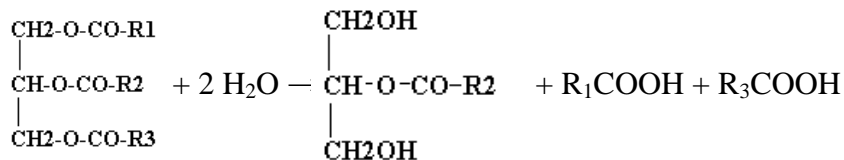
1.1. Digestion des lipides :

1.1.1. Digestion chimique des lipides :

Elle débute par une émulsion stable qui va être stabilisée par les sels biliaires. Les gouttes de graisses émulsionnées offrent une grande surface de contact aux enzymes lipolytiques hydrophobes :

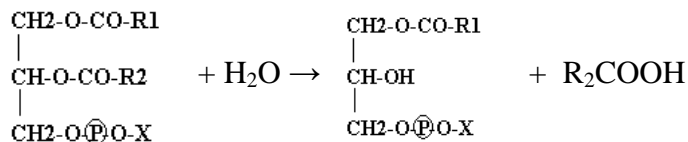
- **Lipase pancréatique :**

Elle agit sur les triglycérides émulsionnés par les sels biliaires. Elle provient d'une prolipase inactive qui est activée grâce à une colipase.



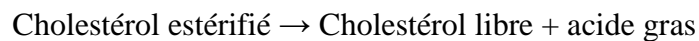
- **Phospholipase A₂ :**

Elle coupe la liaison ester au niveau du C₂ du glycérol.



- **Cholestérol estérase :**

Elle hydrolyse des esters lipidiques.



1.1.2. Absorption des acides gras, du glycérol et des monoglycérides :

- **Dans la lumière intestinale :**

Les monoglycérides et les acides gras à longues chaînes, libérés par la lipase pancréatique sont insolubles dans l'eau et s'associe aux sels biliaires et aux lécithines pour constituer des micelles de petites tailles. Les groupements polaires sont tournés vers l'extérieur.

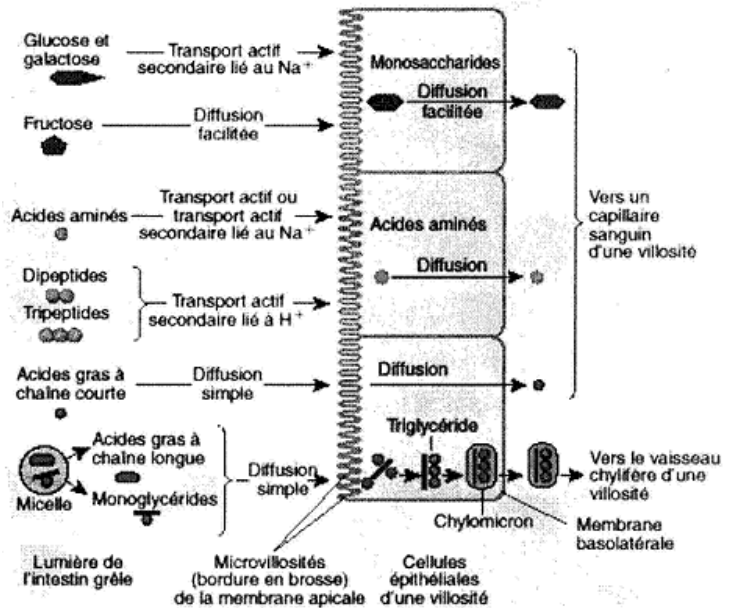
Les micelles diffusent entre les villosités intestinales et se retrouvent, par diffusion passive, dans l'entérocyte.

- **Dans l'entérocyte :**

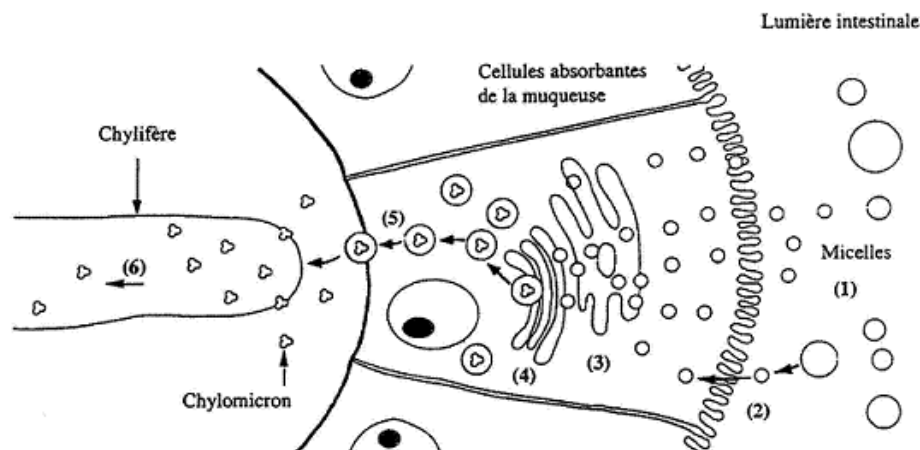
Les produits issus de la digestion sont pris en charge par le réticulum endoplasmique lisse (REL). Les triglycérides sont reformés à partir des acides gras et des monoglycérides. Les lysophospholipides sont retransformés en phospholipides. Le cholestérol est reestérifié.

Les chylomicrons sont incorporés à des vésicules sécrétoires, dans l'appareil de Golgi, qui seront libérés par exocytose dans le milieu extracellulaire. Ils pénètrent dans les chylifères. Ils sont emportés par la lymphe et rejoignent la circulation veineuse par le canal thoracique.

Le glycérol et les acides gras à courtes chaînes sont absorbés par la muqueuse intestinale, passent dans le sang et vont dans la veine porte.



1.2. Formation des chylomicrons :



1.3. Les lipoprotéines plasmatiques :

Le sérum d'un sujet normal, à jeun, contient 5,5 à 7,5 g de lipides. Ce sont des composés hydrophobes qui circulent dans le sang associés à des protéines pour former des édifices supramoléculaires : les lipoprotéines.

1.3.1. Structure des lipoprotéines :

1.3.1.1. Composition :

Les lipoprotéines sont des complexes macromoléculaires variés avec des proportions différentes en lipides et protéines, ce qui conditionne leur taille et leur densité.

Elles sont constituées :

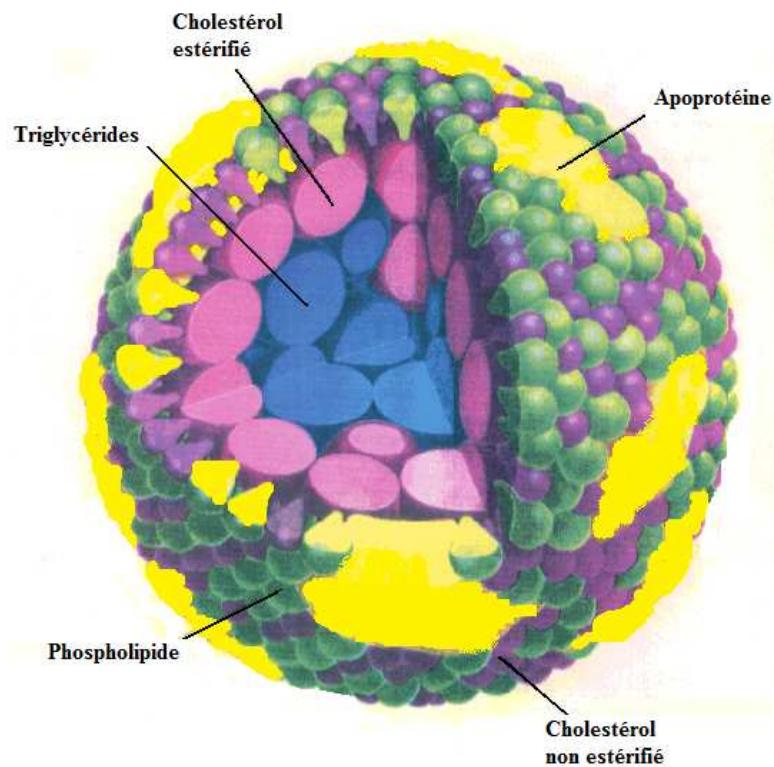
- **D'une fraction lipidique :**
 - Phospholipides.
 - Triglycérides.
 - Cholestérol libre et estérifié.
 - Acides gras libres.

- **D'une fraction protéique :**
 - Apoprotéines AI et AII.
 - Apoprotéines B100 et B48.

Elles ont un rôle :

- Structural permettant ainsi le transport des lipoprotéines.
- Métabolique de reconnaissance des sites récepteurs des lipoprotéines au niveau des cellules et dans l'activation ou l'inhibition d'enzymes.

1.3.1.2. Configuration moléculaire :



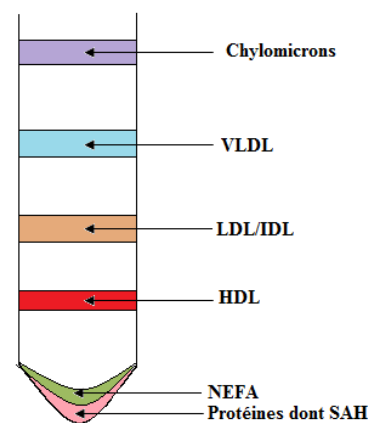
1.3.2. Classification :

1.3.2.1. Critères de classification :

Les lipoprotéines peuvent être classées en fonction de :

- Leur composition chimique.
- Leurs propriétés physicochimiques.
- Leur réactivité vis-à-vis des polyanions, des lectines, etc....
- Leur réactivité immunologique vis-à-vis d'immuns sérums spécifiques.
- Leur origine et devenir métabolique.
- Leur pouvoir pathogène.

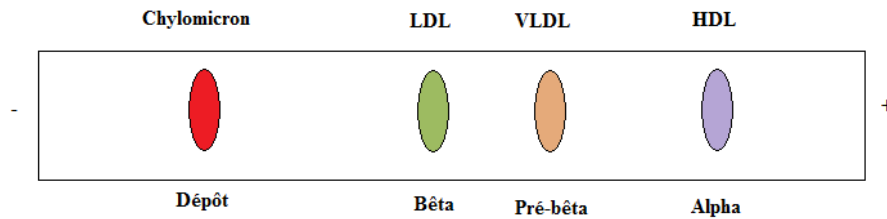
1.3.2.1.1. Ultracentrifugation de flottation :



1.3.2.1.2. Electrophorèse des lipoprotéines :

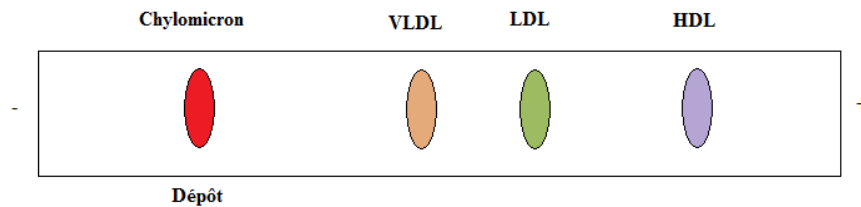
- **Lipoprotéinogramme obtenu sur gel d'agarose :**

La séparation se fait selon la charge des lipoprotéines. Les VLDL migrent plus loin que les LDL car elles contiennent des acides gras libres chargés négativement.



- **Lipoprotéinogramme obtenu sur gel de polyacrylamide :**

La séparation se fait selon la taille et la charge des lipoprotéines.



1.3.2.2. Principales apoprotéines :

Apoprotéine	Lieu de synthèse	Fonction	Association aux lipoprotéines
A I	Foie, intestin	Activateur de la LCAT Efflux de cholestérol	HDL, Chylomicrons
A II	Foie, intestin	Transport et rôle structural	HDL, Chylomicrons
B 100	Foie	Sécrétion des VLDL Ligand du récepteur LDL	VLDL, IDL, LDL
B 48	Intestin	Sécrétion des Chylomicrons	Chylomicrons

1.3.2.3. Les différentes classes de lipoprotéines :

- **Les chylomicrons :**

Ils n'apparaissent normalement qu'en période postprandiale. Ils sont riches en triglycérides car ils proviennent de la digestion des lipides. Ils transportent les substances lipidiques d'origine alimentaire vers leur lieu de stockage ou d'utilisation.

- **Les VLDL :**

Elles sont très riches en triglycérides mais elles possèdent aussi de nombreux acides gras libres. Elles assurent le transport des triglycérides, d'origine endogène, vers des tissus périphériques.

- **Les LDL :**

Elles sont chargées en cholestérol et résultent de la dégradation des VLDL. Elles assurent le transport du cholestérol vers les cellules périphériques.

- **Les HDL :**

Elles ont une teneur élevée en protéines. Elles sont formées par le foie et ont un rôle dans le métabolisme des apoprotéines. Elles réalisent en partie, l'épuration tissulaire du cholestérol qui est amené vers le foie.

1.3.3. Métabolisme des lipoprotéines :

1.3.3.1. Principales enzymes intervenant dans le métabolisme des lipoprotéines :

1.3.3.1.1. La lipoprotéine lipase (LPL) :

Elle est présente à la surface de l'endothélium des capillaires de différents tissus. Elle permet l'hydrolyse des triglycérides et des lipoprotéines en glycérol et acides gras libres captés par les tissus :

- Musculaires, ils sont catalysés par β oxydation.
- Adipeux, ils sont stockés sous forme de triglycérides.

La LPL est activée par l'apoprotéine C II.

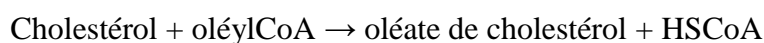
1.3.3.1.2. La lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) :

Elles sont synthétisées par le foie et elle est liée aux HDL. Elle permet l'estérification du cholestérol par les acides gras provenant des lécithines.



1.3.3.1.3. L'acylCoA cholestérase acyl transférase (ACAT) :

Elle permet l'estérification du cholestérol dans les cellules.



1.3.3.1.4. La lipase hépatique :

C'est un triglycéride lipase cellulaire. Elle agit sur les Chylomicrons remnants et les LDL 1.

1.3.3.2. Transport des triglycérides :

1.3.3.2.1. Les chylomicrons :

Ils assurent le transport des acides gras et des triglycérides d'origine exogène vers le foie.

Ils subissent l'action de la LPL qui permet leur transformation en Chylomicrons remnants qui sont ensuite catabolisés dans le foie sous l'action de la lipase hépatique.

1.3.3.2.2. Les VLDL :

La sécrétion de VLDL par les cellules hépatiques est continue. Les VLDL naissantes sont formées d'Apo B 100 + des triglycérides + cholestérol auxquelles s'ajoutent l'Apo C et E donnés par les HDL pour former les VLDL matures.

1.3.3.3. Transport du cholestérol :

1.3.3.3.1. Les LDL :

Elles assurent le transport du cholestérol vers les tissus périphériques. La formation des LDL résulte de la dégradation intravasculaire des VLDL. Le cholestérol passe dans le cytoplasme ce qui provoque un excès de cholestérol cytoplasmique qui :

- Inhibe l'HMGC_oA réductase et donc la synthèse de cholestérol endogène de la cellule.
- Inhibe la synthèse de récepteurs eux LDL par inhibition de la transcription.
- Active la synthèse d'ACAT qui estérifie le CS en CSE pour le stocker.

Tout ceux-ci évite les surcharges en cholestérol dans les tissus.

1.3.3.3.2. Les HDL :

Ils ont pour rôle :

- Le recyclage du cholestérol vers le foie pour excrétion de sels biliaires.
- Le stockage du cholestérol estérifié par échange avec les IDL.

Ils sont synthétisés par le foie.

Conclusion :

Il y a deux courants de cholestérol et triglycérides dans l'organisme :

- Le courant d'influx qui permet aux lipoprotéines d'aller vers leur lieu de synthèse vers les tissus utilisateurs de triglycérides.
- Le courant d'efflux qui est assuré par les HDL et qui permet l'élimination du cholestérol excédentaire par le foie.

2° Dyslipoprotéinémies et pathologies associées :

2.1. Classification des dyslipoprotéinémies :

Type	Fréquence	Aspect du sérum	CT	TG	Electrophorèse	Origine
I	Rare	Lactescent	Normal ou +	++++	CM	Activité de la LPL diminuée
IIa	Fréquent	Clair	+++	Normal	LDL	Absence de récepteur au LDL
IIb	Fréquent	Opalescent à clair	+	+ à ++	VLDL + LDL	?
III	Rare	Opalescent à lactescent	++	++	CM résiduels + VLDL	Accumulation d'IDL
IV	Fréquent	Opalescent	+	+ à ++	VLDL	Augmentation de la synthèse ou de catabolisme des VLDL
V	Rare	Lactescent	+	++ à +++	CM + VLDL	?

I : hypertriglycémie exogène ; IIa : Hypercholestérolémie essentielle ;

IIb : hyperlipidémie combinée familiale ; III : dys- β -lipoprotéinémie ;

IV : hypertriglycémie endogène ; V : hypertriglycémie mixte.

2.2. Analyses au laboratoire de biologie médicale :

Le dosage des lipoprotéines est fondamental en cas d'hypercholestérolémie.

Un seul prélèvement à jeun ne permet pas de mettre en évidence tous les dysfonctionnements.

2.2.1. Le bilan lipidique de première intention :

2.2.1.1. Aspect du sérum :

Le sérum du sujet à jeun, depuis moins de 24 heures, doit être clair (faible taux de VLDL et absence de Chylomicrons).

Si le sérum est Opalescent, il y a un excès de VLDL. S'il est Lactescent, il y a présence de Chylomicrons.

Pour confirmer la présence de Chylomicrons, on fait un test de crémage (on conserve le sérum 24 heures à 4°C. Les Chylomicrons remontent à la surface en formant une « crème » à sa surface).

2.2.1.2. Méthodes de dosage des triglycérides :

Elles reposent sur le dosage enzymatique du glycérol libéré après hydrolyse des triglycérides des lipoprotéines par la lipase.

- **Utilisation du Kit GK, GPD :**

- Lipase : $TG + 3 H_2O \rightarrow Glycérol + 3 AG$
- GK : $Glycérol + ATP \rightarrow Glycérol-3-phosphate + ADP$
- GPD : $Glycérol-3-phosphate + NAD^+ \rightarrow DHAP + NADH, H^+$

Elle est effectuée à pH = 9,4 en présence de magnésium et d'hydrazine. On lit l'absorbance à 340 nm.

- **Utilisation du Kit GK, PK, LDH :**

- Lipase : $TG + 3 H_2O \rightarrow Glycérol + 3 AG$
- GK : $Glycérol + ATP \rightarrow Glycérol-3-phosphate + ADP$
- GPD : $PEP + ADP \rightarrow Pyruvate + ATP$
- LDH: $Pyruvate + NADH, H^+ \rightarrow Lactate + NAD^+$

Elle est effectuée à pH = 7,2 en présence de magnésium (Cofacteur essentiel des kinases). On lit l'absorbance à 340 nm.

- **Méthode colorimétrique utilisant le Kit : GK, GPO, Peroxydase :**

- Lipase : $TG + 3 H_2O \rightarrow Glycérol + 3 AG$
- GK : $Glycérol + ATP \rightarrow Glycérol-3-phosphate + ADP$
- GPO: $G3P + O_2 \rightarrow DHAP + H_2O_2$
- Peroxydase: $2 H_2O_2 + Chromogène\ Incolore \rightarrow 4 H_2O + Chromogène\ coloré$

On mesure l'absorbance à 505 nm du chromogène oxydé produit après réaction totale.

2.2.1.3. Méthode de dosage du cholestérol total :

- Cholestérol estérase : $(stérides + cholestérol\ libre) + H_2O \rightarrow cholestérol\ total\ libre$
- Cholesterol oxydase : $cholestérol\ total\ libre + O_2 \rightarrow Cholestène\ 4\ one\ 3 + H_2O_2$
- Peroxydase: $2 H_2O_2 + Chromogène\ Incolore \rightarrow 4 H_2O + Chromogène\ coloré$

2.2.1.4. Méthode de dosage du cholestérol HDL :

On précipite sélectivement l'ensemble (VLDL + LDL), et après centrifugation, on dose le cholestérol HDL du surnageant par le Kit précédent.

Les réactifs précipitant les plus utilisés sont :

- Sulfate de dextran + ions magnésium.
- Héparine + ions magnésium.
- Phosphotungstate de magnésium.

Le calcul du cholestérol HDL est possible après ces premier dosages : si > 4 g/L et si absence de Chylomicrons :

- $LDL = Cholestérol\ total - HDL - Triglycéride/5$ en g/L
- $LDL\ Cholestérol\ total - HDL - Triglycéride/2,2$ en mmol/L

2.2.2. Le bilan lipidique de deuxième intention :

2.2.2.1. Electrophorèse sérique permettant de classifier les hyperlipémies :

Méthode semi-quantitative.

2.2.2.2. Dosage des apolipoprotéines :

- **Par immunoelectrophorese :**

Le rapport Apo A1/Apo B100 est assimilé au rapport cholestérol HDL/cholestérol LDL.

- **Par méthode automatisé :**

On précipite les apolipoprotéines par les anticorps monoclonaux correspondants et on mesure la turbidité correspondant aux complexes Ag-Ac

3° Maladies cardiovasculaires :

3.1. Athérosclérose :

3.1.1. Mécanismes de l'athérosclérose :

On observe un dépôt de cholestérol dans les vaisseaux et une agrégation des plaquettes. Lorsque la concentration en LDL est trop importante et/ ou lorsque leur temps de séjour dans le plasma augmente, les macrophages ne peuvent plus dégrader le cholestérol assez rapidement et le stockent sous forme estérifiée dans des vésicules lipidiques formant des cellules spumeuses.

De plus, les LDL sont oxydées et ne sont plus reconnues par leur récepteur mais sont reconnues par des récepteurs spécifiques des macrophages. Ces lipoprotéines oxydées sont toxiques et lysent les cellules endothéliales ce qui provoque l'adhésion des plaquettes.

La formation de la plaque d'athérome provoque la diminution de la lumière des artères, ce qui augmente le risque de bouchage de l'artère coronaire par des thrombus.

3.1.2. Les principales causes :

- Endocytose par des récepteurs au LDL diminués.
- Excès de LDL.
- Inhibition de la synthèse des récepteurs au LDL.

3.1.3. Le rapport HDL/LDL :

Les LDL apportent le cholestérol aux cellules. En cas d'excès, le cholestérol se dépose dans les vaisseaux. Les LDL représentent donc le cholestérol athérogène (« mauvais cholestérol »).

Les HDL permettent le retour du cholestérol des tissus extra-hépatiques vers le foie en vue de son élimination par les sels biliaires. Les HDL représentent donc le cholestérol vasculoprotecteur (« bon cholestérol »).

	Homme	Femme
CS total / CS HDL	4,97	4,45
CS LDL / CS HDL	3,55	3,22

3.2. Infarctus du myocarde :

3.2.1. Définitions :

- **Ischémie :**

Arrêt ou insuffisance de la circulation sanguine dans une partie du corps ou dans un organe, ce qui prive les cellules d'apport en oxygène et entraîne leur nécrose. Les ischémies peuvent être dues à l'obstruction d'un vaisseau ou la compression d'une artère.

- **Infarctus du myocarde :**

C'est la conséquence immédiate de l'occlusion d'une artère coronaire ou de l'une de ses ramifications. Privée subitement d'oxygène, la partie concernée du cœur meurt et se nécrose. Cet événement s'accompagne la plupart du temps de douleurs comparables à des crampes. Cette obstruction de l'artère coronaire est provoquée soit par l'athérosclérose, soit par un caillot sanguin.

L'infarctus du myocarde se définit, d'après l'OMS, par la réunion d'au moins deux des signes suivants :

- Douleurs thoraciques typiques.
- Modification de l'électrocardiogramme.
- Augmentation significative d'un marqueur biochimique plasmatique.

3.2.2. Qualités d'un bon marqueur biochimique myocardique :

- Bonne cardio-spécificité.
- Concentration myocardique suffisante pour permettre sa libération sanguine en quantité raisonnable.
- Augmentation précoce et significative, dans le plasma, pour permettre sa détermination.
- Stabilité sanguine.
- Décroissance lente permettant un diagnostic rétrospectif et un suivi biologique.
- Mesure rapide et fiable.

3.2.3. Les marqueurs biochimiques de l'IDM :

3.2.3.1. La lactate déshydrogénase (LDH) :



Il existe cinq isoenzymes :

- LDH1 (H4) : muscle cardiaque.
- LDH2 (H3M1)
- LDH3 (H2M2) : fraction pulmonaire.
- LDH4 (H1M3)
- LDH5 (M4) : muscle squelettique.

Elle a une faible cardio-spécificité. Sa détermination est intéressante lorsque l'admission du patient à l'hôpital est tardive. Il existe une bonne corrélation entre l'intensité de l'augmentation de la LDH et l'étendu de la nécrose.

3.2.3.2. La myoglobine (MGB) :

Comparée aux autres marqueurs biochimiques, la myoglobine a le plus petit poids moléculaire. C'est une protéine héminique monomérique présente aussi bien dans le muscle squelettique que dans le myocarde, d'où sa faible cardio-spécificité.

Elle peut être dosée par immunonéphélométrie et immunoturbidimétrie, immunoenzymologie et enzymofluorimétrie. En raison de son faible poids moléculaire, la myoglobine est le marqueur le plus précoce à être libéré de façon significative à partir de la zone nécrosée.

3.2.3.3. Les chaînes de myosine :

La myosine est une protéine contractile myofibrillaire qui interagit avec l'actine durant la contraction musculaire. La lyse des cellules musculaires cardiaque entraîne la libération de la myosine dans la circulation. Le dosage des chaînes de la myosine se fait par radioimmunologie, en utilisant des anticorps polyclonaux ou monoclonaux. Mais l'application de la recherche des chaînes de myosine reste limitée en raison du manque de spécificité.

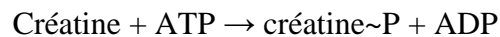
3.2.3.4. Les troponines :

La troponine est une protéine de structure de la fibre musculaire localisée sur le filament de la myofibrille. Ce dernier, constitué d'une triple chaîne torsadée avec deux brins d'actine et un brin de tropomyosine, porte à intervalle régulier un trimère associant la troponine T, la troponine C et la troponine I.

Ce trimère intervient dans la régulation de la contraction musculaire. Seul la troponine et surtout le troponine I ont un intérêt concret dans le diagnostic et le suivi de l'infarctus du myocarde et sont dosées par immunoenzymologie.

3.2.3.5. La créatine kinase (CK) :

La créatine kinase est une phosphotransférase qui catalyse la phosphorylation réversible de la créatine par le complexe ATP-Mg²⁺.



Sur le plan physiologique, la créatine phosphate peut fournir, lors d'un exercice musculaire prolongé, de l'ATP. La créatine kinase a une double localisation subcellulaire, cytosolique et mitochondriale.

La créatine kinase cytosolique est une molécule constituée de deux sous-unités M et/ou B. Chaque sous-unité contient un site catalytique et un groupement thiol.

Les localisations tissulaires prédominantes sont :

- Le cerveau pour la CK1 : CK BB.
- Le myocarde pour la CK2 : CK MB (CK MB1 et CK MB2).
- Le muscle squelettique pour la CK3 : CK MM (1, 2, 3, 4).

On peut :

- **Déterminer l'activité de la créatine kinase totale :**

Elle s'effectue par cinétique enzymatique à 340 nm.

La Catc de la CK MB est augmentée lors d'un infarctus du myocarde.

- **Déterminer la CK MB par immuno-inhibition :**

On utilise des anticorps anti-sous-unité M, ce qui permet d'inhiber les sous-unités M. On compare le dosage avec celui de la CK totale.

L'augmentation est précoce, 4 à 8 heures après l'accident cardiaque.