

REPUBLIQUE DU MALI
Un peuple - un but - une foi

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

Année 1980

N° _____

BILAN LIPIDIQUE ET ATHEROSCLEROSE

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le 1981
devant l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali

par : *M^{me} DIALLO Aminata SIDIBE*
pour obtenir le grade de Pharmacien
(Diplôme d'Etat)

Examineurs :

Président	J. JOSSELIN
Membres	{ F. MIRANDA K. TOURE A. K. KOUMARE

REPUBLIQUE DU MALI
UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

ECOLE NATIONALE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

BILAN LIPIDIQUE ET ATHEROSCLEROSE

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ ET SOUTENU PUBLIQUEMENT LE JANVIER 1981

DEVANT L'ECOLE NATIONALE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

PAR

MADAME DIALLO AMINATA SIDIBÉ

POUR OBTENIR LE GRADE DE PHARMACIEN

(DIPLÔME D'ÉTAT)

MM. J. JOSSELIN PRÉSIDENT

F. MIRANDA

K. TOURE EXAMINATEURS

A.K. KOUMARE

LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS

ADP = Adénosine-di-phosphate
 ATP = Adénosine-tri-phosphate
 CE = Cholestérol estérifié
 CL = Cholestérol libre
 CT = Cholestérol total
 CPK ou CK = Créatine-phosphokinase
 F = Femme
 GOT = Transaminase glutamo-oxalo-acétique
 GPT = Transaminase glutamique-pyruvique
 H = Homme
 HDL = High density lipoproteins
 IDL = Intermediary density lipoproteins
 LCAT = Lécithine-cholestérol-acyl-transférase
 LDH = Lactico-déshydrogénase
 LDL = Low density lipoproteins
 LPL = Lipoprotéine-lipase
 LT = Lipides totaux
 MDH = Malate-déshydrogénase
 NAD = Nicotinamide-adénine-di-nucléotide
 NADH = Nicotinamide-adénine-di-nucléotide réduit
 TG = Triglycérides
 VLDL = Very low density lipoproteins.

CORRESPONDANCES ENTRE ANCIENNES ET NOUVELLES UNITES

CHOLESTEROL (masse molaire = 387)	$g \times 2,58 = \text{mmol/l}$	$\text{mmol/l} \times 0,387 = g$
PHOSPHOLIPIDES (masse molaire moyenne = 774)	$g \times 1,29 = \text{mmol/l}$	$\text{mmol/l} \times 0,774 = g$
TRIGLYCERIDES (masse molaire moyenne = 875)	$g \times 1,14 = \text{mmol/l}$	$\text{mmol/l} \times 0,875 = g$

CE TRAVAIL EST DEDIE

A MON FILS : BADARA ALIOU DIALLO

Pour qui j'ai consenti tant d'efforts pour lui assurer un avenir radieux ; qui a su se montrer patient, compréhensif et attentif à mon endroit pendant ses 5 années où j'étais partagée entre l'amour et le devoir.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A qui le destin n'a pas permis sa présence aujourd'hui.

A MA MERE

Amour filial

A MON MARI

Qui m'a assisté durant ces études supérieures. Sa patience et sa persévérance à un moment grave de notre vie familiale nous ont beaucoup aidé.

A MON FILS ALIOU

Qui au bout de ses cinq ans, a accepté de se voir privé de notre affection et de notre disponibilité et su, à sa manière, participer à notre travail.

A MON FRERE GORO

Qui m'a beaucoup aidé durant mes études, qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

A MES SOEURS KADIATOU ET FANTA

Q'elles trouvent ici l'expression de mon sentiment de gratitude pour l'attention qu'elles m'ont accordée durant mes études.

A TOUS MES FRERES ET SOEURS ET AUTRES PARENTS

Fraternelle considération.

AUX VIEUX THORA KEITA ET SA FEMME ASSETOU

Rien ne saurait exprimer ma reconnaissance pour le soutien qu'ils m'ont généreusement prodigué. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

A TOUTE MA FAMILLE

A MA BELLE FAMILLE

A MES AMIS (ES)

A NOTRE PRESIDENT DU JURY
MONSIEUR LE PROFESSEUR J. JOSSELIN

Il nous a fait le très grand honneur de présider notre jury de thèse. Son accueil a toujours été à notre égard empreint de chaleur. Qu'il trouve ici le témoignage de notre gratitude et l'expression de notre profond respect.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MIRANDA

L'amitié qu'il nous a donnée, ses conseils éclairés ont été un soutien constant dans notre travail. Il nous a accueilli dans son laboratoire, a déployé tous ses efforts pour bien mener ce travail. Sa rigueur et ses critiques toujours constructives sont pour nous un modèle que nous nous efforcerons de suivre. Nous sommes touchés qu'il accepte de juger ce travail.

A MONSIEUR K. TOURE

Nous sommes tout particulièrement sensibles à l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger ce travail. Nous lui exprimons l'hommage de notre profond respect.

A MONSIEUR A.K. KOUMARE

Qu'il soit vivement remercié de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger ce travail.

A NOTRE DOYEN, LE PROFESSEUR ALIOU BA,
DIRECTEUR GENERAL DE L'ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET
DE PHARMACIE

Nos sincères remerciements pour notre bonne formation.

AU CORPS PROFESSORAL DE L'E.N.M.P.

AU PERSONNEL DE L'E.N.M.P.

A TOUT LE PERSONNEL DU LABORATOIRE DE
BIOCHIMIE DE L'HOPITAL NORD ET DE LA FACULTE DE MEDECINE
NORD

Ce séjour reste parmi nos meilleurs souvenirs

A TOUS CEUX QUI ONT PARTICIPE A LA REALISATION
DE CE TRAVAIL

A MONSIEUR J.P. ROSSO

Qui a guidé nos premiers pas et nous a soutenu durant ce travail. Qu'il en soit remercié et trouve ici l'expression de notre profond respect.

A MONSIEUR C. GRANIER

Qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude.

AUX ETUDIANTS DE NOTRE PROMOTION

Courage

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

ANNEE ACADEMIQUE 1979 - 1980

Professeur Aliou BA	: Directeur Général
Professeur Bocar SALL	: Directeur Général Adjoint
Monsieur Godefroy COULIBALY	: Secrétaire Général
Professeur Philippe RANQUE	: Conseiller Technique

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur Bernard BLANC	: Gynécologie-Obstétrique
Professeur Sadio SYLLA	: Anatomie-Dissection
Professeur André MAZER	: Physiologie
Professeur Jean-Pierre BISSET	: Biophysique
Professeur François MIRANDA	: Biochimie
Professeur Michel QUILICI	: Immunologie
Professeur Humbert GIONO-BARBER	: Pharmacodynamie
Professeur Jacques JOSSELIN	: Biochimie
Professeur Oumar SYLLA	: Chimie organique
Professeur GRAS	: Toxicologie-Hydrologie
Docteur Bernard LANDRIEU	: Biochimie
Docteur J.P. REYNIER	: Pharmacie Galénique
Docteur Mme P. GIONO-BARBER	: Anatomie-Physiologie Humaines
Docteur Mme Thérèse FARES	: Anatomie-Physiologie Humaines
Docteur Emile LOREAL	: O.R.L.
Docteur Jean DELMONT	: Santé Publique

PROFESSEURS TITULAIRES RESIDANT A BAMAKO

Professeur Aliou BA	: Ophtalmologie
Professeur Bocar SALL	: Orthopédie-Traumatologie-Anatomie
Professeur Mamadou DEMBELE	: Chirurgie Générale
Professeur Mohamed TOURE	: Pédiatrie
Professeur Souleymane SANGARE	: Pneumo-phtisiologie
Professeur Mamadou KOUMARE	: Pharmacologie-Matières médicales
Professeur P. SAINT-ANDRE	: Dermatologie-Vénérologie-Léprologie
Professeur Philippe RANQUE	: Parasitologie-Zoologie
Professeur Bernard DUFLO	: Pathologie Médicale-Thérapeutique

ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Aly GUINDO	: Sémiologie Digestive
Docteur Abdoulaye AG-RHALY	: Sémiologie Rénale
Docteur Sory KEITA	: Microbiologie
Docteur Yaya FOFANA	: Microbiologie
Docteur Moctar DIOP	: Sémiologie chirurgicale
Docteur Balla COULIBALY	: Pédiatrie - Médecine du Travail
Docteur Bénétiéni FOFANA	: Obstétrique
Docteur Mamadou Lamine TRAORE	: Gynécologie-Obstétrique-Méd.légale
Docteur Boubacar CISSE	: Dermatologie
Docteur Yacouba COULIBALY	: Stomatologie
Docteur Sidi Yaya SIMAGA	: Santé Publique
Docteur Sanoussi KONATE	: Santé Publique
Docteur Issa TRAORE	: Radiologie
Docteur Mamadou Kouréïssi TOURE	: Sémiologie Cardio-Vasculaire
Docteur Siné BAYO	: Histologie-Embryologie-Anapathologie
Madame KEITA (Oulématou) BA	: Biologie Animale
Madame DIABY	: Santé Familiale
Monsieur Cheick Tidiani TANDIA	: Hygiène du Milieu

CHARGES DE COURS

Docteur L. AVRAMOY	: Psychiatrie
Docteur Christian DULAT	: Microbiologie
Docteur Patrick DEFONTAINE	: Physiologie-Anesthésie-Réanimation
Docteur Marie-Colette DEFONTAINE	: Gynécologie-Hématologie
Docteur Isack Mamby TOURE	: Microbiologie
Docteur Gérard TRUSCHEL	: Anatomie-Traumatologie-Sémio.Chir.
Docteur Henri DUCAM	: Pathologie Cardiovasculaire
Docteur Boukassoum HAIDARA	: Galénique-Chimie organique
Docteur Elizabeth ASTORQUIZA	: Epidémiologie
Docteur Hamady Modi DIALLO	: Chimie analytique
Docteur Brigitte DUFLO	: Sémiologie digestive
Professeur Tiémoko MALLET	: Mathématiques
Professeur Alévé GUINDO	: Mathématiques
Professeur Amadou Baba DIALLO	: Physique
Professeur N'Golo DIARRA	: Botanique-Cryptogamie-Biologie Végét.
Professeur Ibrahima TOURE	: Physique
Professeur Lassana KEITA	: Physique
Professeur Souleymane TRAORE	: Physiologie générale
Professeur Daouda DIALLO	: Chimie Générale - Minérale

AVANT - PROPOS

=====

Pendant de nombreuses années, le risque athérogène a été évalué en termes de valeurs du cholestérol plasmatique.

Plus récemment, l'entité lipidique considérée a été la forme de transport du cholestérol, c'est-à-dire les lipoprotéines plasmatiques. Celles-ci ont été répertoriées, d'après une méthode de référence : l'ultracentrifugation, en fractions très légères (VLDL), légères (LDL) et lourdes (HDL). Cette technique très précise présentait l'inconvénient d'être extrêmement onéreuse, longue et minutieuse, ce qui limite considérablement son utilisation hospitalière.

Par contre, l'électrophorèse de zone des lipoprotéines est très facile à mettre en oeuvre et, en conséquence, a été adoptée comme un procédé de routine. C'est avec le papier comme support qu'elle a été introduite parmi les critères de différenciation des hyperlipoprotéïnémies selon FREDRICKSON. Classiquement, on associait les fractions obtenues par les deux méthodes en faisant correspondre aux VLDL les pré- β -lipoprotéines, aux LDL les β -lipoprotéines et aux HDL les α -lipoprotéines.

Toutefois, ces notions restaient purement structurales. La connaissance, actuellement en plein développement, du métabolisme de ces complexes permettait de leur attribuer progressivement des fonctions physiologiques précises, certains d'entre eux étant chargés du transport du cholestérol du foie vers les tissus (pouvoir athérogène) tandis que d'autres ramènent le cholestérol vers le foie où il est catabolisé (rôle protecteur).

L'analyse poussée des constituants protéiques de ces différents complexes a montré que l'apoprotéine A se rencontre dans les lipoprotéines à rôle protecteur, tandis que l'apoprotéine B faisait partie de toutes les associations lipo-protéiques pouvant entraîner un risque athérogène lorsqu'elles circulent en trop grande quantité. Cette distinction entre les complexes à apoprotéine A et apoprotéine B est donc plus rigoureuse vis-à-vis des implications cliniques que les discriminations établies sur les critères analytiques antérieurs : c'est ainsi que la lipoprotéine Lp(a) qui se comporte, en ultra-centrifugation, comme une HDL, donc comme une fraction considérée jusqu'ici comme jouant un rôle protecteur, apparaît, par son métabolisme, comme pouvant exercer une influence athérogène : or, elle contient parmi ses apoprotéines de l'apoprotéine B, comme les autres complexes athérogènes faisant partie des LDL et des VLDL ; par contre, les autres complexes du groupe HDL qui ont une réelle fonction protectrice comportent tous dans leur structure l'apo-protéine A.

Nous nous sommes proposés dans ce travail de développer à la fois des aspects bibliographiques et expérimentaux.

En préambule, nous avons traité en Introduction, d'une part, le problème de l'athérosclérose et de la plaque d'athérome; d'autre part, celui de l'infarctus du myocarde avec l'aide que les dosages enzymatiques apportent au diagnostic et à l'évolution.

La partie bibliographique proprement dite est ensuite consacrée, tout d'abord, au bilan lipidique classique, puis à la connaissance des lipo-protéines, et enfin, à la classification des hyperlipoprotéïnémies.

La partie expérimentale commence par un regroupement de données obtenues par les méthodes appliquées en routine au Laboratoire de Chimie Biologique de L'Hôpital-Nord de Marseille. Elle se poursuit par la description des techniques modernes que nous y avons introduites.

En conclusion, nous comparons ces divers procédés et nous recommandons l'un d'entre eux pour son intérêt clinique et la simplicité de sa mise en oeuvre.

. o O o .

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



I N T R O D U C T I O N

1.1. ATHÉROSCLÉROSE ET PLAQUE D'ATHÉROME

1.1.1. DÉFINITION DE L'ATHÉROSCLÉROSE

La définition actuelle de l'athérosclérose admise par la majorité des auteurs reste celle proposée par les experts de l'O.M.S. en 1957, c'est-à-dire :
 "Association variable de remaniements de l'intima des grosses et moyennes artères, consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux, et de dépôts calcaires, le tout accompagné de modifications de la media".

Ce terme n'est pas synonyme du terme d'artériosclérose (variété de sclérose artérielle qui prédomine sur les fibres musculaires de la tunique moyenne - dégénérescence hyaline et épaissement - et s'étend aussi à la tunique interne. Elle siège surtout sur les artères musculaires et les artères rénales - néphro-angiosclérose), mais pratiquement indissociable de celui d'athérome où, en principe, l'infiltration lipidique de l'intima est pure ou largement prédominante.

D'après l'Encyclopédie Médico-Chirurgicale, "l'athérosclérose est une maladie de l'intima des grosses et moyennes artères, caractérisée par la combinaison de deux lésions macroscopiques fondamentales : la plaque athéromateuse constituée de dépôts lipidiques et l'épaississement fibreux" (LENEGRE).

1.1.2. ÉTIOPATHOGÉNIE DE L'ATHÉROSCLÉROSE

1.1.2.1. DISTRIBUTION

Les lésions sont assez identiques dans les divers pays et pour les différentes races. L'homme est plus souvent frappé que la femme à l'âge moyen de la vie. La différence entre les deux sexes s'atténue après la ménopause et disparaît après la huitième décennie. Sont plus précocement frappées les femmes ayant des caractères de différenciation masculine d'un haut degré et qui ont subi une castration précoce.

Dans les pays industrialisés, l'athérosclérose est une des principales causes de mortalité. En France, en 1978, il y a eu 202.564 décès (37,1 %) par athérosclérose (enquête

annuelle de l'I.N.S.E.R.M.). En comparaison, durant la même année, le cancer a été responsable de 125.743 décès (23 %).

Dans les pays occidentaux, on observe surtout des complications coronariennes; celles-ci sont rares chez le Noir africain et le Japonais dont les lésions affectent surtout les artères cérébrales.

1.1.2.2. PRINCIPAUX FACTEURS DE RISQUE

1.1.2.2.1. Facteurs métaboliques

- Hypercholestérolémie avec ses formes familiales
- Obésité
- Hyperuricémie

Les deux derniers facteurs invoqués sont redoutables lorsqu'ils s'associent à l'hypercholestérolémie ou à l'hypertension artérielle.

- Diabète.

On peut rapprocher de ces facteurs métaboliques les modifications de la coagulabilité sanguine et les perturbations de l'agrégation plaquettaire.

1.1.2.2.2. Mode de vie

- Tabagisme avec inhalation de fumée
- Usage abusif de thé, café, alcool
- Sédentarité
- Agressions psycho-affectives : conflits socio-professionnels et familiaux, responsabilités mal assumées, obsessions, stress psycho-affectifs.

1.1.2.2.3. Facteurs constitutionnels

- L'homme est plus exposé que la femme en période d'activité génitale.
- Le "biotype androïde" favorise l'apparition des artériopathies chroniques oblitérantes des membres inférieurs (JOUVE).
- L'hérédité a un rôle indirect dans la majorité des cas : il s'agit d'une hérédité de terrain névrotique à dominante obsessionnelle ou d'une hérédité métabolique (diabète, hypertension).
- La sénescence : les lésions de l'athérosclérose apparaissent la plupart du temps comme une maladie liée au vieillissement

de l'organisme. On ne peut pas actuellement considérer la sénescence seule comme un facteur déterminant du processus athéroscléreux évolutif.

- L'hypertension artérielle, risque coronaire important.

1.1.3. ANATOMOPATHOLOGIE

1.1.3.1. STRUCTURE DE LA PAROI ARTERIELLE NORMALE

1.1.3.1.1. Description

A l'état normal, la paroi de l'artère est constituée de trois couches distinctes qui sont :

- l'intima, tunique la plus profonde, très mince, tapissée de cellules endothéliales;
- la média, couche moyenne, épaisse, constituée de fibres musculaires lisses;
- l'adventice, tunique externe, tissus de soutien riche en collagène.

1.1.3.1.2. Schéma

Voir page suivante.

1.1.3.2. STRUCTURE ARTERIELLE PATHOLOGIQUE

1.1.3.2.1. Lésions initiales de l'athérosclérose

1.1.3.2.1.1. La strie lipidique ou plaque lipidique

Des "stries" jaunes de cholestérol sont visibles le long de la paroi interne de l'aorte dès l'enfance. Elles sont normales dans l'athérosclérose; elles sont liées à l'accumulation, sous l'endothélium, des lipophages (cellules spumeuses) tassés les uns contre les autres. Les stries sont à peine saillantes et de couleur "jaune beurre", à contours flous, mesurant de qq mm à 2 cm et allongées dans le sens du vaisseau. En confluant, les stries graisseuses s'anastomosent irrégulièrement pour donner des aspects réticulés, plus saillants, où l'infiltration lipophagique est associée à une fibrose de l'intima et à la fragmentation des fibres élastiques des couches les plus internes de la média. Dès ce stade, l'affection manifeste donc une tendance "extensive" vers la mésartère.

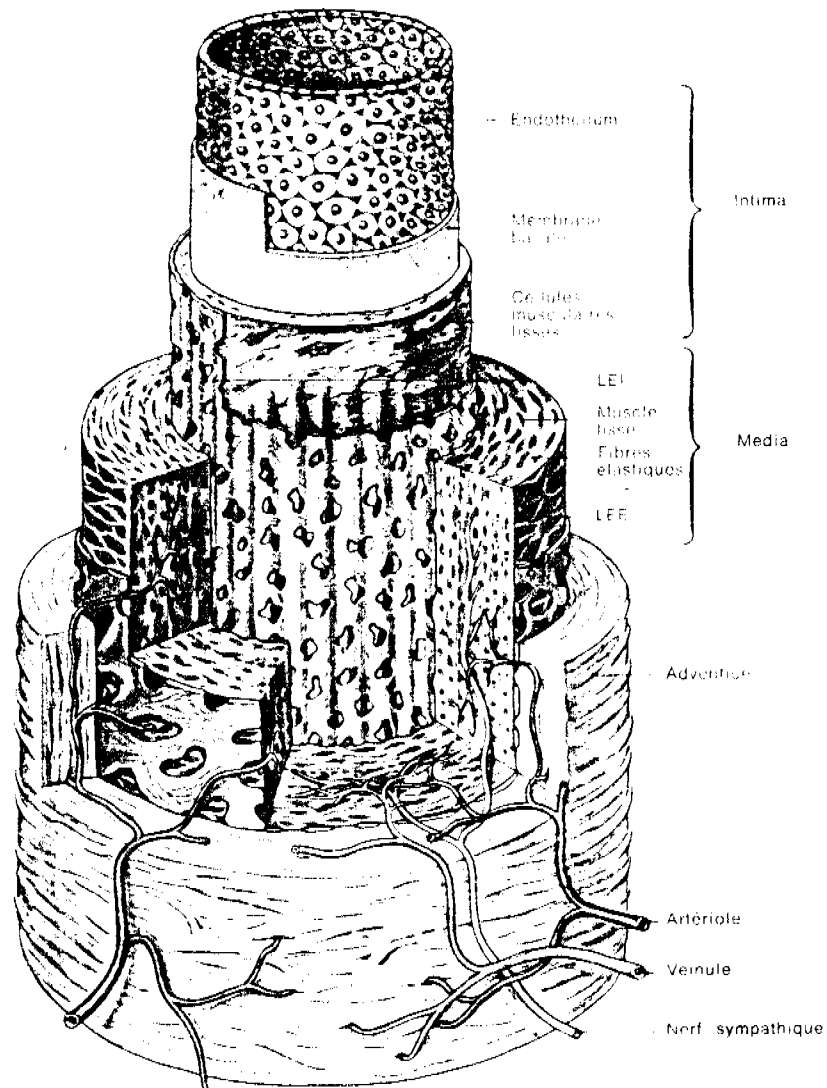


Figure 1 - Structure d'une artère normale de gros calibre.

LEI : limitante élastique interne.
LEE : limitante élastique externe.

1.1.3.2.1.2. La plaque fibreuse

ou dégénérescence myxoïde en foyers, caractérisée par l'apparition, sous l'endothélium, d'une substance anhiste et translucide, épaississant l'intima. L'infiltration myxoïde est plus dense. Secondairement apparaissent quelques lipophages entre l'endothélium et les plaques myxoïdes.

Toutefois, les études statistiques montrent que les lésions initiales de l'athérosclérose sont capables de régresser. L'athérosclérose para-physiologique est partiellement réversible. Par contre, dans les lésions ultérieures dites de l'athérosclérose-maladie, les altérations pariétales sont irréversibles et évolutives.

1.1.3.2.2. Lésions constituées

1.1.3.2.2.1. La pustule athéromateuse

Lenticulaire, lisse et brillante, de couleur jaunâtre ou blanchâtre, elle mesure environ un demi centimètre de diamètre et à peine deux millimètres d'épaisseur. Elle correspond à une flaque lipoprotéique bordée de quelques lipophages et autour de laquelle s'est développée une fibrose plus ou moins dense, disposée en une couche superficielle, sous-endothéliale, et une couche profonde qui la sépare de la média sous-jacente et a tendance à envahir la partie superficielle de cette dernière.

1.1.3.2.2.2. La plaque d'athérome

C'est l'aspect lésionnel le plus caractéristique : opaque et chondroïde; elle est épaisse (deux à quatre millimètres) et son diamètre atteint un à trois centimètres. L'infiltration lipoprotéique prend l'aspect d'une nécrose grumeleuse, éosinophile, riche en cristaux de cholestérides lancéolés, dont le nombre paraît augmenter avec l'ancienneté de la lésion. La sclérose forme une couche épaisse et hyaline, entre la nécrose et l'endothélium; en profondeur, elle infiltre nettement la média.

Avec le temps, pustules et plaques athéromateuses se multiplient et entrent en coalescence sur de larges segments aortiques; la sclérose gagne en étendue, dépassant les limites des plaques, et diffusent dans la mésartère; la surface du vaisseau, profondément déformée et tourmentée, prend un aspect "pavé" caractéristique; c'est à ce stade déjà évolué que certains auteurs réservent le terme d'athérosclérose constituée.

résulte : L'Athérosclérose, véritable maladie artérielle,

- de la multiplication, puis de la coalescence des plaques d'athérome
- du développement d'une sclérose "exubérante" qui gagne également en profondeur, dissociant les couches internes de la média.

1.1.3.2.2.3. Evolution, complications

- La calcification

Elle est extrêmement fréquente. Précocement apparaissent des dépôts poussiéreux qui s'étendent et finissent par transformer certaines plaques en de véritables écailles pierreuses. La confluence de ces dernières dans l'aorte abdominale et la bifurcation réduisent la paroi artérielle en un tube rigide et inextensible.

- L'ulcération

Habituellement sur les athéromes aortiques évolués, elle est fissuraire et marginale sur les plaques calcifiées, centrale sur les plaques non calcifiées. Les ulcérations centrales apparaissent dans la partie ombiliquée des plaques riches en bouillie lipido-protidique et qui ne sont recouvertes que d'une mince pellicule scléreuse. Les bords déchiquetés sont très irréguliers et le fond grumeleux et jaune est parsemé de thrombus (bourbillon athéromateux).

- Les thromboses

Elles sont généralement pariétales dans l'aorte, contrairement aux petites artères. Les thrombus se forment sur les plaques ulcérées; ils sont marginaux ou centraux, d'abord fibrino-plaquettaire, puis hyalins. Ils se stratifient progressivement et peuvent, dans quelques cas évolués, sténoser ou oblitérer l'aorte inférieure. Le passage de fibrine à travers l'intima lésée, la survenue de petites hémorragies de capillaires néoformés, sont responsables des coagulations murales (thromboses intrapariétales au cours de l'athérosclérose aortique) qui participent à la constitution complexe de la bouillie athéromateuse. Par contre, l'athérosclérose aortique est rarement sténosante; elle représente l'une des principales étiologies des anévrysmes aortiques acquis. Elle est quelquefois cause d'embolies cholestériniques ou athéromateuses. Dans certains cas, les hémorragies intrapariétales prennent le caractère d'un véritable hématome mural capable, lorsqu'il existe des lésions associées de médianécrose, de cliver l'aorte ou de provoquer sa rupture.

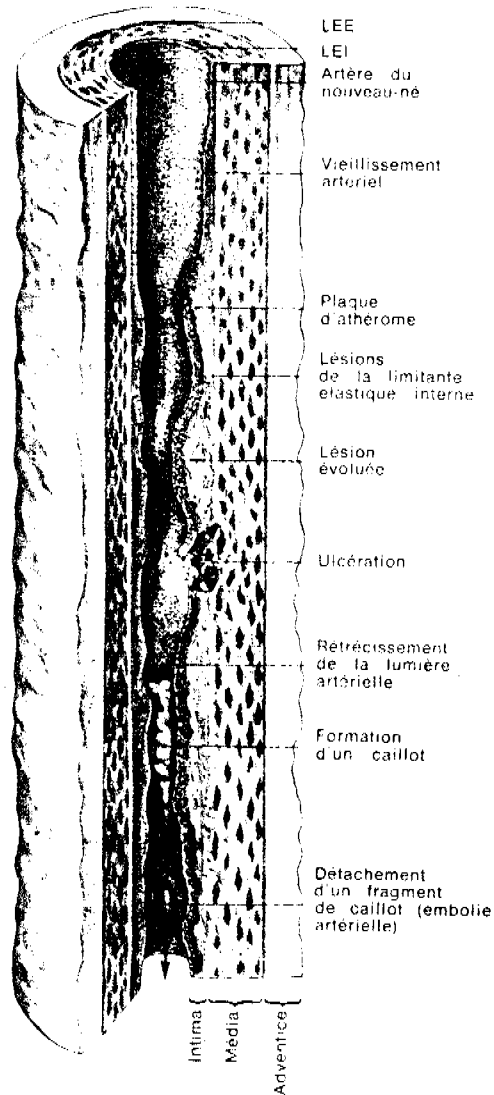


Figure 2 - Schématisation du développement progressif de l'athérosclérose au cours de la vie.

LEI : limitante élastique interne.
LEE : limitante élastique externe.

1.1.3.3. TOPOGRAPHIE DES LESIONS

Les localisations périphériques de l'athérosclérose (artères viscérales, membres) présentent des particularités communes expliquant leur retentissement anatomo-fonctionnel fréquent et faisant, en fait, toute la gravité clinique de la maladie athéromateuse.

Localisations segmentaires des lésions : d'une façon générale, les altérations prédominent sur les collatérales aortiques ou leurs grosses branches de division, alors que les ramifications intraviscérales sont épargnées. De plus, sur un fond lésionnel assez diffus, mais discret ou modéré, les plaques évoluées sont localisées au niveau des modifications de trajet; coudures, origine des branches. Quelques exemples d'observation courante sont très suggestifs à ce sujet.

- Grosses branches de la crosse aortique

Leur sténose par thrombose athéromateuse est la cause la plus fréquente du "syndrome de la crosse aortique" (syndrome de MARTORELL).

- Carotides internes des artères cérébrales

La fréquence est la même chez l'homme et chez la femme. Les carotides internes et le tronc basilaire sont touchés à leur origine. Sur la carotide interne, la plaque est souvent très limitée en hauteur, saillante dans la lumière et calcifiée. La calcification est rare sur les artères cérébrales. Les lésions sont réparties sur l'arbre artériel cervical et le polygone de Willis.

- Coronaires

Le processus morbide atteint plus spécialement l'homme, dans la partie proximale des trois troncs principaux, dont les premiers centimètres sont parfois visibles sur l'épicarde, sous forme de cordons blanchâtres ou jaunâtres, rectilignes ou sinueux, indurés et rigides. Dans certains cas, l'atteinte est beaucoup plus localisée, ostiale. 40 % des sténoses coronariennes ostiales sont d'origine athéromateuse.

- Artères mésentériques

La lésion est presque toujours constituée par une plaque fibrolipidique siégeant à l'origine de la mésentérique supérieure et réalisant une véritable sténose ostiale, ou une lésion un peu plus étendue sur le tronc, mais dépassant exceptionnellement les deux premiers centimètres; sur les branches distales, elle peut former de petites plaques localisées aux bifurcations.

Les statistiques nécropsiques démontrent la fréquence de l'athérosclérose mésentérique supérieure (37 % des cas).

Cette fréquence croît avec l'âge. L'artère mésentérique inférieure est lésée, avec une très nette prédominance des sténoses strictement ostiales. On peut rapprocher l'atteinte du tronc coeliaque des précédentes. La sténose, segmentaire et proximale, existerait dans plus de 40 % des cas nécropsiques.

- Artères rénales et spléniques

Dans les premières, l'atteinte prédomine sur les grosses branches, au voisinage de l'origine aortique, alors que les ramifications intrarénales sont simplement scléreuses. Inversement, l'artère splénique est fortement altérée, dure et sinieuse, riche en plaques souvent calcifiées.

- Artères des membres

Les localisations aux membres supérieurs sont exceptionnelles; sur les membres inférieurs, les axes artériels principaux sont électivement touchés sur les segments répondant à de véritables "zones sensibles", exposées aux traumatismes hémodynamiques : bifurcations aortiques et iliaques, fémorale inférieure et poplitée haute, pincées, ou pliées au cours des flexions du genou; crosse de la tibiale antérieure, enjambant le ligament interosseux.

- Artères pulmonaires

Elles représentent un cas particulier : l'athéromatose pulmonaire survient presque exclusivement en cas d'hypertension dans le domaine de la petite circulation, au cours des insuffisances respiratoires chroniques ou du rétrécissement mitral. Les plaques sont isolées ou peu nombreuses et disséminées, légèrement saillantes, exceptionnellement ulcérées ou calcifiées.

1.1.4. ÉVOLUTION GÉNÉRALE DE L'ATHÉROSCLÉROSE

Affection de très long cours, l'athérosclérose demeure silencieuse pendant de nombreuses années, voire des décennies.

Après une période de latence souvent longue, apparaissent des complications : symptômes et signes d'ischémie par réduction du calibre des artères, et souvent obstruction thrombotique, embolies, anévrismes. Ce sont eux qui permettent de porter le diagnostic clinique; mais les lésions sont depuis longtemps irréversibles. A ce stade très tardif, les causes de la lésion élémentaire peuvent avoir disparu ou sont intimement mêlées à celles des complications. Avant l'apparition de ces dernières, il n'est guère possible d'affirmer le diagnostic d'athérosclérose par le seul examen clinique.

1.1.5. ASPECTS BIOCHIMIQUES

Les lipides forment l'élément le plus original des constituants de la plaque athéromateuse. Les esters polyéthyléniques du cholestérol dominent très nettement. Le cholestérol libre ne représente guère plus de 30 % du cholestérol total accumulé. La plaque est beaucoup moins riche en phospholipides qu'en esters de cholestérol. Elle est pauvre en triglycérine. Elle contient quelques caroténoïdes.

Les lipides artériels proviennent en grande partie des lipoprotéines circulantes. Dans les lésions qui précèdent les pustules et les plaques athéromateuses, ce sont les phospholipides qui constituent la masse des dépôts lipidiques. Le cholestérol et ses esters apparaissent secondairement, sous forme de gouttelettes. Les lipides ne sont pas seuls présents dans la plaque athéromateuse : on y trouve aussi une forte proportion de mucopolysaccharides et de dépôts fibrineux ou fibrino-hématiques.

1.1.6. PHYSIOPATHOLOGIE

La première manifestation pathologique consiste en une désorganisation des lames élastiques les plus internes de la média, avec migration de cellules musculaires lisses dans l'espace sous-endothélial et évolution de ces éléments vers le type fibrocytaire ou myo-fibrocytaire. Dans l'endothélium, de larges vacuoles à contenu dense apparaissent. Les cellules sont riches en organites, traduisant leur activité. Par contre, leur charge lipidique reste toujours minime. Il en résulte un épaississement conjonctivo-cellulaire de l'intima. Les cellules sous-intimales et de la média adjacente se chargent de gouttelettes lipidiques. La lésion s'enrichit ensuite de fibres de collagène alors que les structures lipidiques régressent partiellement avec apparition de phospholipides. A ces éléments s'ajoutent quelques myocytes et des dépôts de fibrine. Enfin, il y a calcification de la plaque fibrolipidique. Au sein des lésions précédentes se constituent de petits dépôts inorganiques épars en relation avec les éléments conjonctifs, notamment les lames élastiques, puis coalescents en forme de rosettes ou de structures cristallines. Ces cristaux s'accroissent par adjonction de calcium et finissent par calcifier la plaque dans sa totalité. Ces plaques finissent par oblitérer la lumière artérielle, entraînant l'arrêt circulatoire total.

Le territoire sous-jacent à la thrombose est menacé d'ischémie relative (quand le débit artériel s'avère insuffisant) ou, à brève échéance, d'ischémie relative qui aboutit à une gangrène ou à une crise d'angor ou à un infarctus du myocarde entraînant une mort subite.

A tous ces facteurs s'ajoute un spasme artériolaire qui tend à compromettre la circulation de suppléance.

1.2. INFARCTUS DU MYOCARDE - APPORT DES DOSAGES ENZYMATIQUES

1.2.1. DÉFINITION DE L'INFARCTUS DU MYOCARDE

L'infarctus du myocarde, d'après J.P. DELAYE et R. LOIRE, se définit comme "une nécrose ischémique intéressant une part noble de la paroi ventriculaire (en surface, au moins deux centimètres carrés en principe)." On estime qu'en France 40.000 morts lui sont imputables chaque année.

Manifestation clinique aiguë avec douleur, pâleur, hypotension et tachycardie, l'infarctus du myocarde est la conséquence d'un arrêt brutal de la circulation coronaire, entraînant l'absence d'irrigation d'une zone plus ou moins étendue du myocarde.

La nécrose myocardique qui s'ensuit entraîne la lyse cellulaire et la libération dans la circulation générale d'un certain nombre de molécules biologiques contenues dans la cellule. Parmi ces dernières, les enzymes occupent une place de choix.

1.2.2. INTÉRÊT DES ENZYMES

Les enzymes impliqués dans ce diagnostic vont permettre :

- de faire le diagnostic lui-même;
- de dater l'infarctus;
- de préciser l'étendue des lésions;
- d'apprécier les rechutes;
- de déceler les infarctus infra-cliniques et infra-électriques;
- d'évaluer le retentissement sur d'autres organes.

Les quatre enzymes habituellement étudiés sont :

- la transaminase glutamo-oxalo-acétique (GOT)
- la lactico-déshydrogénase (LDH)
- la créatine-phosphokinase (CPK)
- la transaminase glutamique-pyruvique (GPT).

1.2.3. MÉTHODES DE DOSAGE DES ENZYMES ET LEURS ISOENZYMES

Les dosages enzymatiques se font sur appareil automatique Multistat III de IL (Lexington, Mass. USA), micro-analyseur rapide centrifuge. L'appareil est doté d'un calculateur interne, donne directement les concentrations enzymatiques en unités internationales, en suivant également les recommandations de la Société Allemande de Chimie Clinique. On opère toujours à 25°C.

L'unité internationale correspond à la réduction d'une micromole du nicotinamide adénine dinucléotide NAD⁺ (ou à l'oxydation d'une micromole du NAD réduit : NAD H + H¹) par minute à une température donnée.

Pour faire la conversion, on établit le rapport :

$$\frac{\Delta A/\text{min} \times 1\ 000 \times T_f \times V \times 10^3}{6,22 \times 10^3 \times \text{ml de sérum utilisé} \times l}$$

$\Delta A/\text{min}$ = variation de l'absorbance à 340 nm par minute

1 000 = conversion des millilitres en litres

T_f = facteur de correction de la température (à 25°C, $T_f = 1$)

V = volume réactionnel total (ml)

10^3 = conversion des millimoles en micromoles

$6,22 \times 10^3$ = coefficient d'extinction molaire du NADH à 340 nm

l = trajet optique en centimètres.

1.2.3.1. DOSAGE DE LA TRANSAMINASE GLUTAMO-OXALOACETIQUE (GOT)

La GOT se trouve en quantité importante dans les tissus hépatiques et cardiaques.

L'augmentation de l'activité enzymatique est en corrélation avec l'étendue des dégâts cellulaires. Elle se trouve à la fois dans le cytoplasme et les mitochondries, et constitue donc un témoin du degré de la lyse cellulaire.

L'analyse cinétique de la GOT est basée sur l'utilisation de malate déshydrogénase (MDH) et de nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH). On emploie la lactate déshydrogénase (LDH) pour éliminer les traces de pyruvate sérique pendant la première minute après l'addition de sérum.

La GOT catalyse la réaction suivante :

L. asparate + acétoglutarate $\xrightleftharpoons{\text{GOT}}$ glutamate + oxaloacétate.

Par réaction couplée, l'oxalo-acétate est réduit en malate en présence de NADH (qui s'oxyde en NAD) et de déshydrogénése malique MDH :

Oxalo-acétate + NADH + H⁺ $\xrightleftharpoons{\text{MDH}}$ NAD⁺ + malate.

La diminution de la concentration en NAD⁺ est directement proportionnelle à l'activité de la GOT de l'échantillon et se détermine par la mesure à 340 nm de la variation d'extinction par minute.

<u>Substrat</u>	<u>Conditions d'optimisation allemande</u>	
Tampon phosphate	pH=7,4	80 mmol/l ou 80 mM
L-asparate		200 mM
α-cétoglutarate		12 mM
NADH		0,18 mM
Malate déshydrogénése		0,6 U/ml
Lactate déshydrogénése		1,2 U/ml.

1.2.3.2. DOSAGE DE LA TRANSAMINASE GLUTAMIQUE-PYRUVIQUE SÉRIQUE - GPT

La GPT est essentiellement présente dans des tissus hépatiques et rénaux. On pourrait donc la considérer comme sans intérêt dans le diagnostic de l'infarctus du myocarde.

Cependant, le dosage sérique de la GPT a une double valeur :

- faire la différence entre une atteinte hépatique et cardiaque aiguë,
- évaluer le degré de retentissement hépatique d'une stase transitoire ou d'une insuffisance cardiaque secondaire à un infarctus du myocarde sévère.

L'augmentation de la concentration de la lactodéshydrogénése (LDH) permet l'élimination du pyruvate sérique endogène dans la première minute suivant l'addition du sérum.

L-alanine + ceto-glutamate $\xrightleftharpoons{\text{GPT}}$ pyruvate + L-glutamate

Pyruvate + NADH + H⁺ $\xrightleftharpoons{\text{LDH}}$ L-lactate + NAD⁺

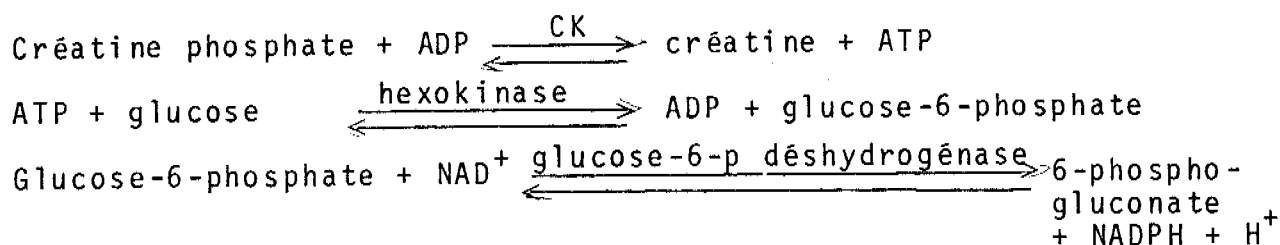
La GPT est dosée comme dans le cas de la GOT.

<u>Substrat</u>	<u>Conditions d'optimisation</u>	
Tampon phosphate	pH=7,4	80 mM
Alanine		800 mM
α-céto-glutamate		,18 mM
NADH		0,18 mM
Lactate déshydrogénase		1,2 U/ml.

1.2.3.3. DOSAGE DE LA CREATINE KINASE (CK) ET DE SES ISO-ENZYMES

La CK est essentiellement localisée dans les muscles squelettiques, le myocarde et le cerveau.

L'utilisation de glucose-6-phosphate déshydrogénase provenant de source bactérienne permet d'utiliser le nicotinamide adénine dinucléotide NAD au lieu de NADP.



Le NADH produit dans la réaction finale est proportionnel à la créatine produite dans la réaction initiale. Donc, l'augmentation du NADH est directement proportionnelle à l'activité de la CK de l'échantillon.

<u>Substrat</u>	<u>Conditions d'optimisation</u>	
Tampon triéthanolamine	pH=7,0	100 mM
Créatine phosphate		35 mM
ADP		1 mM
Glutathion réduit		9 mM
Acétate de magnésium		10 mM
Glucose		20 mM
NADP		0,6 mM
AMP		10 mM
Hexokinase		1,2 U/ml
Glucose-6-phosphate déshydrogénase		1,2 U/ml.

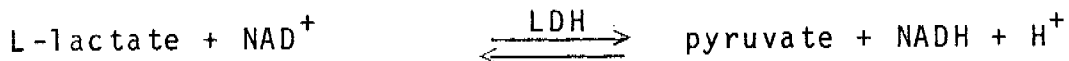
Il y a trois types d'isoenzymes séparables par électrophorèse. Ces enzymes résultent de l'association de deux variétés moléculaires protéiniques, les monomères B (Brain) et M (Muscle). L'isoenzyme BB migre rapidement vers l'anode; il se trouve dans le cerveau. L'isoenzyme MM reste vers la cathode;

il est surtout largement représenté dans les muscles squelettiques. L'isoenzyme hybride MB a une vitesse de migration intermédiaire entre les deux précédents; il est surtout localisé dans le myocarde.

1.2.3.4. DOSAGE DE LA LACTATE DESHYDROGENASE (LDH) ET DE SES ISOENZYMES

L'activité de la LDH globale est largement répartie dans le coeur, le foie, les muscles squelettiques et les cellules sanguines. La spécificité de sa mesure est donc inférieure à celle du dosage des autres systèmes enzymatiques étudiés.

La lactate déshydrogénase catalyse la conversion de lactate en pyruvate et de NAD en NADH.



L'activité de la LDH est directement proportionnelle à l'augmentation de la densité optique du NADH à 340 nm.

Pour les conditions d'optimisation, se référer à : WACKER, W.E.C., ULMER, D.D., and VALLEE, B.L. : "Metalloenzymes and Myocardial Infarction", New Eng. J. Med., 225, 449 (1956).

Il existe cinq variétés moléculaires mises en évidence par la séparation électrophorétique et correspondant à l'association en tétramères de 2 types de sous-unités H (Heart) et M (Muscle).

La forme LDH₁H₄ prédomine dans le coeur et représente 50 % de la LDH sérique totale dès le 2ème jour. C'est un signe biologique beaucoup plus significatif que la simple élévation du taux de LDH totale.

La forme LDH₅ M₄ prédomine dans le foie.

D'après WIEME (cité par POLONOVSKI et coll., 1971), les résultats en pourcentage de l'activité LDH totale obtenus après électrophorèse du sérum normal en gel d'agarose seraient:

<u>Fraction</u>	<u>Adulte</u>	<u>Enfant</u>
LDH ₁	22	29
LDH ₂	39	41
LDH ₃	19	24
LDH ₄	11	4
LDH ₅	8	2

1.2.4. DATATION ENZYMATIQUE D'UN INFARCTUS DU MYOCARDE

L'activité de la GOT augmente entre 4 et 6 heures après l'infarctus, atteint son maximum entre 24 et 48 heures, retrouve sa valeur normale au bout de cinq jours, en l'absence de récurrence. Sa durée de demi-vie est de 17 heures.

L'activité de la CPK augmente entre la deuxième et la quatrième heure; elle atteint son maximum vers la 24^{ème} heure; son taux redevient normal vers le troisième jour. La durée de demi-vie est de 15 heures.

Pour la LDH, le taux s'élève vers la douzième heure; la valeur maximale est atteinte vers le troisième jour; l'activité redevient normale vers le quatorzième jour (ce qui permet un diagnostic rétrospectif de nécrose). La durée de demi-vie est de 18 heures.

Le classique schéma horaire est le suivant :

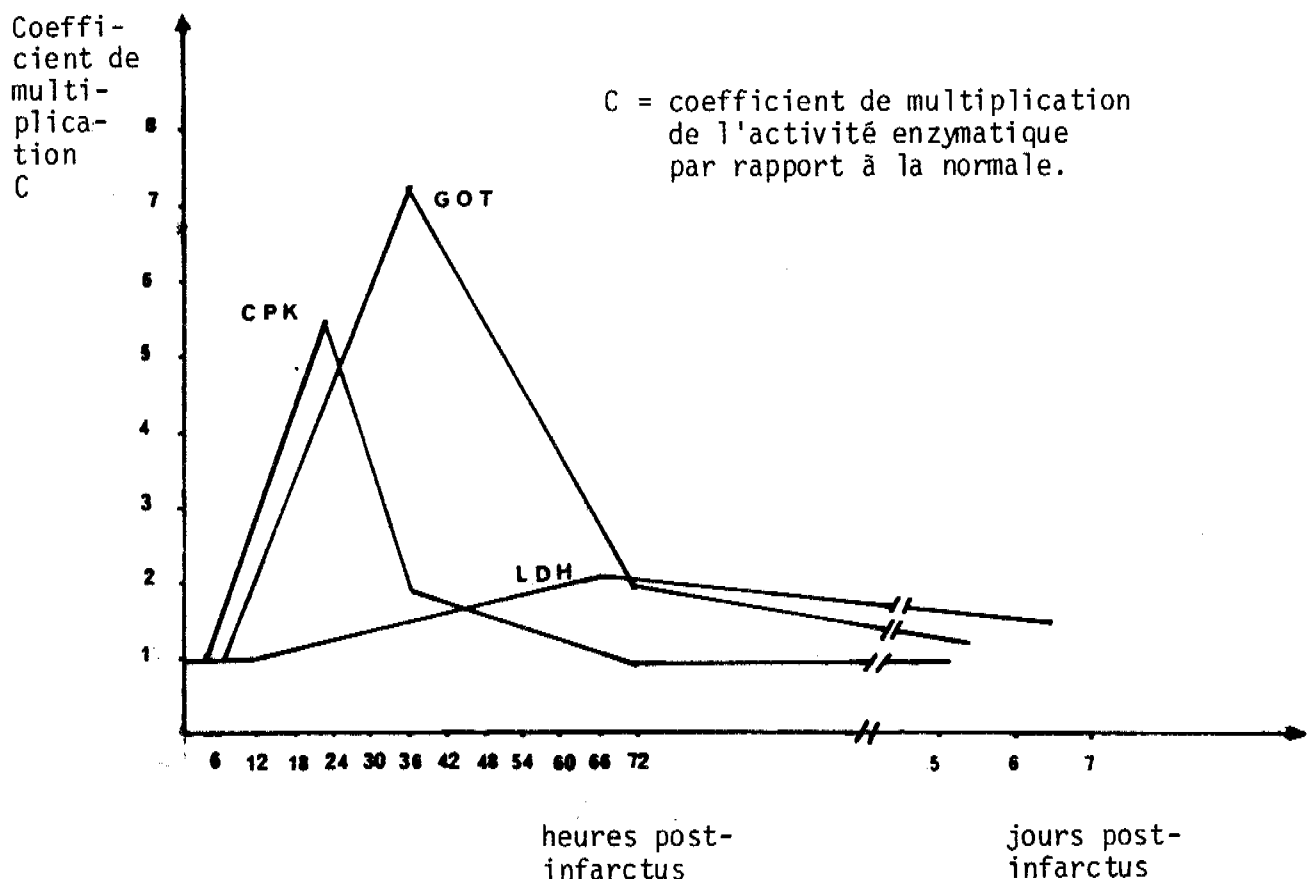


Figure 3
Apparition et durée des anomalies enzymatiques sériques au cours de l'infarctus du myocarde.

1.2.5. VALEURS NORMALES

<u>Enzymes concernées</u>	<u>Valeurs en unités par litre UI/l</u>
GOT	< 20
GPT	< 25
LDH	< 90
CPK	< 50

1.2.6. CONCLUSION

Le rapport LDH1/LDH2 est supérieur à 1 dans le sérum des sujets faisant un infarctus du myocarde.

Les forts pourcentages d'augmentation des activités enzymatiques et la lenteur du retour aux taux normaux sont des indices sérieux de gravité de la lésion.

La quantité d'isoenzyme MB de la CPK est élevée en cas d'infarctus du myocarde et est proportionnelle à la quantité de tissus lésés.

L'intérêt de ces dosages enzymatiques est de mesurer la masse myocardique nécrosée. En dressant la courbe des CPK totales et en déterminant la pente décroissante de cette activité enzymatique dans le sérum, on peut savoir la quantité d'enzymes libérée au départ. Et, compte tenu du pourcentage d'enzymes qui parvient au sérum, on peut en déduire la quantité de tissu nécrosé. La fréquence de l'insuffisance cardiaque gauche s'élève avec la taille de la nécrose ainsi calculée. Les infarctus antérieurs ne sont pas plus étendus que les infarctus postérieurs, mais les appréciations électrocardiographiques restent valables.

Pour permettre le diagnostic différentiel, l'infarctus du myocarde donne dès le début des valeurs de la GOT supérieures à celles de la GPT.

Si, après un infarctus, GPT est supérieur à GOT, on a un signe d'insuffisance cardiaque avec stase hépatique.

Le diagnostic biochimique de l'infarctus du myocarde est donc d'ordre enzymatique et, mieux encore, isoenzymatique. La spécificité de ces molécules, la sensibilité des méthodes de dosage, permettent la détection et la datation de toutes les manifestations cliniques ou infra-cliniques.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

=====

BILAN LIPIDIQUE

Ces dernières années, l'exploration biochimique des lipides et des lipoprotéines a suscité de nombreux travaux. Avec la fréquence et la gravité des accidents cardio-vasculaires liés aux hyperlipoprotéïnémies, l'identification précise du trouble lipidique est indispensable pour leur traitement, qu'il soit diététique ou médicamenteux.

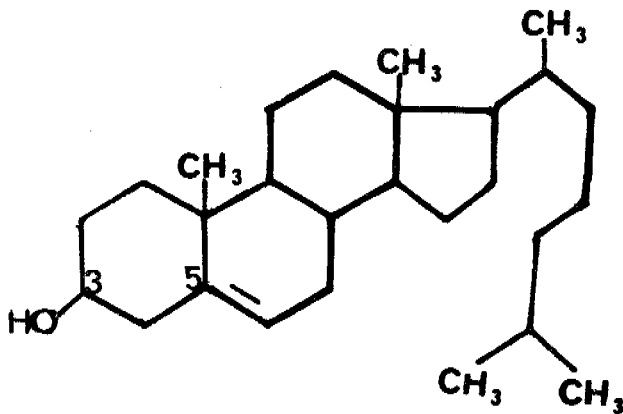
2.1. BILAN LIPIDIQUE CLASSIQUE

Classiquement, le bilan lipidique se fait sur le sérum provenant d'un sujet à jeun depuis 12 heures.

2.1.1. MÉTHODES DE DOSAGE

2.1.1.1. DETERMINATION DU CHOLESTEROL

C'est le 5-cholestérol ou le cholest, 5ène, 3-ol. Le cholestérol est un constituant important des lipoprotéines plasmatiques et peut être dosé par un grand nombre de méthodes.



2.1.1.1.1. Méthodes colorimétriques

2.1.1.1.1.1. Réactions colorées

Elles reposent généralement sur deux réactions : la réaction de Liebermann-Burchard, et celle de Zak.

- Réaction de Liebermann-Burchard

Elle est réalisée sur une solution chloroformique de cholestérol en présence d'anhydride acétique et d'acide acétique. On obtient, après 15 à 20 minutes, une coloration verte qu'on lit à 620 nm. Cette réaction est influencée par le temps de développement de la coloration, la température à laquelle celle-ci évolue et la présence de bilirubine dans le milieu réactionnel. Elle est influencée par le degré d'estérification du cholestérol car les esters de cholestérol fournissent une coloration plus élevée que le cholestérol libre. Plusieurs modifications furent apportées à cette réaction par ajout de réactif stabilisant :

- réaction de Pearson et collaborateurs, basée sur la coloration verte en présence de solution acétique d'acide para-toluène-sulfonique, d'anhydride acétique et d'acide sulfurique;

- réaction de Rappaport et Tickhorn, qui utilise l'acide sulfosalicylique;

- réaction de Watson, qui emploie l'acide diméthyl-benzène-sulfonique;

- réaction de Carpenter et collaborateurs, qui donne une coloration vert fluorescent très sensible, avec une solution de cholestérol dans le trichloréthane en présence d'anhydride acétique.

- Réaction de Zak, Zolatkis et Bayle

Elle donne une coloration rouge dans un milieu à base d'acide acétique (ou d'acide phosphorique), de chlorure ferrique et d'acide sulfurique, coloration qui absorbe à 560 nm. Cette méthode est plus sensible. L'absorbance est identique pour le cholestérol et ses esters. Cependant, elle manque de spécificité car il y a interférence d'autres stérols, de la bilirubine et de nombreux médicaments.

2.1.1.1.1.2. Méthodes de dosage

Les méthodes de dosage colorimétrique seront classées suivant leur complexité.

- Méthodes à 4 temps

Ces quatre temps sont : extraction, saponification, purification, réaction. La purification se fait par

isolement du digitonide (complexe insoluble de la digitonine avec les 3 -stérols ayant leur -OH libre). La réaction colorée est celle de LIEBERMANN. La méthode type est celle de SPERRY et WEBS.

- Méthode à 3 temps

Ces trois temps sont : saponification extraction, réaction. L'isolement du digitonide n'est pas nécessaire car long et souvent délicat. La saponification du cholestérol estérifié se fait avant l'extraction à cause de l'instabilité de la réaction de LIEBERMANN et sa différence de sensibilité pour le cholestérol libre et le cholestérol estérifié. Les méthodes types sont celles d'ANDERSON et KEYS, et celle de TRINDER.

- Méthode à 2 temps

Ces deux temps sont : extraction et réaction. L'extraction est réalisée par divers solvants, selon BLOOR (alcool-éther), LEFFER et GIRARD (isopropanol), PAGET et PIERARD (acétone-alcool-trichloréthylène).

- Méthodes directes

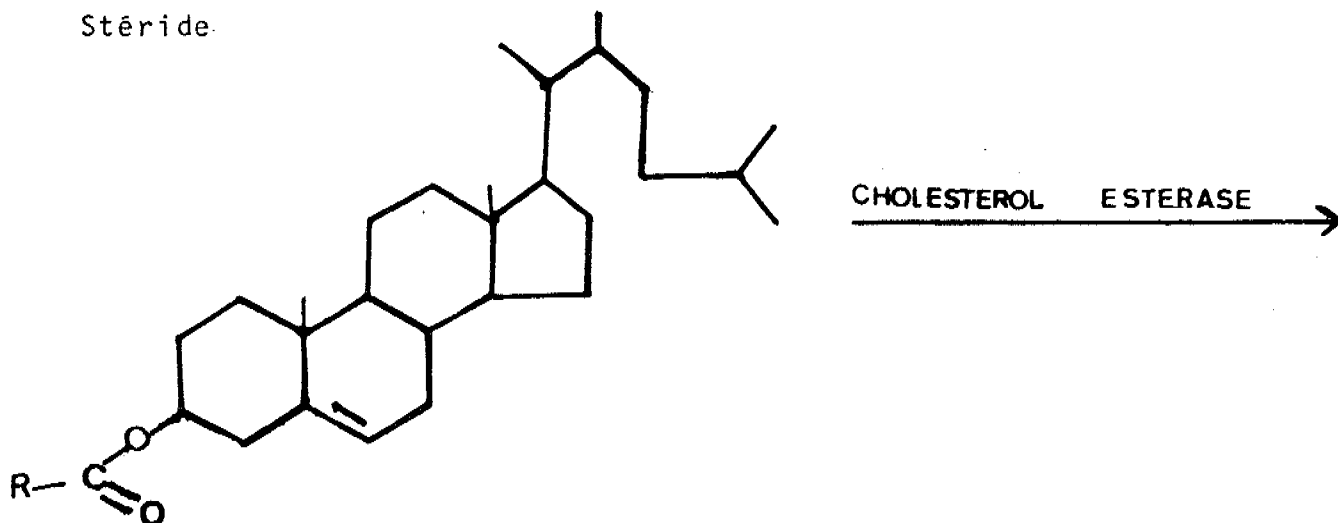
Ce sont des techniques simples, faciles à automatiser, mais souvent entachées d'erreurs.

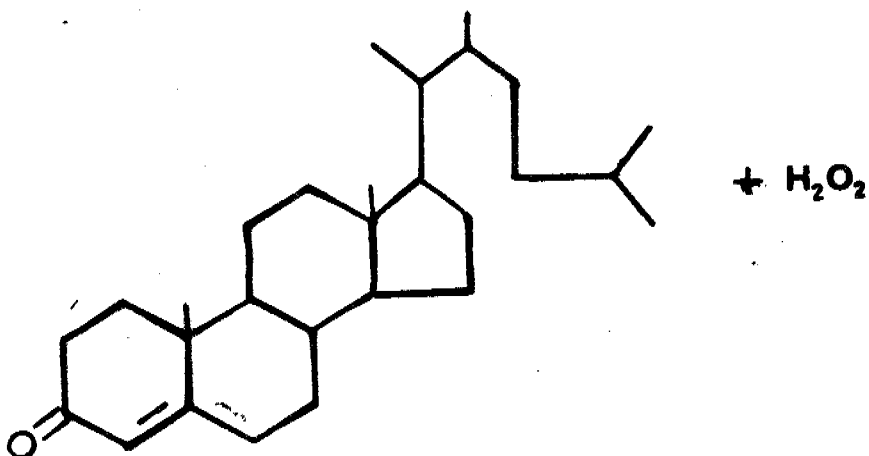
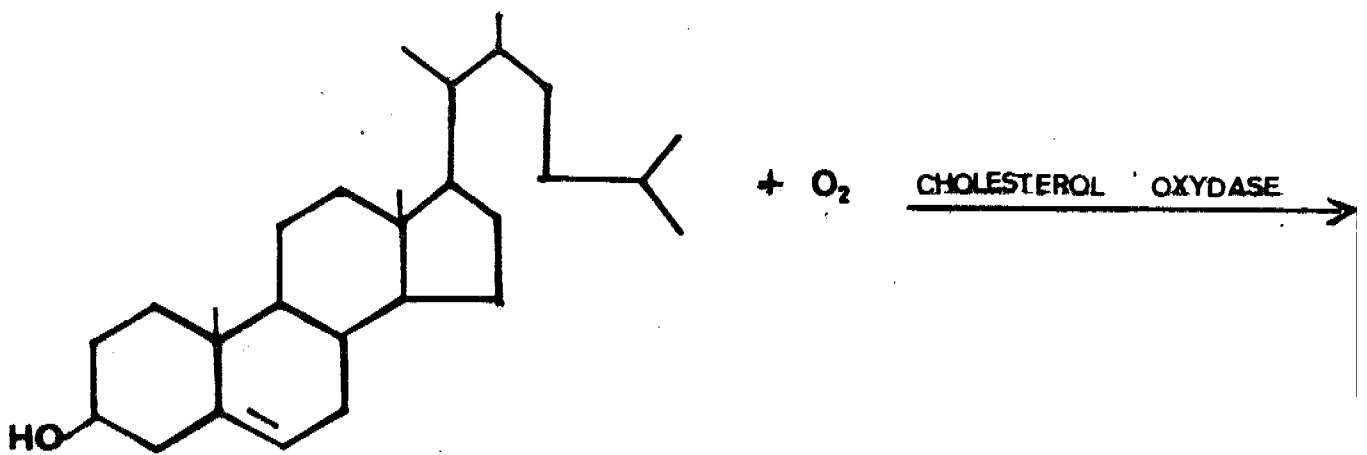
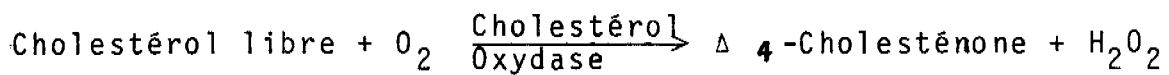
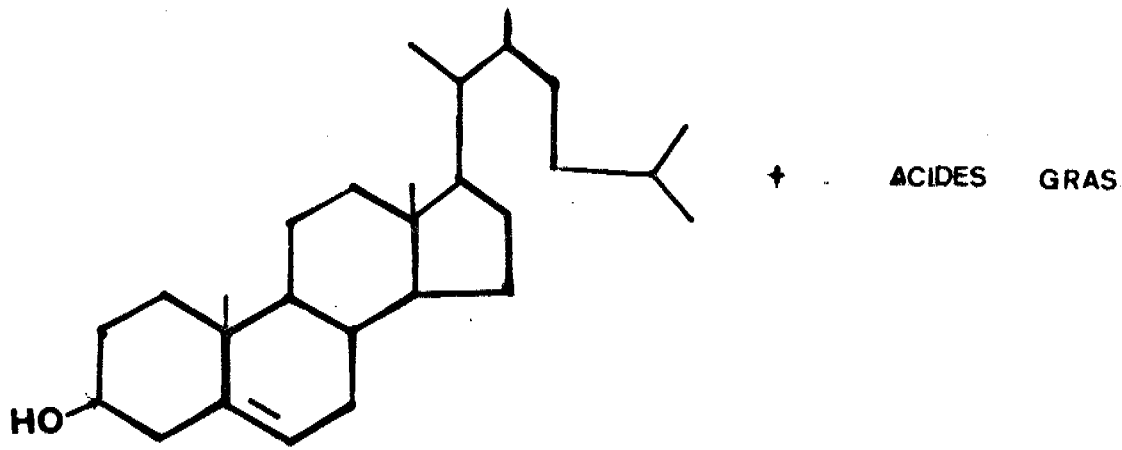
2.1.1.1.2. Méthodes enzymatiques

Elles sont très récentes, beaucoup plus spécifiques et plus précises que les méthodes colorimétriques.

Stéride $\xrightarrow[\text{hydrolase}]{\text{Cholestérol ester}}$ Cholestérol libre + acide gras

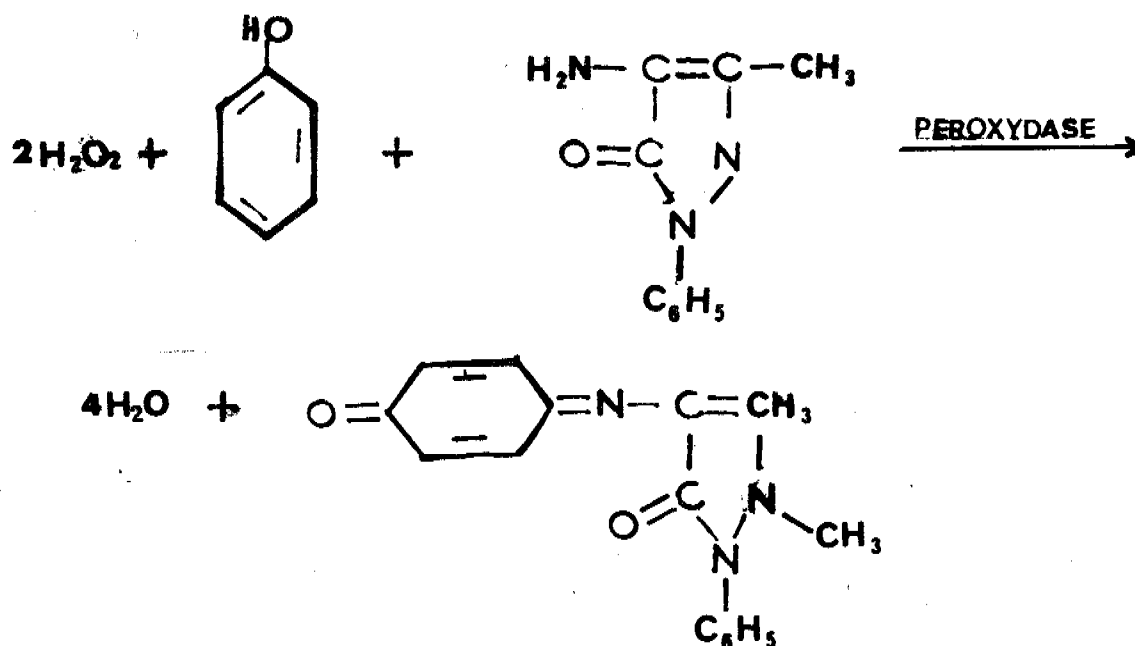
Stéride.





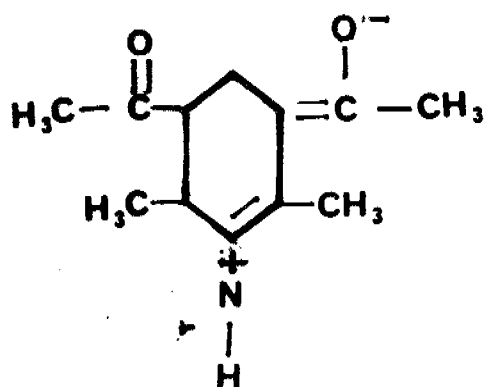
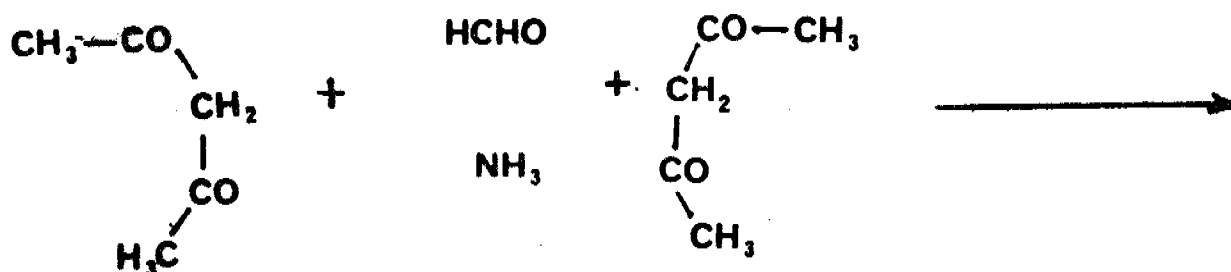
Le peroxydè est ensuite dosé

- soit par la réaction de TRINDER à la peroxydase en présence de 4-amino antipyrine et de phénol. Il se forme une quinone imine. On lit la coloration jaune à 500 nm;



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la teneur de cholestérol dans le milieu réactionnel :

- soit par la réaction de HANTZCH. Le peroxyde oxyde le méthanol. On obtient la formaldéhyde qui, avec les ions ammonium et l'acétylacétone, entraîne la formation d'une lutidine jaune dosée en colorimétrie ou fluorimétrie.



La coloration est proportionnelle à la quantité de H_2O_2 produite, donc de cholestérol.

- soit par réaction avec un iodure en présence de molybdène (VI) comme catalyseur : le peroxyde donne de l'iode dosée par iodométrie :



Les méthodes enzymatiques sont reproductibles. Il n'y a pas d'interférence, ni de la bilirubine, ni des hémoglobines, ni des médicaments.

2.1.1.1.3. Autres méthodes

- Spectrophotométrie dans l'infrarouge.
- Chromatographie en phase gazeuse.

2.1.1.1.4. Choix d'une technique

Lorsqu'on choisit une méthode de détermination du cholestérol, il est nécessaire de distinguer sa précision et son exactitude relative. Ces dernières années, les laboratoires accordaient leur préférence à des techniques reproductibles mais peu exactes. A l'heure actuelle, grâce au développement des techniques enzymatiques, il est possible d'associer reproductibilité et exactitude, même en cas d'hémolyse, d'ictère, d'hyperlipémie.

2.1.1.1.5. Variations du taux de cholestérol

Il est difficile d'établir les valeurs normales de la cholestérolémie. Pour interpréter les résultats, il faut tenir compte des techniques de dosage, de l'âge, du sexe, de la nyctémère, des saisons, des conditions de vie, de l'exercice physique et de l'alimentation.

Chez l'homme, la valeur plasmatique du cholestérol augmente régulièrement avec l'âge jusqu'à 55-60 ans (0,2 g/l ou 0,5 mmol/l tous les 10 ans).

Chez la femme, elle est plus stable jusqu'à la ménopause, mais tend ensuite à rattraper celle du cholestérol sérique de l'homme.

Chez l'enfant, la concentration sérique du cholestérol est plus faible : elle est de

- 0,75 g/l \pm 0,20 (soit 2 mmol/l \pm 0,5) à la naissance
- 1,00 à 1,20 g/l (2,6 à 3,1 mmol/l) après quelques jours
- 1,6 à 1,8 g/l (4,0 à 4,6 mmol/l) vers 2 à 4 ans.

L'hypercholestérolémie observée pendant la grossesse revient à la normale après l'accouchement.

Le cholestérol sérique varie suivant les saisons, avec des valeurs basses d'avril à septembre, et élevées d'octobre à mars (dans l'hémisphère nord). Au cours de la journée, on note des variations nycthémérales chez le même individu : élévation en fin d'après-midi et le matin avant tout apport alimentaire, baisse avant midi et la nuit.

Le cholestérol sérique est fonction du régime alimentaire (la cholestérolémie est élevée chez les esquimaux qui mangent très gras, et basse chez les végétariens).

2.1.1.2. DETERMINATION DES TRIGLYCERIDES

2.1.1.2.1. Méthodes colorimétriques ou fluorimétriques

Elles consistent à doser le glycérol libéré par hydrolyse potassique. Elles comportent trois temps :

- extraction des triglycérides
- hydrolyse alcaline
- dosage du glycérol.

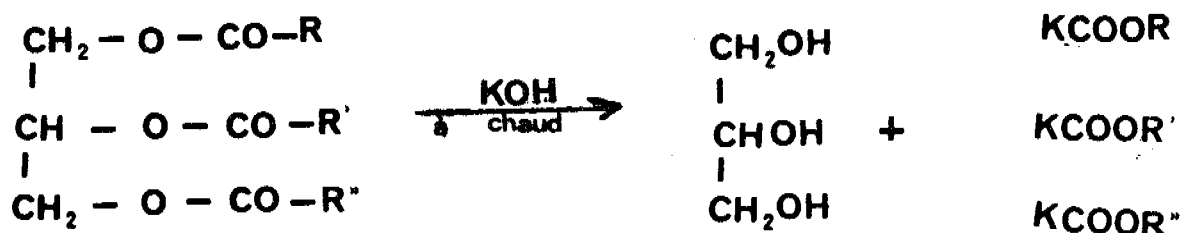
2.1.1.2.1.1. Extraction

Les triglycérides sont extraits par le chloroforme-méthanol (méthode de VAN HANDEL et ZILVERSMIT) ou l'isopropanol (méthode de KESSLER et LEDERER) pour éliminer les phospholipides.

Les lipides sont adsorbés sur zéolithe, acide silicique, alumine, florasil (silicate de magnésium), terre de diatomées ou réactif de LLOYD qui permettent l'élimination du glucose et des acides organiques. La bentonite adsorbe la bilirubine. L'extraction sélective se fait par le mélange isopropanol-nonane ou isopropanol-heptane.

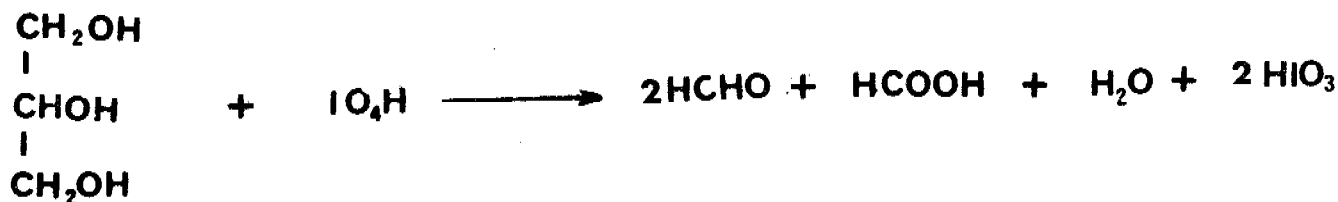
2.1.1.2.1.2. Hydrolyse

Elle s'opère avec des solutions alcooliques de soude ou de potasse ou de méthylate de Na.



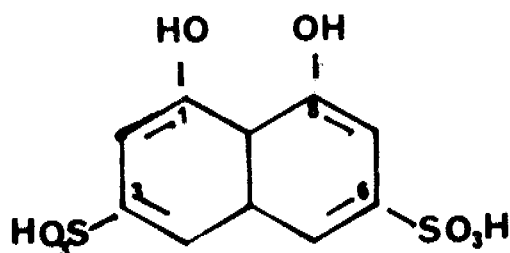
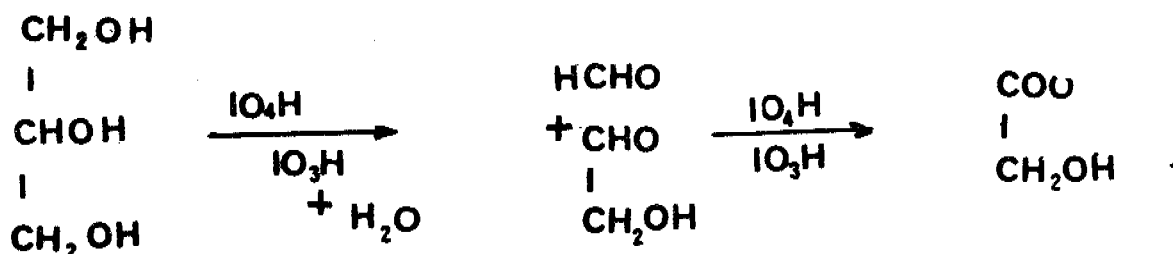
2.1.1.2.1.3. Dosage du glycérol

Le glycérol est neutralisé et traité par le periodate à température ordinaire.



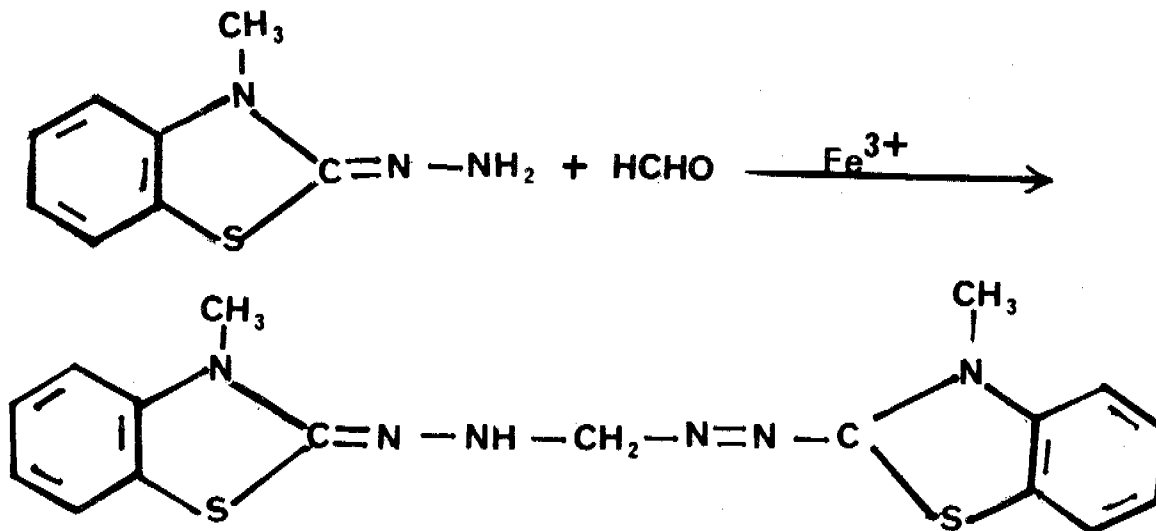
- Le formaldéhyde obtenu est dosé par la réaction de HANTZSCH. Par condensation avec l'acétyl-acétone et les ions ammonium, il donne la 3,4-5 diacétyl-1,4-dihydrolutidine, jaune, fluorescente à 410 nm (voir formule du dosage enzymatique du cholestérol). C'est la méthode colorimétrique ou fluorimétrique de KESSLER et LEDERER.

- Méthode colorimétrique de VAN HANDEL et ZILVERSMIT : la réaction d'oxydation du periodate est arrêtée par l'arsénite de sodium en présence d'acide chromotrope en milieu sulfurique à 100°C, pendant 30 minutes. On obtient une coloration rose violacée qu'on lit à 564 nm contre un blanc. L'étalonnage est réalisé avec une solution alcoolique de tripalmitine ou de trioléine. Cette méthode a été légèrement modifiée par différents auteurs. Elle donne des résultats peu précis lorsque les taux de triglycérides sont faibles.



- La méthode de PAYS et collaborateurs : le formaldéhyde est combiné au MBTH (méthyl-benzo-thiazolane-hydrozone) et donne une azime colorée en présence de chlorure ferrique (lecture à 670 nm).

Les résultats sont exprimés en trioléine : une solution iso-propanalique de trioléine sert d'étalon. La technique a été automatisée par NEELEY et collaborateurs.

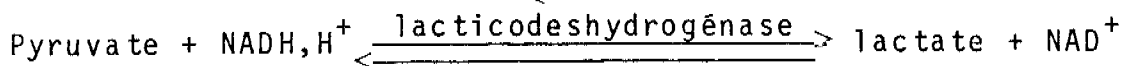
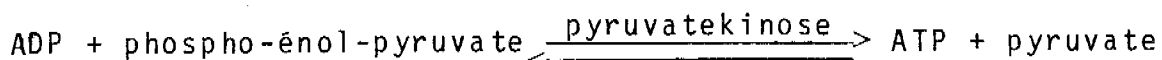
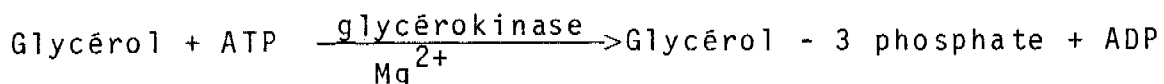


2.1.1.2.2. Méthodes enzymatiques

2.1.1.2.2.1. Méthode de KREUTZ

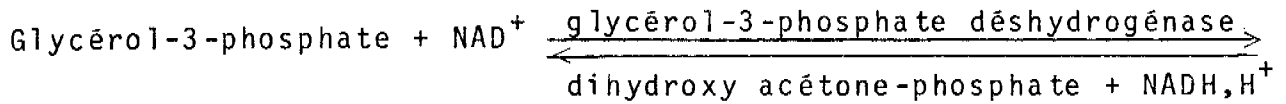
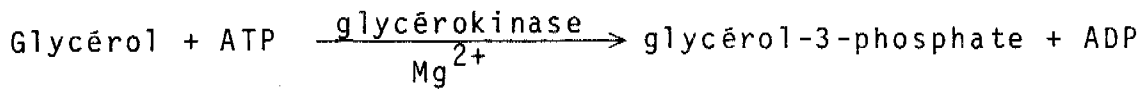
Cette méthode est basée sur :

- la phosphorylation du glycérol par l'ATP (Adénosine Tri Phosphate) en présence de glycérolkinase;
- le dosage de l'ADP (Adénosine Di Phosphate) formé par une série de réactions enzymatiques.

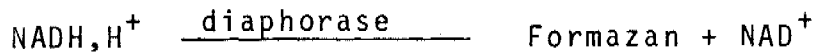


Les trois réactions sont réalisées en milieu tamponné à pH 7,2.

NADH, H⁺ est dosé par spectrophotométrie à 340 nm. La teneur en glycérol présent dans l'échantillon est proportionnelle à la quantité de NADH, H⁺ consommée.

2.1.1.2.2.2. Méthode de O. WIELAND

On peut lire au spectrophotomètre à 340 nm
ou faire une réaction colorée :



Les réactions s'effectuent en milieu tamponné à pH 9,4 en présence d'hydrazine qui déplace la réaction en se combinant à la dihydroxyacétone phosphate. La teneur en glycérol dans l'échantillon est proportionnelle à la coloration de Formazan appréciée à 500 nm au photomètre.

Récemment, ces techniques enzymatiques ont été simplifiées par l'utilisation d'agents d'hydrolyse enzymatiques (lipase additionnée d'estérase ou d'alphachymotrypsine pour que l'hydrolyse soit complète).

Ces méthodes enzymatiques sont spécifiques et reproductibles. Une automatisation est possible.

2.1.1.2.3. Variations du taux de triglycérides

Les triglycérides sont plus élevés chez l'homme que chez la femme et augmentent avec l'âge (mmol/l).

Jeunes en- fants	20-30 ans	30-40 ans	40-50 ans	50-60 ans	
0,45 ± 0,22	0,84 ± 0,28	1,00 ± 0,42	1,06 ± 0,34	1,15 ± 0,42	<u>/H/</u>
0,41 ± 0,23	0,66 ± 0,22	0,72 ± 0,22	0,79 ± 0,27	0,89 ± 0,30	<u>/F/</u>

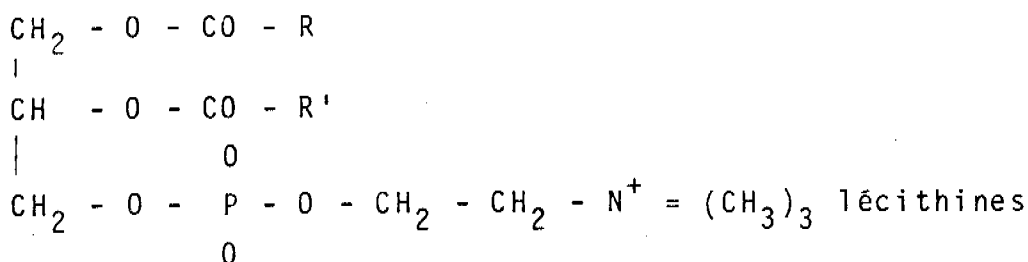
Tableau de la répartition de la triglycéridémie selon l'âge et le sexe en France (J.L. DE GENNES)

Les taux de triglycérides augmentent aussi au cours de la grossesse et de la prise de contraceptifs oraux.

2.1.1.3. DETERMINATION DES PHOSPHOLIPIDES

Le dosage des phospholipides n'a d'intérêt que dans l'exploration des hyperlipémies secondaires à une obstruction biliaire qui s'accompagnent d'une augmentation considérable de leur taux. Sinon, il a peu d'applications en raison de ses variations parallèles à celles du cholestérol.

Les phospholipides du sérum sont constitués par divers lipides contenant du phosphore : lécithines ou phosphatidyl-cholines, céphalines ou phosphatidyl-colamines, lysolécithines et sphingomyélines.



2.1.1.3.1. Méthodes chimiques

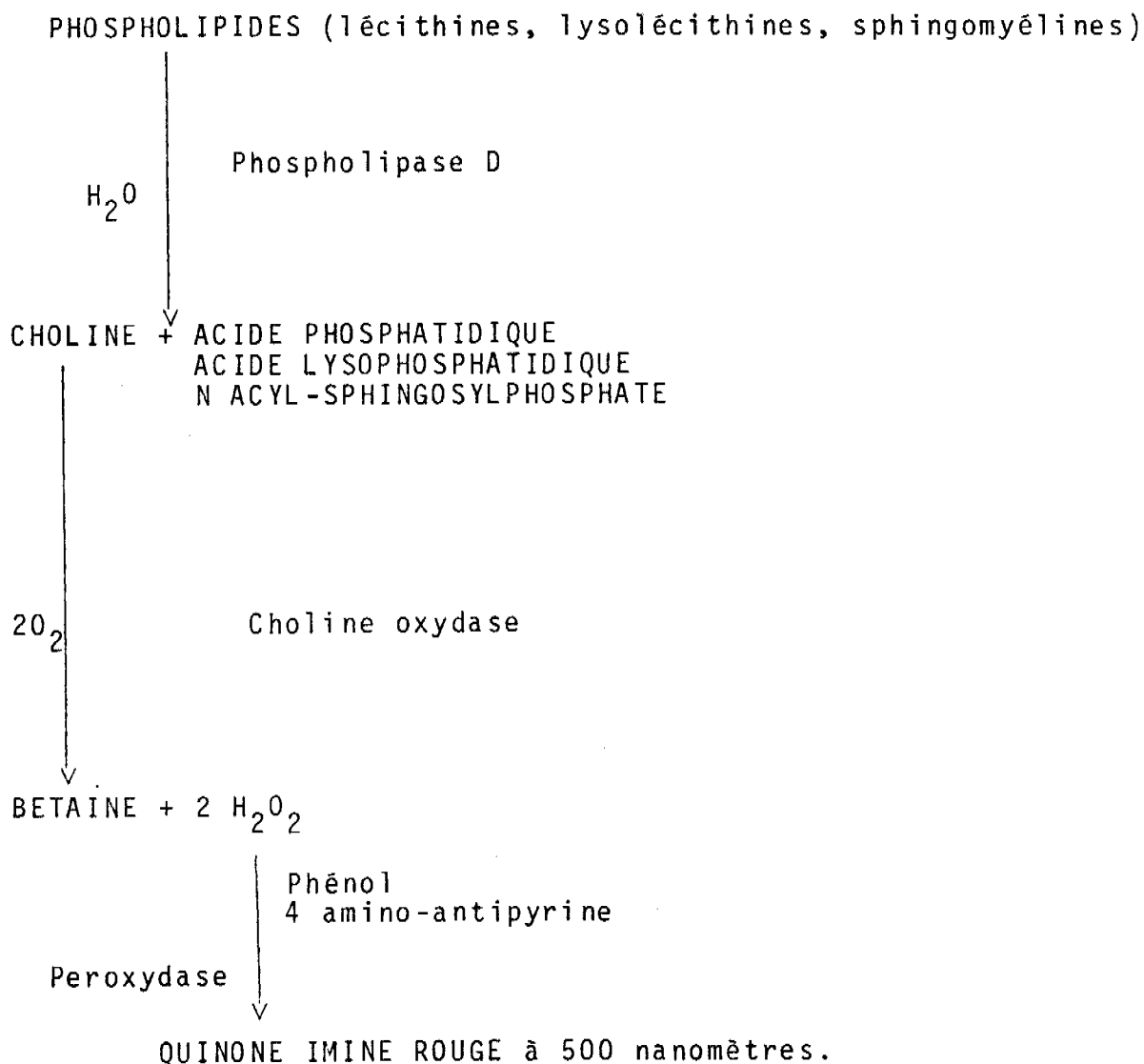
Ils peuvent être extraits avec les lipides totaux du sérum, ou séparés des lipides neutres (et pigments) par précipitation des phospholipides dans l'acétone à froid ou par divers agents précipitants des protéines. Après minéralisation, le phosphore libéré est dosé soit par formation d'un complexe phosphomolybdique, soit par formation d'un complexe molybdo-nonadique.

2.1.1.3.2. Méthode de ZILVERSMIT et DAVIS

Les phospholipides du sérum sont précipités par l'acide trichloracétique à 10 %. Le précipité est minéralisé par l'acide perchlorique et le phosphate formé est dosé par la réaction sulfomolybdique. Cette méthode a été adaptée à la chromatographie sur couche mince par BARLETT. Elle a été automatisée par WHITLEY et collaborateurs, et MALLEIN et collaborateurs. Le précipité trichloracétique est repris par la soude 1M et on procède à une minéralisation en continu au four par le mélange sulfoperchlorique en présence d'anhydride vanadique comme catalyseur. Le minéralisat neutralisé sert au dosage du phosphate par la réaction molybdique à 660 nanomètres.

2.1.1.3.3. Méthodes enzymatiques

Récemment, on a mis au point une méthode de dosage enzymatique des phospholipides, comme l'indique le schéma suivant :



2.1.1.4. DETERMINATION DES ACIDES GRAS NON ESTERIFIES (AGNE)

Communément appelés "acides gras libres" (bien que véhiculés dans le sang par la sérum-albumine), les AGNE ou NEFA du plasma ont une durée de vie brève (3 minutes) et subissent des variations physiopathologiques rapides. Le dosage doit se faire dans les meilleurs délais après le prélèvement afin d'éviter la lipolyse des lipides acylés. Le sang est prélevé sur EDTA ou en présence d'inhibiteur de la lipase. Le dosage sert à apprécier les facteurs de mobilisation des lipides.

2.1.1.4.1. Méthode titrimétrique de DOLE

L'extraction des acides gras est réalisée par le mélange isopropanol-heptane, acide sulfurique 1,5 M (40/10/1 = V/V). Les acides gras récupérés dans la phase hepta-

noïque sont soumis à une ultramicrotitration sous azote à l'aide d'une solution alcaline titrée en présence de thymol phtaléine. Ainsi, tous les acides gras insolubles dans l'eau (acides gras longs) sont dosés. La méthode est minutieuse, et pourtant relativement imprécise : il y a interférence d'autres acides gras organiques.

TROUT et collaborateurs font un lavage supplémentaire de l'extrait dans l'heptane par une solution d'acide dilué pour éliminer l'acide lactique. D'autres auteurs utilisent un mélange de titration non aqueux : hydroxyde de tétra-butyl-ammonium (KELLEY).

2.1.1.4.2. Méthode colorimétrique au cuivre de DUNCOMBE

Elle réalise, sur l'extrait selon DOLE, la formation de savons de cuivre et leur dissolution en phase chloroformique. Après séparation et lavage, l'addition d'une solution butanolique de diéthylldithiocarbonate de sodium conduit à l'apparition d'une coloration jaune (lecture à 440 nm). La technique a été automatisée par ANTONIS.

2.1.1.4.3. Méthode colorimétrique au rouge de phénol (méthode de MOSINGER)

Après extraction selon DOLE, les acides gras dans la phase heptanoïque sont mélangés à une solution de rouge de phénol dans l'heptane-éthanol, tamponnée par le véronal sodique. Les acides gras libèrent proportionnellement l'acide diéthylbarbiturique qui induit le virage au jaune de la solution alcaline de rouge de phénol (lecture à 560 nm). La décroissance de la coloration rouge suivie au photomètre est proportionnelle à la teneur en acides gras de l'échantillon. C'est une technique simple et sensible; elle peut être utilisée pour déterminer les activités des enzymes lipolytiques.

La méthode a été automatisée par BAIRD et FRUCHARD.

2.1.1.5. DETERMINATIONS DES LIPIDES TOTAUX

2.1.1.5.1. Méthodes gravimétriques

On effectue d'abord une dénaturation protéique; ensuite, on procède à l'extraction des lipides par un solvant organique.

2.1.1.5.1.1. Extraction en extracteurs

C'est une technique longue et difficile (appareils de KUMAGAWA, SOXLET et type BBS). Ces méthodes de référence sont abandonnées en pratique hospitalière.

2.1.1.5.1.2. Extraction sans extracteur- Méthode de BLOOR

L'extraction se fait avec l'éthanol-éther (3/1 = V/V) au bain-marie électrique à 30°C. Lorsqu'on ajoute le sérum, il se forme un précipité que l'on centrifuge. Le surnageant évaporé est repris par l'éther de pétrole et pesé.

- Méthode de DELSAL

L'extraction se fait à froid avec le mélange méthanol-méthylal (1/4 = V/V). On ajoute le sérum goutte à goutte (1/20). Il se forme un précipité jaune qui est centrifugé. Le précipité est extrait trois fois avec le mélange. Le surnageant évaporé est repris par du méthylal (diméthoxy-méthane : $\text{CH}_2(\text{OCH}_3)_2$ pur ou du benzène. On évapore et on pèse.

- Méthode de FOLCH

Le solvant est le mélange chloroforme-méthanol (2/1 = V/V) à chaud (80°C). On filtre et on lave en ampoules avec de l'eau distillée, puis avec une solution saturée de chlorure de calcium pour purifier l'extrait lipidique. La phase organique est séparée et évaporée à 40°C sous vide. Le résidu est pesé.

2.1.1.5.1.3. Autres méthodes- Méthode de LINDHALM

qui utilise comme solvant d'extraction le mélange éthanol-acétone.

- Méthode de SPERRY

utilisant le chloroforme-méthanol.

Ces méthodes sans extracteur sont encore jugées trop longues et nécessitent beaucoup de matériel, mais elles sont en général assez exactes.

On avait, enfin, proposé tout simplement de calculer les lipides totaux par simple addition des principales fractions lipidiques dosées : cholestérol libre + stérides + triglycérides + phospholipides.

2.1.1.5.2. Méthodes modernes2.1.1.5.2.1. Méthode colorimétrique au réactif sulfo-phosphovanillique

ou méthode de CHABROL et CHARONNAT.

Le mélange réactif : acides concentrés (H_2SO_4 , H_3PO_4) - solution de vanilline est porté au bain-marie bouillant 10 minutes. On obtient une coloration rose à 530 nm. Cette méthode est applicable à l'autoanalyseur.

2.1.1.5.2.2. Méthodes turbidimétriques

ou méthode de SEARCY.

Elle consiste à extraire les lipides par l'alcool-éther à chaud. Après évaporation et dissolution de l'extrait dans le dioxane, la solution est additionnée d'acide sulfurique à 4 % (5V pour 1,5 V de solution dioxanique). Au bout d'une heure, il apparaît un trouble (lecture à 650 nm) qui reste stable pendant quatre heures.

2.1.1.5.2.3. Méthode de GABL

La détermination turbidimétrique repose sur la mesure du trouble développé par l'insolubilisation des lipides du sérum préalablement extraits dans le dioxane. Cette insolubilisation est réalisée en présence de phénol dans une solution concentrée de chlorure de sodium. C'est une méthode simple mais peu fiable à cause de l'instabilité du réactif et des différences de sensibilité des lipides sériques à la floculation par le phénol.

2.1.1.5.2.4. Méthode de GIRARD et CANAL

Elle consiste à flocculer les lipides d'un extrait isopropanolique du sérum par un grand volume d'eau en présence de sulfate de dextrane et d'un cation divalent. Le trouble est mesuré par turbidimétrie ou par néphélométrie après un temps de floculation déterminé. C'est une méthode simple automatisable et relativement précise à condition de faire des étalons et des contrôles fréquents.

2.1.2. RÉSUMÉ DES VALEURS PHYSIOLOGIQUES DES CONSTITUANTS LIPIDIQUES

Concentrations habituelles des lipides sériques du sujet normal (adulte) :

<u>Lipides totaux</u> :	5,5 à 7,5 g/l
1) Stérides :	
cholestérol total	4,64 à 6,71 mmol/l
cholestérol libre	0,5 à 0,8 g/l
cholestérol estérifié	5,16 à 9,03 mmol/l

(en tenant compte des acides gras estérifiants)

2) Glycérides :	triglycérides	0,8 à 1,48 mmol/l
	acides gras non estérifiés	0,14 à 0,20 g/l
3) Lipides complexes :	(en phosphore lipidique	60 à 100 mg/l
	phospholipides	1,93 à 2,90 mmol/l
	lécithines	1,20 à 2,09 g/l
	céphalines	0,05 à 0,20 g/l
	lysolécithines	0,1 à 0,2 g/l
	sphingomyélines	0,1 à 0,3 g/l
4) Caroténoïdes :		2 à 20 mg/l

2.2. LES LIPOPROTÉINES

2.2.1. DÉFINITION ET RÔLE

Les lipoprotéines sont des "supra-molécules formées, en particulier, de lipides hydrophobes et de protéines spécifiques : les apolipoprotéines" (G. SEZILLE). Ce sont des combinaisons variées de protéines et de cholestérol (libre ou estérifié), de triglycérides, de phospholipides et d'acides gras.

La fonction essentielle des lipoprotéines est le transport des lipides plasmatiques non hydrosolubles.

Il est nécessaire d'analyser les lipoprotéines car le risque athérogène est lié à l'augmentation de la teneur du sérum en lipoprotéines de basse densité (VLDL, IDL, LDL) alors que les HDL protègent plutôt de l'athérosclérose.

2.2.2. CARACTÉRISATION ET CLASSIFICATION

Les critères de classification sont ceux :

- de l'électrophorèse qui permet de distinguer quatre grandes classes selon leur mobilité par rapport à celle des protéines plasmatiques en général;
- de l'ultracentrifugation de flottation basée sur le fait que les lipoprotéines sont plus légères que les holo- et les glyco-protéines et que leur densité (d) respective varie en raison inverse de l'importance de la copule lipidique.

2.2.2.1. ELECTROPHORESE

C'est une méthode simple et rapide. Il existe deux types de méthodes de séparation.

2.2.2.1.1. Méthodes de séparation basées uniquement sur la charge des lipoprotéines

2.2.2.1.1.1. Electrophorèse sur papier

Elle réalise la séparation des lipoprotéines en tampon véronal (pH 8,6) et en migration horizontale. La séparation des bêta et pré-bêta lipoprotéines n'est pas nette et l'on observe, en arrière des zones β et pré- β , une traînée de lipides colorable par les Noir Soudan ou le Oil Red O.

Des auteurs tels que LEES et HATCH réalisent la séparation des lipoprotéines en électrophorèse verticale dans une cuve Durrum. Le tampon de migration est un tampon classique à base de Véronal à pH 8,6, auquel on ajoute de l'albumine humaine pour neutraliser les charges négatives du support et réduire ainsi les phénomènes d'adsorption. La coloration des lipoprotéines est obtenue par l'Oil Red O. Elle permet une individualisation des principales classes de lipoprotéines par ordre de mobilité croissante :

chylomicrons restant au point de départ
 β -lipoprotéines
 pré- β -lipoprotéines
 β -lipoprotéines.

Cette technique est longue et nécessite seize heures de migration. Néanmoins, c'est la méthode de référence de l'O.M.S. (1970).

2.2.2.1.1.2. Electrophorèse sur acétate de cellulose

Il existe différentes structures d'acétate de cellulose. Sur Cellogel (type gélatineux), il est souvent utile, après migration à pH 8,6 et fixation des lipoprotéines par l'alcool, d'effectuer une hydrolyse alcaline ménagée qui transforme le support en cellulose non colorable par les solvants lipophiles (Rouge Ciba, Noir Soudan). Sur acétate de cellulose, les migrations sont rapides et les séparations des fractions, β lipoprotéines et pré- β lipoprotéines en particulier, sont nettes. Sur ces supports cependant, on constate que les chylomicrons du sérum migrent en grande partie dans la zone des pré- β lipoprotéines. La mobilité électrophorétique de ces particules oxogènes est fonction de leur taille et il a été démontré que seule la fraction de chylomicrons de $S_f > 10^6$ reste au point de départ (Cf. § "Ultracentrifugation" : définition de S_f).

Avec des chylomicrons natifs isolés par exemple d'une ascite chyleuse, la migration en position pré-bêta est moins massive que celle obtenue précédemment avec des chylomicrons du sérum.

L'acétate de cellulose, actuellement très utilisé, n'est pas recommandable pour la classification typologique des hyperlipidémies, car elle peut conduire, en cas de latescence du sérum, à des erreurs et à la confusion des types IV et V d'hyperlipidémies (voir plus loin).

2.2.2.1.1.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

Après migration et fixation dans un mélange alcool-acide, les lipoprotéines peuvent être révélées par le Noir Soudan. Sur ce support, les séparations sont de très bonne qualité entre HDL, LDL et VLDL, mais le problème de la migration des chylomicrons reste entier. L'addition d'albumine humaine à l'agarose fournit des tracés assez voisins de ceux obtenus sur papier où les chylomicrons restent au point de dépôt. Des révélations spécifiques (par les polyanions) peuvent être utilisées.

2.2.2.1.2. Méthodes de séparation en fonction de la taille des lipoprotéines et accessoirement de leur charge

2.2.2.1.2.1. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide

Elle réalise une séparation où le principe de l'électrophorèse est associé à l'emploi d'un gel effectuant un tamisage moléculaire. Le facteur taille intervient alors en plus de la charge électrique et, de ce fait, la migration des VLDL et LDL est inversée par rapport à celle obtenue sur les autres supports.

La séparation s'effectue dans une colonne à gradient discontinu de concentrations. Trois sortes de gel sont successivement coulés et polymérisés : gel de séparation (3 %), gel de concentration (3,25 %), gel de dépôt auquel on incorpore le sérum précoloré, soit avec du Noir Soudan acétylé, soit avec du diformazan de nitrobleu de tétrazolium (NBT). Un quatrième gel dit intermédiaire (2 %) est ajouté et la coloration des lipoprotéines ne se fait plus au Noir Soudan acétylé mais au NBT.

Lors de la migration :

- les chylomicrons sont retenus par le gel d'acrylamide à 2 % et se séparent nettement des VLDL;
- les VLDL traversent le gel à 2 % et se localisent juste à la limite supérieure du gel de concentration en une bande plus ou moins intense;

- les LDL forment une bande importante parfaitement séparée des VLDL;
- la région diffuse voisine de l'anode correspond aux HDL;
- certains sérums hyperlipémiques peuvent présenter une bande supplémentaire située juste au-dessus de celle correspondant aux LDL: il s'agit de la lipoprotéine Lp(a) (voir plus loin);
- dans certains sérums riches en VLDL, une autre bande, parfaitement distincte, se localise juste au-dessous des VLDL, à la surface du gel de séparation. Cette bande est présente dans la majorité des cas sur les diagrammes d'électrophorèse de sérums ayant un taux anormalement élevé de triglycérides. Cette fraction U s'apparente aux IDL (lipoprotéine intermédiaire formée lors du catabolisme des VLDL en LDL - voir plus loin -). Le gel de polyacrylamide en gradient discontinu assure une excellente séparation des différentes lipoprotéines. Il se révèle être le support de choix pour la résolution des sérums lactescents.

Interprétation du lipidogramme

Le lipidogramme ne permet qu'une étude qualitative de la distribution des lipoprotéines. La détermination densitométrique des différentes bandes obtenues à partir du lipoprotéinogramme peut être utilisée pour faciliter l'interprétation de ce dernier par rapport à un sérum normolipidique, mais il n'existe aucune relation linéaire entre la concentration en lipoprotéines et l'intensité de la coloration. Seuls les facteurs de correction, difficiles à établir, pourraient permettre une standardisation des valeurs obtenues. Il semble donc dangereux de prendre en considération les résultats du lipoprotéinogramme en pourcentages, car ces chiffres ne sont, en aucun cas, des valeurs absolues correspondant à une concentration lipoprotéique et peuvent induire le médecin en erreur. De ce fait, un lipoprotéinogramme ne peut s'interpréter qu'en connaissant le bilan lipidique (cholestérol, triglycérides).

2.2.2.2. ULTRACENTRIFUGATION

La séparation des lipoprotéines du sérum est obtenue par ultracentrifugations de flottation (on utilise des constantes de sédimentation négative ou Sf - f comme flottation - correspondant à des unités Svedberg mesurées dans un milieu de densité 1,063 à 26°C) successives pendant des temps et à des vitesses variées, et en élevant progressivement la densité du milieu. Chaque fraction peut être isolée, permettant ultérieurement une évaluation quantitative des différentes classes de lipoprotéines. La séparation des lipoprotéines met à profit les différences entre les densités respectives des diverses catégories de lipoprotéines sériques. L'ajustement convenable de la densité du sérum permet :

- soit de faire flotter l'ensemble des lipoprotéines tout en faisant sédimenter les protéines;
- soit d'isoler des classes, voire des sous-classes de lipoprotéines.

On distingue ainsi :

- chylomicrons
- VLDL (Very Low Density Lipoproteins) : lipoprotéines de très faible densité
- LDL (Low Density Lipoproteins) : lipoprotéines de faible densité, comprenant une fraction majeure de LDL proprement dites (LDL_2) et une fraction mineure de (LDL_1) ou IDL (Intermediary Density Lipoproteins)
- HDL (High Density Lipoproteins) : lipoprotéines de haute densité, se subdivisant en HDL_3 prépondérantes, HDL_2 et HDL_1 (fraction mineure voisine des LDL)
- VHDL (Very High Density Lipoprotein) : lipoprotéines de très haute densité, quantitativement peu importantes et sédimentant avec les holo- et les glyco-protéines.

Enfin, on a décrit des lipoprotéines particulières parmi lesquelles la lipoprotéine Lp(a) ou "sinking pré-lipoprotein", quantitativement peu importante, douée d'une migration électrophorétique pré- mais de densité intermédiaire entre celle des LDL_2 et des HDL.

Le tableau I résume les résultats de l'ultracentrifugation et de l'électrophorèse des lipoprotéines et fait apparaître les correspondances entre les deux séries de fractions ainsi obtenues.

Lipoprotéines	Constante de flottaison Sf	Densité	Taille	Migration électrophorétique
Chylomicrons	> 400	0,94	0,1 à 1	Origine
VLDL	20 - 400	0,94 - 1,006	300 à 800 Å	Pré-béta
Remnant IDL (LDL_1)	12 - 20	1,006 - 1,019	250 à 300 Å	Large Broad bêta
LDL (LDL_2)	0 - 12	1,019 - 1,063	170 à 250 Å	Bêta
HDL	0	1,063 - 1,21	75 à 150 Å	Alpha

TABLEAU I - Caractères physico-chimiques des lipoprotéines.

2.2.2.3. AUTRES METHODES DE DOSAGE

2.2.2.3.1. Test de Gardis

Il permet de différencier les chylomicrons d'origine exogène des lipomicrons d'origine endogène. Le principe consiste à déposer le sérum au fond d'un tube contenant une solution aqueuse de polyvinyl-pyrrolidone. Après vingt-quatre heures de maintien du tube en position verticale à 37°C, les lipomicrons d'origine endogène s'étagent en traînée sur toute la hauteur de la colonne liquide.

2.2.2.3.2. Test de crémage

Il consiste à laisser le sérum lactescent pendant 24 heures au réfrigérateur à +4°C. Une couche crémeuse surnageant au-dessus d'un sous-nageant clair est en faveur de la présence des chylomicrons.

2.2.2.3.3. Tests de précipitation

(Dosage néphélométrique). Ces tests sont plus ou moins sélectifs. Les réactions les plus intéressantes utilisent des polyanions ou des détergeants associés à des cations divalents. Le sulfate de dextrane, en présence d'ions Ca^{2+} , précipite les LDL et l'héparine en présence d'ions Mg^{2+} précipite en plus les VLDL (BURSTEIN-SAMAÏLLE). Le lauryl-sulfate de sodium permet une précipitation sélective des VLDL et des chylomicrons.

Plus récemment, des méthodes de précipitation plus sélectives ont été mises au point : deux d'entre elles seront exposées dans le chapitre "Résultats personnels".

2.2.3. STRUCTURE ET COMPOSITION

Il s'agit de macro-molécules d'allure sphérique formées d'un noyau de lipides hydrophobes (triglycérides et cholestérol) stabilisé et solubilisé dans le sérum par l'intermédiaire d'une fine pellicule comprenant une copule protéique et des phospholipides. Les liaisons sont labiles, permettant de nombreux échanges entre lipoprotéines ou entre lipoprotéines et membrane cellulaire (Cf. Figure 2).

La distinction des diverses classes de lipoprotéines résulte :

- de différences de répartition des types de lipides;
- de différences de composition en apoprotéines de la copule protéique.

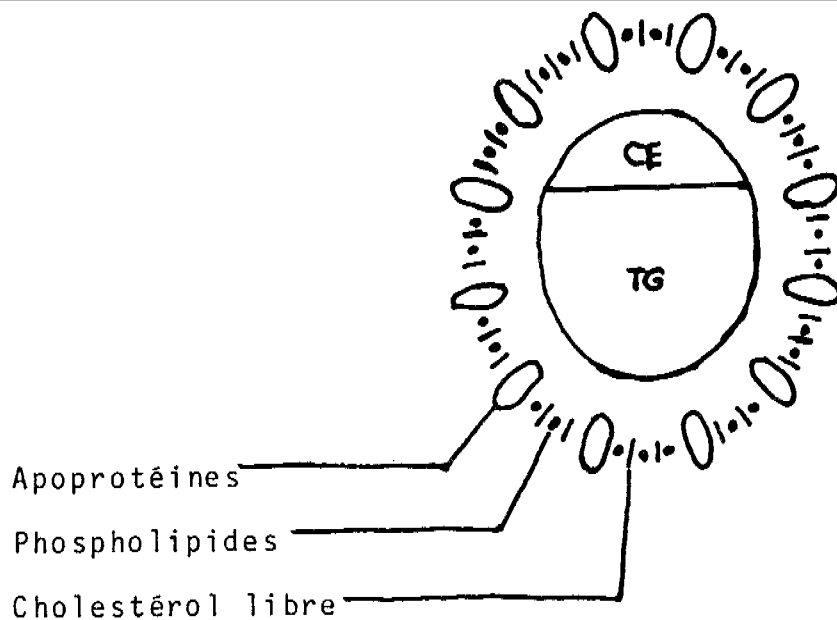


FIGURE 4 : Structure générale des lipoprotéines.

2.2.3.1. COPULE PROTIDIQUE

Le pourcentage de la fraction protéique varie considérablement d'une classe à une autre (Tableau V). Ainsi, les β -lipoprotéines sont riches en protéines (environ 50 %), contrairement aux chylomicrons dont la teneur en protéines est faible (environ 2 %). Cette fraction protéique est formée de plusieurs apoprotéines dénommées respectivement :

2.2.3.1.1. Apoprotéine A

Ces apoprotéines (A_1 et A_2) sont les constituants majeurs des α -lipoprotéines. Elles sont présentes à l'état de traces dans les pré- β -lipoprotéines et en petite quantité dans les chylomicrons. Les deux Apoprotéines se distinguent par leur composition en acides aminés et leur séquence où l'on peut remarquer toutefois que les extrémités C-terminales sont identiques dans les deux cas.

2.2.3.1.2. L'apoprotéine B

Elle constitue la presque totalité de la partie protéique des β -lipoprotéines (Tableau IV). Elle représente également plus du tiers de la copule protéique des pré- β -lipoprotéines et près du quart de celle des chylomicrons.

2.2.3.1.3. L'apoprotéine C

Elle est le principal constituant protéique des pré- β -lipoprotéines et des chylomicrons. Elle existe également en faible quantité dans les α -lipoprotéines, et comporte trois peptides : C_I , C_{II} et C_{III} .

2.2.3.1.4. Les apoprotéines mineures

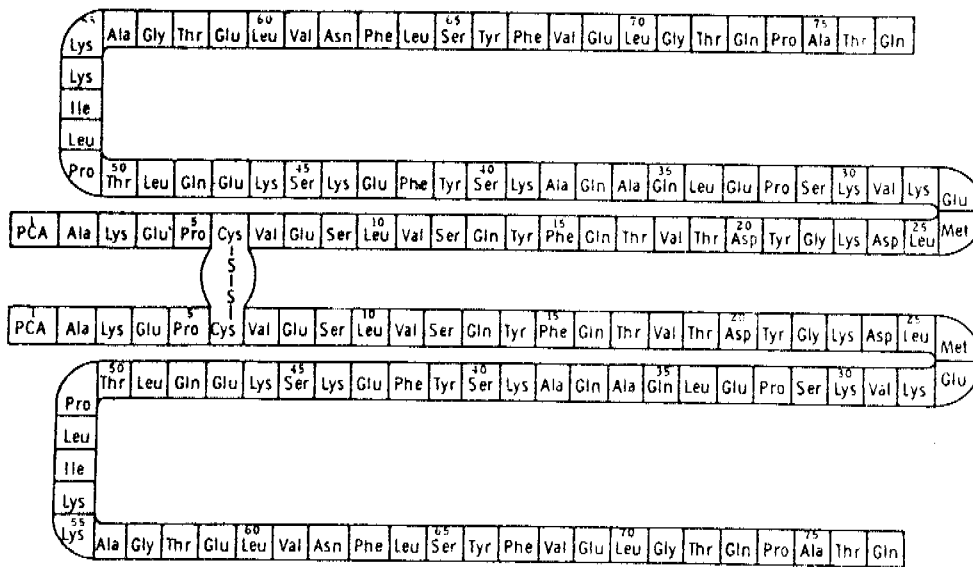
Elles sont représentées par l'apoprotéine E qui est constituée de trois polypeptides E_I, E_{II} et E_{III}. Les apoprotéines D, F, G et Lp(a) découvertes récemment^{III} sont également en cours d'étude.

FIGURE 3 - Séquence des acides aminés de l'Apo A

```

Asp-Glu-Pro-Pro-Gln-Ser-Pro-Trp-Asp-Arg-Val-Lys-Asp-Leu-Ala-Thr-Val-Tyr-Val-Asp-
                                     10                                     20
Val-Leu-Lys-Asp-Ser-Gly-Arg-Asp-Tyr-Val-Ser-Gln-Phe-Gln-Gly-Ser-Ala-Leu-Gly-Lys-
                                     30                                     40
Gln-Leu-Asn-Leu-Lys-Leu-Leu-Trp-Asp-Asp-Val-Thr-Ser-Thr-Phe-Ser-Lys-Leu-Arg-Gln-
                                     50                                     60
Glu-Leu-Gly-Pro-Val-Thr-Glu-Glu-Trp-Phe-Asn-Asp-Leu-Gln-Glu-Lys-Leu-Asn-Leu-Glu-
                                     70                                     80
Lys-Glu-Thr-Gly-Glu-Leu-Arg-Gln-Glu-Met-Ser-Lys-Asp-Leu-Glu-Glu-Val-Lys-Ala-Lys-
                                     90                                     100
Val-Gln-Pro-Tyr-Leu-Asp-Asp-Phe-Gln-Lys-Lys-Trp-Gln-Glu-Met-Glu-Leu-Tyr-Arg-Gln-
                                     110                                    120
Lys-Val-Glu-Pro-Leu-Arg-Ala-Glu-Leu-Gln-Glu-Gly-Ala-Arg-Gln-Lys-Leu-His-Glu-Leu-
                                     130                                    140
Gln-Glu-Lys-Leu-Ser-Pro-Leu-Gly-Glu-Glu-Met-Arg-Asp-Arg-Ala-Arg-Ala-His-Val-Asp-
                                     150                                    160
Ala-Leu-Arg-Thr-His-Leu-Ala-Pro-Tyr-Ser-Asp-Glu-Leu-Arg-Gln-Arg-Leu-Ala-Ala-Arg-
                                     170                                    180
Leu-Glu-Ala-Leu-Lys-Glu-Asn-Gly-Ala-Gly-Arg-Leu-Ala-Glu-Tyr-His-Ala-Lys-Ala-Thr-
                                     190                                    200
Glu-His-Leu-Ser-Tyr-Leu-Ser-Glu-Lys-Ala-Lys-Pro-Ala-Leu-Glu-Asp-Leu-Arg-Gln-Gly-
                                     210                                    220
Leu-Leu-Pro-Val-Leu-Glu-Ser-Phe-Lys-Val-Ser-Phe-Leu-Ser-Ala-Leu-Glu-Glu-Tyr-Thr-
                                     230                                    240
Lys-Leu-Asn-Thr-Gln
                                     245

```

FIGURE 5 - Séquence des acides aminés de l'Apoprotéine A_{II}

2.2.3.2. COPULE LIPIDIQUE

Chaque classe de lipoprotéines renferme, dans des proportions différentes, sans exception tous les constituants lipidiques du sérum. Chaque lipoprotéine apparaît spécialisée dans le transport privilégié d'un ou plusieurs composés lipidiques (Tableau V). En effet :

- les chylomicrons, normalement absents chez le sujet à jeun, ne sont présents dans le sérum qu'en période post-prandiale. Ils sont d'origine exogène et transportent essentiellement des triglycérides;

- les VLDL transportent des triglycérides endogènes (60 %) et du cholestérol (15 %);
 - les LDL transportent surtout le cholestérol et ne contiennent pratiquement que l'apolipoprotéine B;
 - les HDL sont riches en cholestérol (18 %) de type A et en phospholipides (30 %). Elles sont caractérisées par les apolipoprotéines A₂.
- C'est la forme de retour du cholestérol des tissus vers le foie où il sera excrété (voir plus loin).

TABLEAU V - Répartition approximative des fractions lipidiques (%) des différentes lipoprotéines.

<u>Lipoprotéines</u>	<u>Protéines</u>	<u>Phospho- lipides</u>	<u>Cholestérol</u>	<u>Triglycérides</u>
HDL	50	30	18	2
LDL	23	22	45	10
VLDL	10	15	15	60
Chylomicrons	1	7 7	7	85

TABLEAU VI - Contenu en apoprotéines des différentes lipoprotéines (%) d'après SCHAEFFER, TISENBERG et LEVY.

<u>Apoprotéines</u>	<u>Chylomicrons</u>	<u>VLDL</u>	<u>LDL</u>	<u>HDL</u>
A _I	7,4	traces	-	67
A _{II}	4,2	traces	-	22
B	22,5	36,9	98	traces
C _I	15	3,3	traces	1 - 3
C _{II}	15	6,7	traces	1 - 3
C _{III}	36	39,9	traces	3 - 5
D	-	-	-	+
E	-	13,0	traces	+

2.2.4. MÉTABOLISME DES LIPOPROTÉINES (d'après G. SEZILLE)

2.2.4.1. METABOLISME INTRAVASCULAIRE DES CHYLOMICRONS

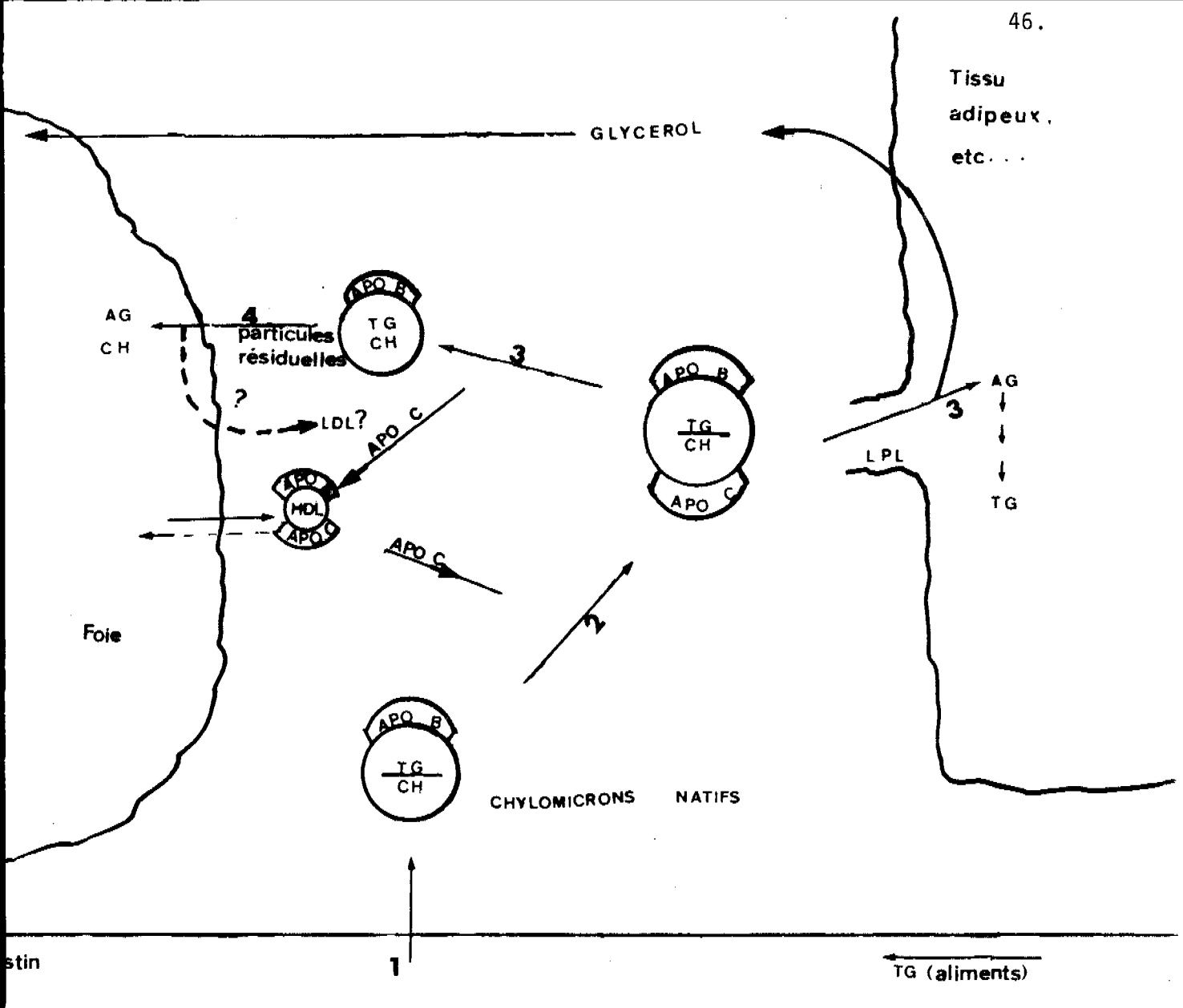
Dans le sang circulant la demi-vie des TG des chylomicrons est brève, de l'ordre de 20 minutes. Ceci est dû au fait qu'en période nutritionnelle, la lipoprotéine-lipase (LPL) du tissu adipeux (cf. figure suivante) est très active sous l'effet de l'hyper-insulinémie déclenchée, les chylomicrons étant, par ailleurs, le substrat de choix pour cette enzyme répartie à la surface de l'endothélium des capillaires sanguins de divers tissus (tissu adipeux, myocarde, muscles squelettiques, poumons, etc.)

Pour être "reconnus" par l'enzyme, les chylomicrons natifs doivent d'abord recevoir, des HDL, un complément d'apo-C : apo-CII, en particulier, indispensable à l'action de la lipoprotéine-lipase. Les chylomicrons perdent ainsi progressivement leurs triglycérides hydrolysés en acides gras qui pénètrent en majorité dans les cellules voisines et en glycérol qui sera capté par le foie.

Les apo-C devenues excédentaires quittent progressivement les chylomicrons, réduits de taille, au profit des HDL (réservoir d'apo-C). L'action de la LPL s'éteint progressivement et les "particules résiduelles" obtenues contiennent la totalité de l'apo-B, l'essentiel du cholestérol et des phospholipides, 10 à 20 % des TG des chylomicrons initiaux.

Il est classiquement admis que le foie qui possède une triglycéride-lipase (TGLH) analogue à la LPL capte, après hydrolyse des TG, ces particules résiduelles; il n'est cependant pas exclu qu'après perte des TG au niveau hépatique on aboutisse, comme pour les VLDL, aux LDL plasmatiques.

70 g à 120 g de graisses alimentaires sont ainsi quotidiennement concernés. L'épuration globale, après repas, se fait en moins de 6 heures chez un sujet normalement pourvu en LPL. Par contre, tout déficit enzymatique conduit à des hyperchylomicronémies et donc à des hypertriglycéridémies souvent massives et permanentes.



HDL : High Density Lipoproteins TG : triglycérides
 LPL : lipoprotéine-lipase CH : cholestérol
 AG : acides gras

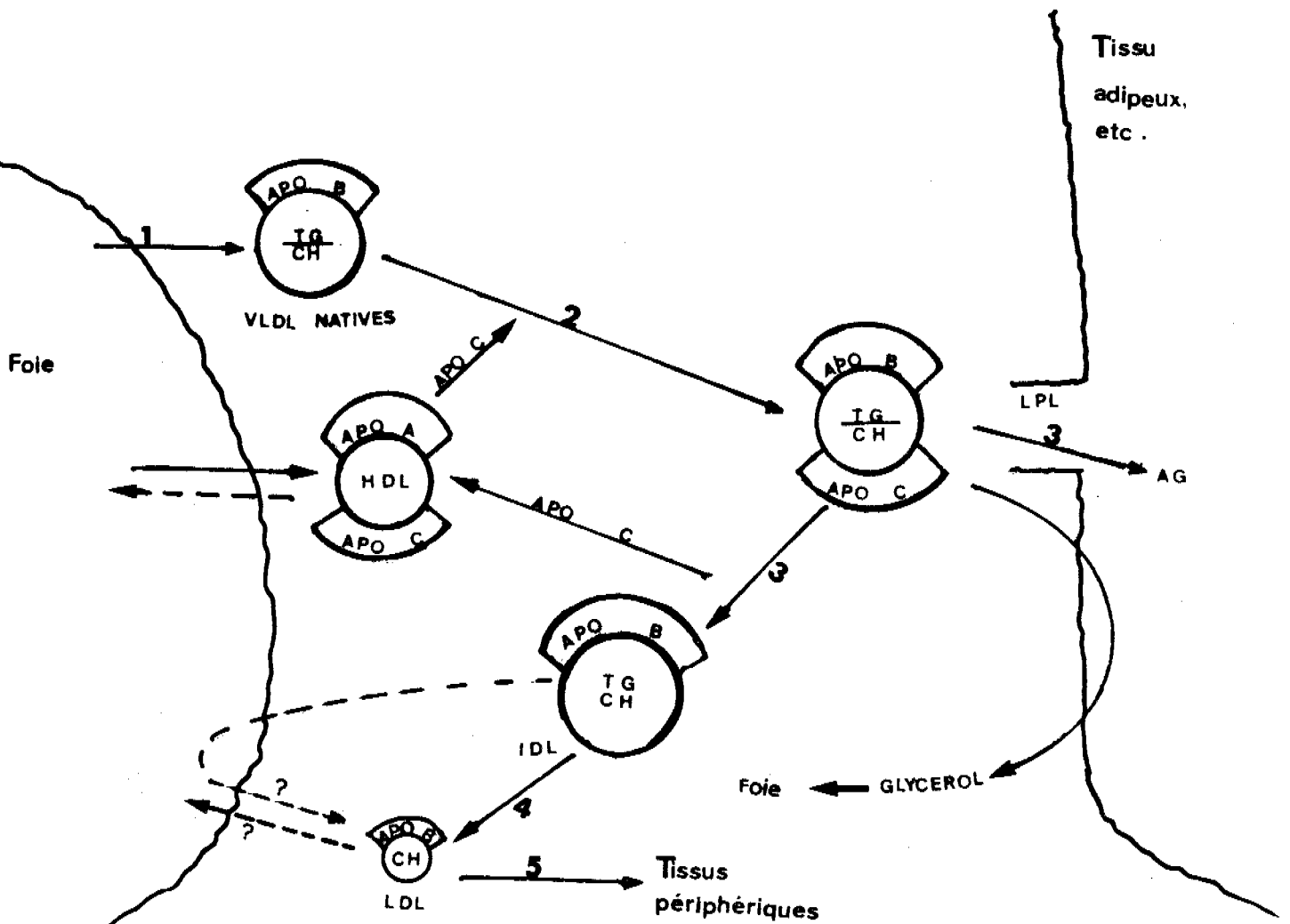
FIGURE 5 - Métabolisme des chylomicrons.

2.2.4.2. METABOLISME INTRAVASCULAIRE DES VLDL

Le foie secrète des VLDL natives riches en TG endogènes et également porteuses de cholestérol libre.

Comme les chylomicrons, ces VLDL reçoivent dans le sang un complément d'apo-C fourni par les HDL.

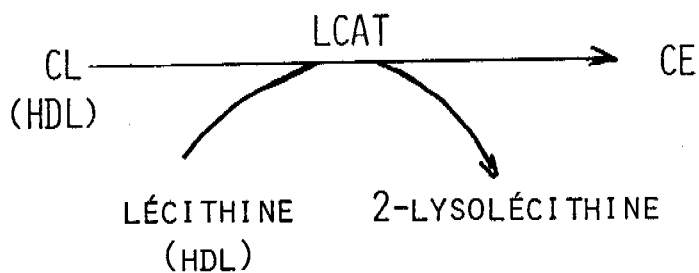
15 à 50 g de TG-VLDL sont alors épurés quotidiennement, comme précédemment, par la LPL des tissus extra-hépatiques; la demi-vie des TG est ici de l'ordre de 4 heures car les VLDL moins riches en TG et de taille moindre constituent un moins bon substrat que les chylomicrons.



VLDL : Very Low Density Lipoproteins
 IDL : Intermediary Density Lipoproteins
 LDL : Low Density Lipoproteins (LDL₁)
 HDL : High Density Lipoproteins (LDL₂)

LPL : lipoprotéine-lipase
 AG : acides gras
 TG : triglycérides
 CH : cholestérol

FIGURE 6 - Métabolisme intravasculaire des VLDL.



Parallèlement s'effectue un enrichissement en cholestérol estérifié provenant (échange) de l'action de la Lécithine-Cholestérol-Acyl-Transférase (LCAT) qui estérifie le cholestérol libre des HDL à l'aide d'acides gras (en général insaturés) figurant en position interne dans les lécithines de ces mêmes HDL.

Par perte progressive de TG et d'apo-C qui retournent sur les HDL, on passe aux LDL₁ (IDL) déjà riches en CE et apo-B mais contenant encore des proportions appréciables de TG.

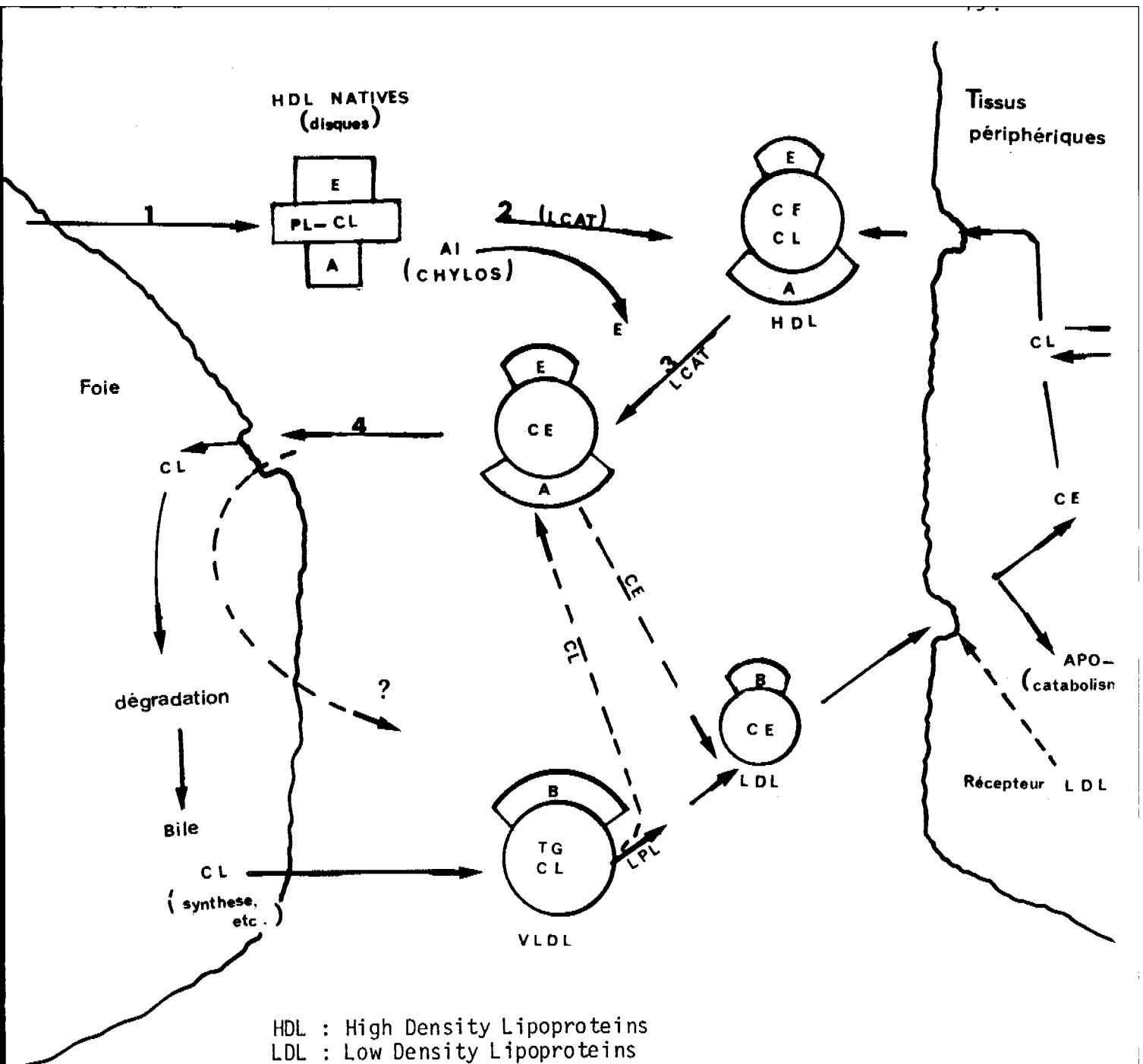
Ces "particules résiduelles" (LDL₁) continuent à perdre leurs TG par un processus lent ne mettant plus en jeu la LPL des tissus extra-hépatiques mais impliquant probablement la TGLH (foie). On passe ainsi au stade des LDL₂ riches en CE et ne contenant plus que l'apo-B des VLDL initiales. Chez l'homme, les LDL₂ représentent le stade ultime du catabolisme intravasculaire des VLDL.

Chez le sujet sain, la destinée des LDL₂ formées s'identifie à celle de l'apo-B (demi-vie de l'ordre de 3 jours). Le foie a longtemps été considéré comme le site majeur du catabolisme des LDL₂, mais on sait maintenant qu'il est essentiellement assuré par les tissus extra-hépatiques disposant de sites récepteurs membranaires. La fixation des LDL₂ est suivie d'une protéolyse de l'apo-B et d'une hydrolyse de la liaison ester de CE avec cession du CL formé aux membranes cellulaires (fourniture de cholestérol aux tissus utilisateurs).

2.2.4.3. HDL CIRCULANTES

Les HDL natives d'origine hépatique ont une structure en double feuillet (forme disque). Elles sont riches en phospholipides, en cholestérol libre, en apo-E mais contiennent peu d'apo-A (E/A-I = 10/1); elles transportent en outre des apo-C échangeables avec les VLDL et les chylomicrons.

L'intestin est la source majeure d'apo-A-I transportée par les chylomicrons dont le catabolisme intravasculaire conduit, sous l'action de la LPL du tissu adipeux, à des particules résiduelles ensuite métabolisées par le foie. Au niveau des espaces de DISSE, les apo-A-I seraient transférées sur les HDL natives où elles remplaceraient progressivement les apo-E. La LCAT des HDL ainsi activée par les apo-A-I transférées induit l'estérification du cholestérol libre; le cholestérol estérifié, hydrophobe, formé peut passer sur les VLDL et les LDL₁ (cf. § précédent) mais il peut aussi s'insérer dans la partie hydrophobe des HDL, repoussant les deux feuillets pour donner rapidement à la macromolécule la configuration sphérique qu'on lui reconnaît dans le sérum pour un rapport E/A-I = 1/7. L'inclusion de CE au sein de la molécule laisse en périphérie des places libres pour de nouvelles molécules de CL.



HDL : High Density Lipoproteins
 LDL : Low Density Lipoproteins
 VLDL : Very low Density Lipoproteins
 LCAT : Lecithin Cholesterol Acyl Transferase (associée aux HDL)
 LPL : Lipoprotéine-lipase (associée au tissu adipeux)
 PL : Phospholipides
 CL : Cholestérol libre
 CE : Cholestérol estérifié
 A, B, E, : Apo-lipoprotéines

FIGURE 7 - HDL et retour du cholestérol des tissus vers le foie.

Comme les LDL, les HDL pourraient s'accrocher (par l'apo-E) aux sites récepteurs membranaires des tissus extra-hépatiques pour y recevoir du CL qui serait ensuite estérifié en vue d'un retour au foie qui est le seul organe capable de cataboliser le cholestérol en acides biliaires en vue de son excrétion.

Les HDL (demi-vie plasmatique des apo-A de l'ordre de 5 jours) pourraient céder leur cholestérol au foie et recycler dans le sang : les lysosomes du foie et des reins interviendraient dans le catabolisme mais des travaux récents attribuent également un rôle majeur aux tissus extra-hépatiques.

Il se pourrait donc que le foie synthétise l'apo-B (VLDL -- LDL₁ -- LDL₂) en vue de la distribution de cholestérol aux tissus périphériques et l'apo-E des HDL en vue du retour au foie du cholestérol usagé. Les HDL constituent en outre un réservoir d'apo-C (cédées aux chylomicrons et aux VLDL natifs) indispensables à l'action de la LPL (apo-C_{II} activatrice, apo-C_{III} inhibitrice ?) chargée de l'épuration des TG. En contre-partie, l'apo-A_I (activatrice de la LCAT des HDL) serait fournie aux HDL natives par les chylomicrons d'origine intestinale.

2.3. CLASSIFICATION DES HYPERLIPOPROTÉINÉMIES

2.3.1. DÉFINITION

On désigne sous le nom d'hyperlipidémie "un état dysmétabolique caractérisé par l'augmentation de l'une ou de plusieurs des fractions lipidiques circulantes" (J. JAILLARD). En pratique, on le considère comme surcharge plasmatique soit en cholestérol, soit en triglycérides, soit une augmentation de ces deux catégories de lipides dans des proportions à peu près équivalentes.

Nous savons que les lipoprotéines sont des complexes constitués de lipides circulants et d'apoprotéines qui en assurent la solubilisation et favorisent leur métabolisme (cf. plus haut). Elles s'individualisent notamment en fonction des quantités respectives du cholestérol et des triglycérides qu'elles comportent. L'élévation de leur taux sanguin détermine de façon précise les états d'hyperlipidémies et notamment les "hyperlipoprotéinémies".

Ces états peuvent être secondaires à une affection déterminée (hyperthyroïdie, syndrome néphrotique, ...) et cèdent alors au traitement étiologique. Souvent, il peut s'agir d'hyperlipoprotéinémies primitives. Dans ce cas, il faut faire un diagnostic à la fois clinique et biologique. Le diagnostic biologique comporte les dosages du cholestérol, des triglycérides sanguins, l'électrophorèse des lipoprotéines, et l'étude de l'aspect du sérum. Cette exploration peut être affinée par d'autres techniques telles que le dosage du HDL-cholestérol, le dosage couplé des apolipoprotéines A et B. Ce typage est indispensable car les hyperlipidémies ne sont pas affectées toutes du même potentiel athérogène. Ce qui fait que, sur le plan thérapeutique, elles

réclament des mesures diététiques et des médications qui leur sont plus ou moins propres.

Les hyperlipoprotéïnémies constituent de nos jours un problème préoccupant vu le rôle qu'elles jouent dans l'épidémiologie de l'athérosclérose et leur fréquence en pratique médicale.

2.3.2. DIAGNOSTIC TYPOLOGIQUE ET PATHOGÉNIE DES HYPERLIPOPROTÉINÉMIES PRIMITIVES (OU "IDIOPATHIQUES")

La classification internationale des hyperlipoprotéïnémies (1970) dérive de celle proposée par FREDRICKSON et coll. en 1965. Elle est basée sur les aspects électrophorétiques obtenus sur papier en tampon albumineux, selon la technique de LEES et HATCH, et individualise six types d'hyperlipoprotéïnémies. Cette classification, ainsi que celle proposée par DE GENNES à partir de critères de formule lipidique, sont loin d'être idéales puisqu'elles ne se fondent pas sur la description d'un trouble métabolique précis. Néanmoins, les progrès techniques réalisés ces dernières années dans les méthodes d'étude des lipoprotéines et les nombreux travaux effectués pour rechercher l'erreur métabolique fondamentale à l'origine des hyperlipoprotéïnémies semblent montrer que l'individualisation des différents types de la classification internationale (hormis peut-être le type IIb) repose sur des bases pathogéniques valables bien qu'encore incomplètes.

2.3.2.1. HYPERLIPOPROTEINEMIE DE TYPE I

ou maladie de BURGER et GRUTZ : cette variété d'hyperlipoprotéïnémie est une affection exceptionnelle, héréditaire, transmise sur le mode autosomique récessif. Le début de la maladie se situe dans la première décennie de la vie et la traduction clinique, habituellement silencieuse, ne peut se révéler qu'au cours des poussées lipidiques. Elle correspond à l'hyperglycémie exogène ou lipido-dépendante de DE GENNES.

Le tableau clinique associe classiquement des crises douloureuses abdominales, une xanthomatose cutanée éruptive, une hépatosplénomégalie, une asthénie avec somnolence post-prandiale et une lipémie rétinienne (n'entraînant pas d'altération visuelle). L'évolution se caractérise par des crises éventuelles de pancréatite et par l'absence de complications vasculaires du fait de l'absence de pouvoir athérogène des lipides concernés.

D'un point de vue biologique, on retrouve à jeun une hyperchylomicronémie qui se traduit par l'observation

d'un sérum lactescent ou crémeux et d'une hypertriglycéridémie majeure. L'électrophorèse des lipoprotéines, réalisée de préférence sur gel de polyacrylamide en gradient discontinu, objective une bande importante de chylomicrons qui restent au point de dépôt et une diminution des autres fractions. Le diagnostic est confirmé par le dosage de la lipoprotéine-lipase au niveau du plasma d'un sujet ayant reçu au préalable une injection intra-veineuse d'héparine ou, mieux, au niveau du tissu adipeux. Ce dosage révèle l'existence d'un déficit en cette enzyme, partiel ou total, à l'origine de l'affection. Par ailleurs, l'étude de dépendance alimentaire montre l'effet bénéfique de la prescription d'un régime pauvre en graisses. Le traitement est essentiellement diététique : régime hypolipidique supplémenté par des triglycérides contenant des acides gras à chaîne moyenne absorbés directement par la voie porte.

2.3.2.2. HYPERLIPOPROTEINEMIE DE TYPE IIa

Connue également sous le nom d'hypercholestérolémie essentielle, cette maladie familiale est transmise selon un mode autosomique dominant.

Le tableau clinique associe :

- une xanthomatose (1/3 des cas) en général découverte entre 20 et 30 ans et caractérisée par des xanthomes tendineux (au niveau des tendons d'Achille ou des tendons extenseurs des mains), sous-périostés et aponévrotiques, au point d'insertion des tendons, cutanés plans ou tubéreux (genoux, pieds, coudes);
- un arc cornéen (3/4 des cas) ou gérontexon.

La précocité, la fréquence et l'intensité des complications cardiovasculaires qui surviennent au décours de cette affection en font la plus grave des hyperlipoprotéinémies idiopathiques.

Du point de vue biologique, l'hyperlipoprotéinémie de type IIa se caractérise par une surcharge plasmatique exclusive en LDL. Le sérum à jeun est parfaitement clair. L'hypercholestérolémie, en général modérée (7,2 mmol/l) mais pouvant atteindre parfois jusqu'à 30 mmol/l, est d'autant plus importante que la maladie est grave. La triglycéridémie est normale. Le lipoprotéinogramme, qui n'est pas nécessaire au diagnostic, montre une augmentation des bêta-lipoprotéines LDL.

Des travaux récents, réalisés en particulier par GOLDSTEIN et BROWN, ont révélé que deux étiologies sont possibles :

- un défaut de catabolisme des LDL du fait d'une non-reconnaissance par les récepteurs tissulaires;

- un excès de synthèse du cholestérol du fait d'une anomalie des processus de régulation par rétrocontrôle de l'activité de l'hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A-réductase.

Cette variété d'hyperlipoprotéïnémie est caractérisée par un potentiel athérogène important. Le traitement associe un régime pauvre en cholestérol et riche en graisses insaturées à des hypocholestémiants (cholestyramine, clofibrate et dérivés, procétafène, etc.)

2.3.2.3. HYPERLIPOPROTEINEMIE DE TYPE III

Décrite par FREDRICKSON et coll. en 1967, cette variété d'hyperlipoprotéïnémie se caractérise par la présence dans le plasma d'une lipoprotéine anormale qui, bien que flottant à une densité de 1,006 en ultracentrifugation, possède une mobilité bêta en électrophorèse sur papier en tampon albumineux, sur acétate de cellulose et sur gel d'agar. C'est une maladie héréditaire transmise sur le mode autosomique dominant. Elle s'apparente aux hyperlipidémies mixtes de DE GENNES. On distingue :

- l'hyperlipidémie mixte dans sa forme majeure ou xanthomatose tubéreuse pure;
- l'hyperlipidémie mixte dans sa forme mineure.

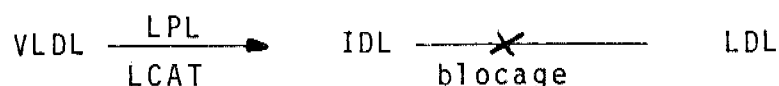
Le tableau clinique est peu caractéristique. Des dépôts lipidiques extravasculaires sont rencontrés dans les formes majeures, en particulier des xanthomes localisés aux plis palmaires qui seraient pathognomoniques de l'affection. L'expression vasculaire fait toute la gravité de ce type d'hyperlipoprotéïnémie qui est très athérogène. La forme mineure engendre le plus de complications cardiovasculaires. Il n'y a aucun signe clinique excepté un xanthelasma tardif.

Le dépistage de l'hyperlipoprotéïnémie de type III est essentiellement biologique. L'aspect du sérum à jeun est généralement opalescent. Le dosage des lipides sériques montre une élévation conjointe de la cholestérolémie et de la triglycéridémie.

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en gradient discontinu permet un diagnostic d'orientation. En effet, malgré l'élévation du taux de cholestérol, sur ce support, la bande correspondant aux LDL est faiblement marquée ou absente alors que celles correspondant aux VLDL et surtout aux IDL sont très accentuées. Les rapports cholestérolémie/triglycéridémie et triglycéridémie/cholestérolémie sont tous deux inférieurs à 2,5.

Le traitement est diététique (régime hypocalorique) et médicamenteux (clofibrate et dérivés, procétofène).

En ce qui concerne la pathogénie de l'hyperlipoprotéïnémie du type III, les travaux les plus récents plaident en faveur de l'existence, à l'origine du type III, d'un blocage dans le catabolisme intravasculaire des VLDL entraînant une accumulation de lipoprotéines intermédiaires ou IDL :



Le mécanisme de ce blocage est mal connu. On trouve, dans le sérum des sujets atteints, une concentration anormalement élevée en une apolipoprotéine qui est un peptide riche en arginine (apo-E). L'apo-E des sujets normaux peut être scindée par isoélectrofocalisation en trois fractions E_1 , E_2 , E_3 . Dans l'hyperlipoprotéïnémie de type III, la fraction E_3 est absente et ce déficit pourrait être à l'origine du blocage dans le catabolisme des IDL en LDL.

2.3.2.4. HYPERLIPOPROTEINEMIE DE TYPE IV

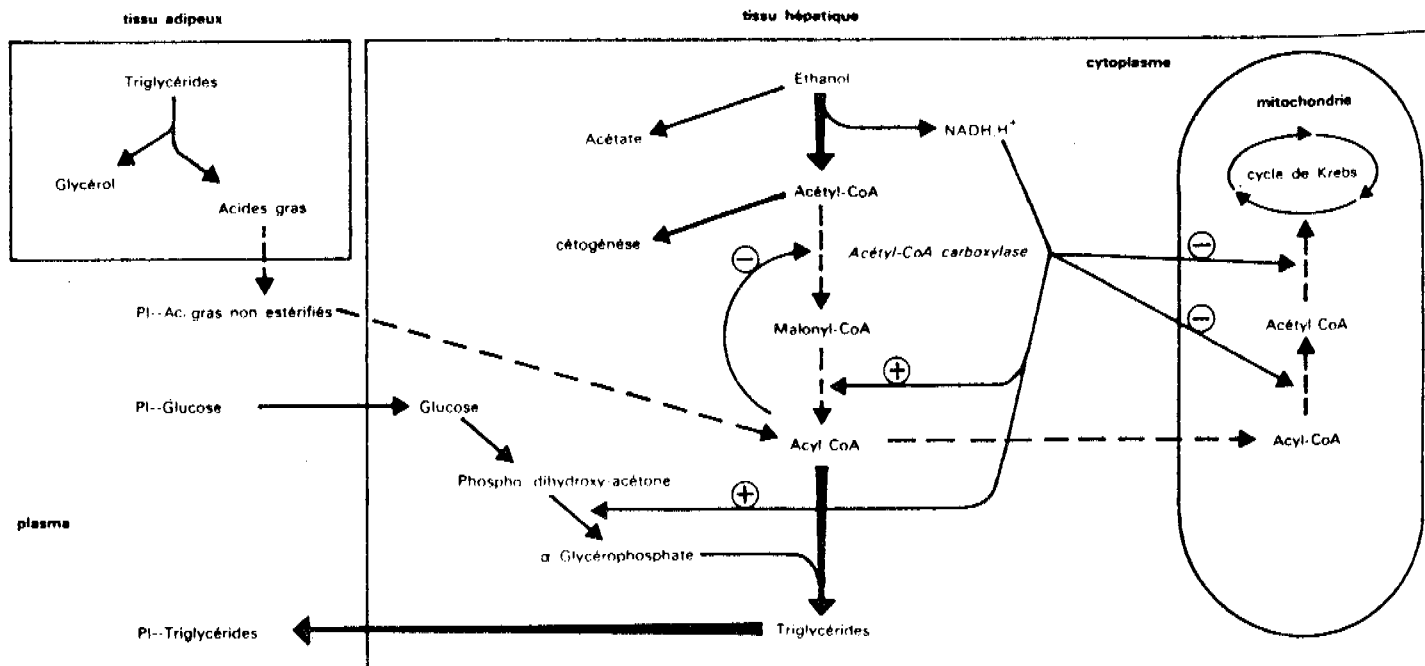
Cette variété constitue la forme la plus commune des hyperlipoprotéïnémies de l'adulte. Elle est génétiquement transmise et se rencontre entre 20 et 60 ans.

Le tableau clinique n'est pas très suggestif et se réduit, dans la plupart des cas, à une asthénie avec somnolence, à des troubles digestifs et à une surcharge adipeuse à prédominance facio-cervico-tronculaire. Les xanthomes éruptifs sont plus rares que dans le type I. Le pouvoir athérogène de cette hyperlipoprotéïnémie n'est pas négligeable, sans pour autant se comparer à celui qui s'attache à l'hypercholestérolémie essentielle.

Du point de vue biologique, c'est une hyperglycémie endogène qui se caractérise par une surcharge plasmatique en VLDL. Le sérum à jeun est, selon l'importance de la surcharge lipidique, opalescent, trouble ou plus rarement lactescent. La concentration plasmatique de triglycérides, toujours élevée, varie d'un jour à l'autre en fonction du régime. Lorsque la surcharge plasmatique en VLDL est importante, la cholestérolémie peut être élevée mais le rapport triglycérides/cholestérol est toujours supérieur à 2,5. L'électrophorèse objective une augmentation des VLDL qui peut être quantifiée par le test au dodécylsulfate de sodium (BURSTEIN). Il s'associe très fréquemment un trouble du métabolisme des glucides avec une courbe d'hyperglycémie provoquée de type diabétique. Une hyperuricémie est fréquemment associée à l'hyperglycémie.

La pathogénie de l'hyperlipoprotéïnémie de type IV est encore imparfaitement connue. Trois formes peuvent être distinguées en fonction de la dépendance diététique (DE GENES) :

- l'hyperglycériémie majeure endogène, dépendante des hydrates de carbone, est la plus commune. Elle semble liée d'une part à un accroissement de la synthèse hépatique des VLDL, et d'autre part à un défaut d'épuration des triglycérides circulants;
- l'hyperglycériémie majeure endogène, dépendante de l'alcool, est intimement liée à la consommation d'éthanol dont l'importance peut être variable. Sa pathogénie est parfaitement élucidée;



Mécanisme de l'hypertriglycéridémie endogène post-alcoolique.

- l'hyperglycériémie majeure endogène, dépendante d'une surcharge pléthorique, semble devoir être individualisée, vu que la réduction de l'excès pondéral, quel que soit le régime, corrige les anomalies lipidiques.

Le traitement est essentiellement diététique et nécessite :

- un régime hypoglucidique, hypocalorique ou isocalorique dans les formes glucido-dépendantes;

- un régime sans alcool dans les formes alcoolo-dépendantes;
- un régime hypocalorique dans les formes dépendant d'une surcharge pléthorique.

Il peut être complété par un traitement médicamenteux (Clofibrate et dérivés, procétafène).

2.3.2.5. HYPERLIPOPROTEINEMIE DE TYPE V

Elle correspond à une hyperglycéridémie majeure à la fois exogène et endogène. C'est une forme rare, mais sévère, que l'on rencontre dans le diabète insulino-dépendant, le syndrome néphrotique, les hyperlipémies à induction éthylique pour lesquelles le taux des triglycérides dépasse 70 g/litre (7,99 mmol/l).

L'individualisation du type V sous forme d'une entité définie est souvent excessive vu que, sous l'effet du régime, une hyperlipoprotéïnémie de type I ou IV peut évoluer en hyperlipoprotéïnémie de type V. Par ailleurs, sur le plan génétique, on trouve fréquemment, dans les familles de probandus ayant un type V, des descendants ayant des types I ou IV. Les hyperlipoprotéïnémies de type V, massives, avec sérum lactescent ou crémeux à jeun, sont généralement alcoolo-dépendantes et régressent spontanément lors du sevrage.

Il n'en reste pas moins que, dans certains cas, ces hyperlipoprotéïnémies semblent être authentiques avec dépendance alimentaire à la fois glucidique et lipidique.

Cliniquement, on retrouve les éléments propres des hyperglycéridémies endogènes et exogènes avec xanthomes éruptifs, fréquence des douleurs abdominales et des crises pancréatiques, hépatosplénomégalie et lipémie rétinienne.

Biologiquement, l'hyperglycéridémie, lorsqu'elle est importante, s'accompagne d'hypercholestérolémie. L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en gradient discontinu objective la présence de chylomicrons et l'augmentation des VLDL. Les troubles du métabolisme glucidique sont fréquents.

Le traitement est diététique (régime hypocalorique) et médicamenteux.

2.3.2.5. HYPERLIPOPROTEINEMIE DE TYPE IIb

Encore appelée type II+IV ou type VI (BROWN), cette variété est de signification discutée et il n'est pas certain qu'elle représente une entité particulière définie. D'après JAILLARD et coll., il s'agirait plutôt d'une "formule dyslipidique" qui, le plus souvent, dérive d'une hyperglycémie glucido-dépendante traitée par le clofibrate qui active le catabolisme des VLDL.

Type	Aspect du plasma	Cholestérol	Triglycérides	Fractions majorées	Densité de flottation, fractions majorées	Fréquence globale	Pouvoir athérogène	Electrophorèse des lipoprotéines du sérum sur papier en tampon albumineux
I	Lactescent	Concentration habit.		Chylomicrons	d 0,94	très rare	0	
IIa	Clair	Concentration habit.		β -lipoprotéines	1,019	0,1-0,5 %	+++	
IIb II+IV	Clair ou trouble			β -lipoprotéines + pré- β -lipoprotéines	1,019 d 1,006	1,5 %	+++	
III	Trouble			β -lipoprotéines "Broad Band"	1,006 d 1,019	rare	++++	
IV	Opalescent			pré- β -lipoprotéines	d 1,006	8 à 14 %	++	
V	Lactescent			Chylomicrons + pré- β -lipoprotéines	d 0,94 d 1,006	1 %	+	

TABLEAU VII - Classification internationale des hyperlipoprotéinémies. Leur fréquence et leur pouvoir athérogène.

2.3.3. ÉTUDE BIOLOGIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIQUE DES HYPERLIPOPROTÉINÉMIES SECONDAIRES

Il existe un nombre important d'affections qui s'accompagnent, à un moment de leur évolution, d'une augmentation du taux de lipides circulants. Avant d'affirmer le caractère primitif d'une hyperlipoprotéinémie, il importe d'éliminer les hyperlipoprotéinémies secondaires qui ne répondent qu'au traitement étiologique de l'affection sous-jacente.

2.3.3.1. HYPERLIPOPROTEINEMIES SECONDAIRES AU DIABETE SUCRE

Au cours du diabète insulino-dépendant, l'hyperlipoprotéinémie témoigne du déséquilibre des métabolismes glucidique et lipidique, en raison de l'hypo-insulinisme. Elle se caractérise par une surcharge plasmatique en VLDL avec hypertriglycéridémie d'origine endogène. L'aspect électrophorétique évoque un type IV de la classification internationale. Le coma diabétique s'accompagne parfois d'hyperchylomicronémie avec sérum lactescent à jeun. L'hypertriglycéridémie est, dans ce cas, d'origine exogène ou mixte et on observe à l'électrophorèse des aspects de type I ou V. C'est la carence insulinique qui est à l'origine de l'hypertriglycéridémie. L'insuline, en diminuant la teneur en AMPc de l'adipocyte, déprime la lipolyse (baisse de l'activité de la triglycéride-lipase hormono-sensible) et active la lipogénèse tissulaire (augmentation de l'activité de la lipoprotéine-lipase). La déficience insulinique entraîne une augmentation de la synthèse hépatique des VLDL du fait d'un apport massif d'acides gras libres au foie et ralentit l'épuration des triglycérides.

Les anomalies lipidiques régressent rapidement sous l'effet d'une insulinothérapie adaptée. L'hyperlipoprotéinémie qu'on rencontre fréquemment au décours du diabète de la maturité non insulino-dépendante se rattache en général également au type IV de la classification internationale (hypertriglycéridémie, augmentation des VLDL). Elle est sous la dépendance de l'hyperinsulinisme secondaire à une insulino-résistance tissulaire périphérique qui augmente la synthèse des acyl-CoA, des triglycérides et donc des VLDL au niveau de l'hépatocyte.

2.3.3.2. HYPERLIPOPROTEINEMIES SECONDAIRES AUX AFFECTIONS THYROÏDIENNES

L'hypothyroïdie (myxoedème) entraîne une augmentation de la teneur du sérum en LDL et parfois en VLDL (aspect de type IIa, IIb, III ou IV). L'hypercholestérolémie, liée

à une diminution du catabolisme du cholestérol, est souvent à l'origine de la découverte du myxoedème. L'hypertriglycéridémie associée est due à un déficit de l'épuration des triglycérides consécutif à une diminution de l'activité lipoprotéino-lipasique (normalement augmentée par les hormones thyroïdiennes).

L'hyperthyroïdie s'accompagne d'hypertriglycéridémie et d'hypercholestérolémie. Des lipoprotéines anormales de mobilité électrophorétique et de densité de type HDL ont été isolées dans le sérum des sujets hyperthyroïdiens. L'hypertriglycéridémie est due à une augmentation de la synthèse des VLDL secondaire à une hyperlipacidémie liée à l'effet permissif des hormones thyroïdiennes sur la lipolyse au niveau du tissu adipeux.

2.3.3.3. HYPERLIPOPROTEINEMIES SECONDAIRES A LA PRISE DE CONTRACEPTIFS ORAUX

Les hyperlipoprotéinémies constituent le facteur de risque majeur des accidents cardiovasculaires rencontrés lors d'une thérapeutique oestroprogestative prolongée. Les oestrogènes induisent une augmentation de la concentration sérique des VLDL (aspect de type IV) liée à une augmentation de leur synthèse par l'hépatocyte, et à une inhibition de l'activité lipoprotéine-lipase du tissu adipeux. A l'opposé, les progestatifs diminuent en général le taux sanguin de triglycérides en augmentant leur épuration (intérêt de l'association oestrogènes-progestatifs).

2.3.3.4. HYPERLIPOPROTEINEMIES SECONDAIRES AUX AFFECTIONS HEPATOBILIAIRES

Les glycogénases hépatiques de type I, III, IV s'accompagnent d'hypertriglycéridémie avec augmentation des VLDL induites par l'hypertriglycéridémie secondaire à la mobilisation des graisses de réserve.

L'obstruction biliaire intra- ou extra-hépatique entraîne une augmentation de la concentration sérique des phospholipides et du cholestérol non estérifié avec apparition de lipoprotéines anormales (LpX) qui possèdent en gel d'agar une mobilité électrophorétique inverse de celle des autres lipoprotéines. On observe, au lipidogramme sur agarose ou acétate de cellulose, une quasi-disparition de la bande des α -lipoprotéines.

2.3.3.5. HYPERLIPOPROTEINEMIES SECONDAIRES AUX AFFECTIONS RENALES

Dans le syndrome néphrotique, l'hyperlipoprotéinémie rencontrée est généralement de type mixte : élévation des

VLDL et surtout des LDL avec hypertriglycémie et hypercholestérolémie (aspect de type IIB). Plus rarement, on observe une hypercholestérolémie isolée (aspect du type IIA) ou une hyperglycémie exogène et endogène (aspect de type V).

L'insuffisance rénale chronique s'accompagne d'hypertriglycémie avec augmentation des VLDL, secondaire à un déficit des processus d'épuration des triglycides objectivé par la diminution de l'activité lipoprotéine-lipase du plasma post-héparine et des tissus.

2.3.3.6. HYPERLIPOPROTEINEMIES ET DYSGLOBULINEMIES

40 % des myélomes multiples s'accompagnent d'hyperlipoprotéinémies qualifiées d'auto-immunes (BEAUMONT). L'hyperlipidémie est mixte et les lipoprotéines migrent mal du fait de leur association aux globulines myélomateuses.

MISE AU POINT DE METHODES

3.1. INTRODUCTION

La meilleure connaissance du rôle métabolique des lipoprotéines a permis de faire évoluer la notion de bilan lipidique classique, ne tenant compte que des dosages des lipides proprement dits, vers celle de bilan athéro-lipidique qui s'intéresse aux formes de transport plasmatique des lipides : c'est ainsi que, dans le bilan lipidique classique, on considèrerait l'hypercholestérolémie en soi comme un risque athérogène, tandis que, dans un bilan athérolipidique, on distinguera soigneusement le cholestérol lié aux apoprotéines A, qui va suivre la voie du catabolisme hépatique et ne présente donc aucun danger, de celui lié aux apoprotéines B qui, inversement, est transporté du foie vers les tissus et dont l'excès signifie un authentique risque d'athérome.

3.2. MÉTHODES UTILISÉES

Nous avons pu expérimenter deux nouvelles techniques :

- le dosage du cholestérol -LPA (lié aux HDL) et du cholestérol -LPB (lié aux VLDL, IDL, LDL et Lp(a)) en utilisant la concanavalline A qui précipite sélectivement ce dernier (athérottest);
- le dosage par immunoprécipitation des apoprotéines A et B (immunodiffusion radiale).

3.2.1. PRÉCIPITATION PAR LA CONCAVALINE A (ATHÉROTEST)

3.2.1.1. PRINCIPE DE LA METHODE

La concanavalline A est une protéine extraite d'une graine : *concanavalia ensiformis*. Cette protéine appartient au groupe des lectines qui possèdent une affinité sélective pour les résidus glucosides et mannosides.

Parmi les apoprotéines des lipoprotéines, seules l'apoprotéine B et l'apoprotéine Lp(a) sont des glycoprotéines. MAC COHATHY et ALAUPOVIC ont pu montrer par chromatographie d'affinité que la concanavalline A interagissait spé-

cifiquement avec l'apo-B. Ces apoprotéines sont présentes dans toutes les lipoprotéines athérogènes : VLDL, IDL, LDL et Lp(a).

ULTRACENTRI- FUGATION	CHYLOMICRONS absents dans le sérum à jeun	VLDL	IDL	LDL	H D L Lp(a)*	L HDL non contamin.
ELECTROPHO- RESE	origine	pré-β	Broad		pré-β	
APOPROTEINES ESSENTIELLES	A, B et C	B et C	B	B	B Lp(a)	A
		LP - B				LP - A

* La Lp(a) encore mal connue est importante car elle peut représenter une cause d'erreur dans l'évaluation quantitative respective des lipoprotéines athérogènes et non athérogènes. En effet, rappelons que les HDL contiennent souvent des lipoprotéines athérogènes, en particulier la Lp(a), qui sont prises en compte par les méthodes de dosage actuelles des lipoprotéines (tous spécialement l'ultracentrifugation considérée jusqu'ici comme méthode de référence).

L'athérotest exploite cette propriété, en précipitant par la concanavaleine A les lipoprotéines contenant deux fractions ainsi séparées :

- la fraction LP-B (lipoprotéines à Apo-B prédominante) regroupant toutes les lipoprotéines athérogènes,
- la fraction LP-A (lipoprotéines à Apo-A), protectrice vis-à-vis du risque athérogène, ne contient que les HDL "vraies".

Ces deux fractions séparées, un dosage enzymatique du cholestérol réalisé sur chacune d'elles permet de définir les deux paramètres LP-A et LP-B cholestérol.

3.2.1.2. VALEURS NORMALES

		<u>Hommes</u>	<u>Femmes</u>
LP-A cholestérol	mmol/l	1	1,15
	g/l	0,40	0,45
LP-B cholestérol	mmol/l	4,90	4,90
	g/l	1,90	1,90
R =	$\frac{\text{LP-A cholestérol}}{\text{LP-B cholestérol}}$	= 0,31 à 0,55	= 0,36 à 0,60

Le rapport d'athérogénicité que l'on écrivait auparavant :

$$\frac{\text{HDL cholestérol}}{\text{LDL cholestérol} + \text{VLDL cholestérol}}$$

doit s'écrire plus correctement sous la forme :

$$\frac{\text{LP-A cholestérol}}{\text{LP-B cholestérol}}$$

Cet indice ne peut être comparé chez deux sujets que pour des valeurs de cholestérol total identiques; en effet, dans ce cas, on peut obtenir des valeurs pour LPA et LPB différentes selon l'individu.

3.2.1.3. MODE OPERATOIRE

On utilise des séries de tubes à hémolyse. Dans le tube n°1, on dépose 250 µl de NaCl 9‰ (blanc réactif); dans le tube n°2, on met 250 µl de NaCl 9‰ et 25 µl de sérum étalon dont la concentration en cholestérol total est connue (étalonnage); dans les tubes n°3, on dépose 250 µl de NaCl à 9‰ et 25 µl de sérum de chaque malade, afin de doser le cholestérol total; dans un flacon contenant la canavoline A sous forme lyophilisée, on ajoute 5 µl d'une solution de NaCl à 9‰ réalisée avec de l'eau bidistillée ayant un pH supérieur ou égal à 6. On obtient ainsi la solution A.

On mesure 250 µl de cette solution A auxquels on ajoute 25 µl de sérum à doser (pour tubes n°4). On agite 15 secondes; on laisse au repos pendant 15 minutes. Ensuite on centrifuge 10 minutes à 3000 tours/minute. On prélève 100 µl de surnageant dans une deuxième série de tubes (tubes n°5).

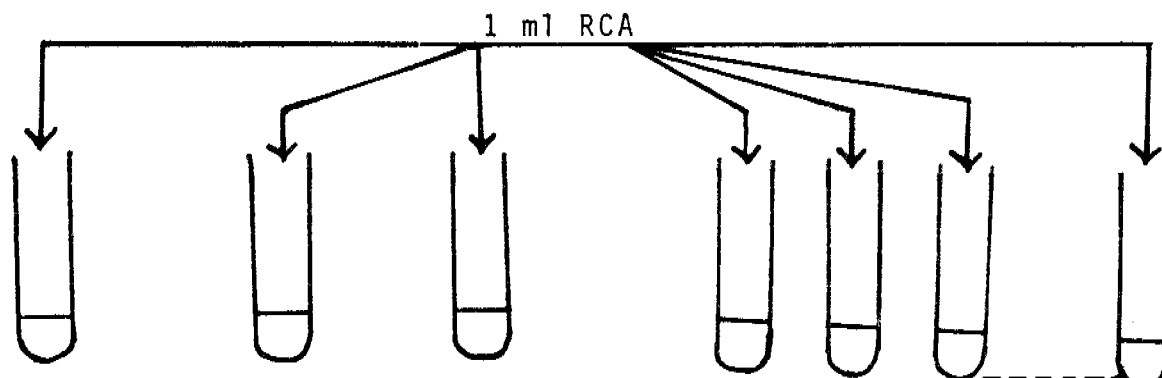
Parallèlement, on élimine le reste du surnageant par retournement, en tapotant sur du papier filtre. Au précipité qui reste au fond du tube, on ajoute 250 µl de solution B (α-D-méthyl glucopyranoside). On agite chaque tube pendant 15 secondes et on laisse au repos 15 minutes à 37°C au bain-marie. On sort les tubes et on les centrifuge 10 minutes à 3000 tours/mn. On prélève 100 µl du précipité dissous.

On prépare les réactifs "cholestérol enzymatique" selon le protocole suivant :

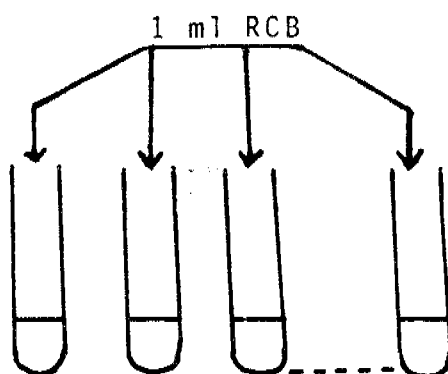
RCA : on ajoute 1 partie de solution B à 9 parties de réactif cholestérol CHOD-PAP BOEHRINGER (réf. 172 626).

RCB : on prend une partie de NaCl à 9‰ pour 9 parties du même réactif BOEHRINGER.

On homogénéise les réactifs. On dépose 1 ml de RCA ou RCB suivant le schéma suivant :



"blanc réactif" tube n°1	"étalonnage" tube n°2	"cholestérol total" tube n°3	"surnageant" tubes n°5
(100 µl de NaCl à 9‰)	(100 µl du mélange NaCl 9‰, 250 µl, sérum é- talon 25 µl)	(100 µl du mé- lange NaCl 9‰, 250 µl, sérum à doser 25 µl)	(100 µl de surnageant provenant du mélange : solution A 250 µl, sérum à doser 25 µl)



"précipité" tubes n°4
(100 µl de précipité dissous)

Ensuite, on incube 15 mn à 37°C. On fait la lecture à 500 nm contre le blanc réactif. On calcule les différentes concentrations en cholestérol des tubes n°4 et n°5 à partir de la concentration en cholestérol du sérum étalon (C).

Pour le cholestérol total, on a la concentration :

$$\frac{A \text{ tube CT}}{A \text{ tube étalon}} \times C$$

A : absorbance.

Pour le LP-A cholestérol :

$$\frac{A \text{ tube surnageant}}{A \text{ tube étalon}} \times C$$

Pour le LP-B cholestérol :

$$\frac{A \text{ tube précipité dissous}}{A \text{ tube étalon}} \times C$$

On fait ensuite le rapport : $\frac{\text{LP-A cholestérol}}{\text{LP-B cholestérol}}$

3.2.2. TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES

Parmi les méthodes modernes les plus spécifiques, l'immunologie connaît actuellement un très grand développement.

L'une des techniques les plus précises fait appel à la néphélémétrie laser que nous n'avons pas pu appliquer, ne disposant pas du matériel nécessaire. Nous avons, par contre, mis au point au laboratoire le procédé d'immuno-diffusion radiale utilisant les anticorps anti-apoprotéine A et anti-apoprotéine B.

3.2.2.1. NEPHELEMETRIE LASER

Il s'agit d'une immuno-précipitation en milieu liquide et en excès d'anticorps antilipoprotéines. La lecture se fait en point final et on apprécie la quantité d'immun-complexes formés par la dispersion d'un rayon laser dans un espace donné.

Cette technique est applicable au dosage de nombreuses protéines, à condition de disposer des anticorps correspondants. C'est une méthode rapide car on obtient les résultats en 1 heure et 30 minutes de manipulation. Elle est sensible et spécifique, et demande peu de réactif et peu de sérum.

3.2.2.2. IMMUNODIFFUSION RADIALE

3.2.2.2.1. Principe

Elle consiste en une immuno-précipitation en milieu gélosé après immunodiffusion radiale simple des apolipoprotéines sériques A et B. La plaque d'immunodiffusion contient, dans un gel d'agarose, un antisérum monospécifique de l'apolipoprotéine considérée. La géométrie de la plaque permet, compte tenu de l'étalonnage, de faire neuf déterminations de sérum.

La réaction immunologique antigène-anticorps demande à température ambiante deux jours de migration pour l'apolipoprotéine A et cinq jours pour l'apolipoprotéine B.

Dans le cas des apolipoprotéines A, la turbidité interférente des LDL, VLDL et chylomicrons est éliminée par clarification préalable avec un réactif au phosphotungstate de magnésium. En ce qui concerne les apolipoprotéines B, la co-précipitation non spécifique possible avec les sérums hyperlipémiques est évitée par dilution dans un tampon phosphate additionné d'un détergent spécial.

C'est une technique très pratique parce qu'elle ne nécessite ni locaux ni matériel spécial et elle est très rapide à mettre en oeuvre; elle demande peu de réactif et de prise d'essai.

3.2.2.2.2. Mode opératoire

Les échantillons des sérums sont préalablement dilués au 1/2 avec une solution physiologique (NaCl 9‰).

Afin de réaliser une courbe étalon qui permette de calculer la teneur en Apo-A et Apo-B des sérums des malades, on dilue les standards : on ajoute à 0,1 ml de sérum standard contenant l'Apo-A ou l'Apo-B 0,1 ml de NaCl 9‰ (pour faire la dilution au 1/2) et 0,3 ml de NaCl 9‰ pour avoir la dilution au 1/4).

La dilution au 1/1 correspond au standard Apo-A ou Apo-B (de concentration en Apo-A et Apo-B connue).

On prend la plaque correspondant aux dosages des Apo-A. On la sort de son emballage aluminium; on ouvre la plaque et on la laisse 5 mn à la température du laboratoire pour éliminer l'eau de condensation. A l'aide d'une micropipette capillaire réglable de type Behring-dispenser, on dépose 5 µl de sérum standard dilué au 1/4 dans le puits n°1, au 1/2 dans le puits n°2 et au 1/1 dans le puits n°3. A partir du quatrième puits jusqu'au douzième, on dépose les sérums échantillons dilués au 1/2. On ferme la plaque et on la met dans un endroit frais. Les apolipoprotéines migrent pendant deux jours. Au bout de 48 heures, on fait la lecture. On mesure le diamètre des anneaux de précipitation à l'aide d'une réglette sur une table spéciale de lecture directe qui donne le diamètre de l'anneau et son carré. A l'aide des valeurs connues des standards, on trace la droite d'étalonnage en portant en ordonnée le carré du diamètre (mm²) et en abscisse les concentrations des trois dilutions standard. Pour chaque malade, on lit la concentration correspondant au carré de diamètre mesuré pour le sérum. Ensuite, on multiplie ce résultat par le facteur de dilution sérique choisi.

Pour l'Apo-B, on procède de la même manière sur une plaque à Apo-B. La lecture ne se fera qu'au bout de cinq jours du fait de la diffusion lente des Apo-B.

Lorsque la diffusion est complète, on obtient pour les deux apolipoprotéines une droite d'étalonnage dont l'ordonnée à l'origine est de $11 \pm 2,5 \text{ mm}^2$.

3.2.2.3. VALEURS NORMALES

Apo-A	2,25 g/l \pm 0,60
Apo-B	0,90 g/l \pm 0,45

Si les Apo-A baissent et deviennent inférieures à 1,65 g/l et si les Apo-B augmentent et deviennent supérieures à 1,35 g/l, il y a un important risque cardio-vasculaire.

R E S U L T A T S

Nous avons voulu présenter deux types de résultats :

- des résultats obtenus par les méthodes pratiquées en routine au laboratoire,
- des résultats fournis par les techniques modernes que nous avons personnellement appliquées.

4.1. RÉSULTATS DES MÉTHODES DE ROUTINE

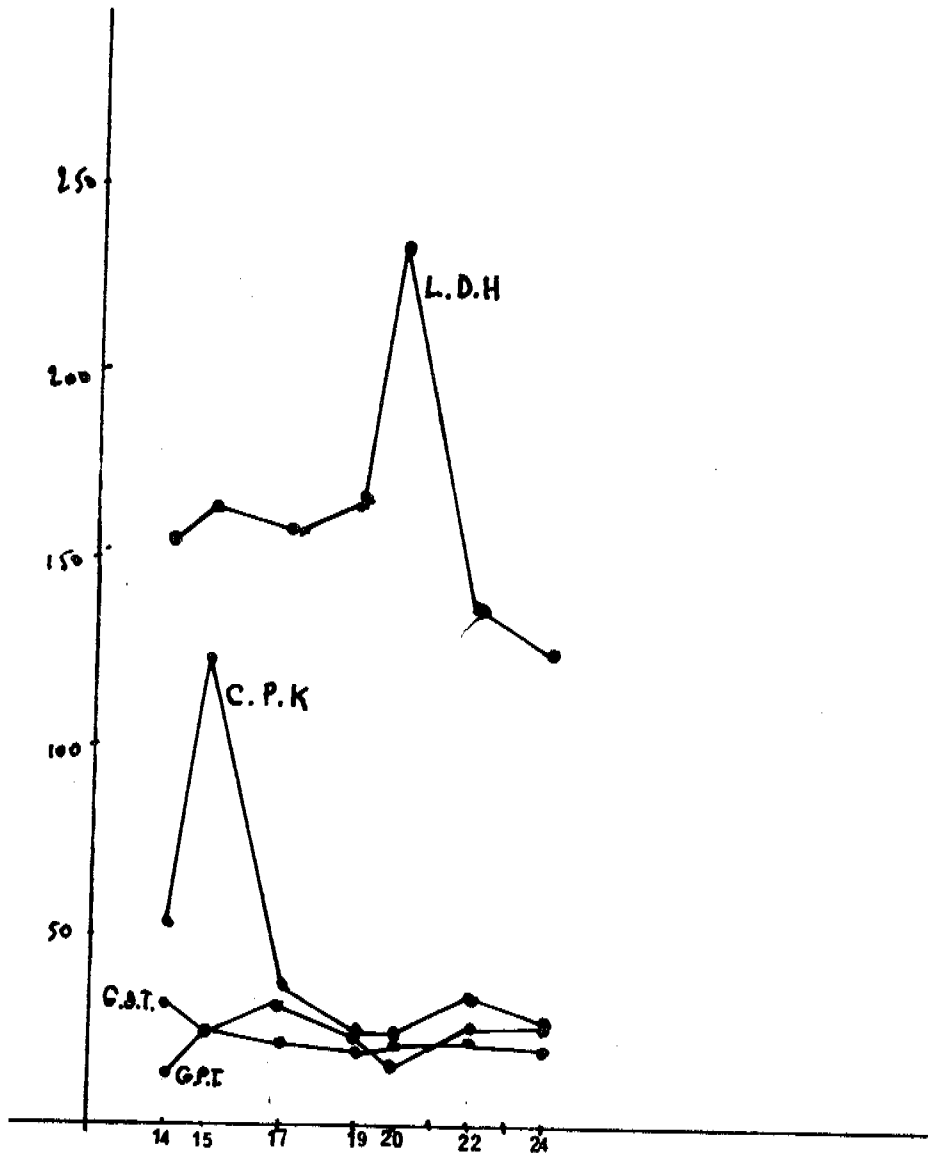
Nous avons rassemblé, pour quatre malades ayant présenté un infarctus du myocarde, l'ensemble des données de l'enzymologie, du bilan lipidique classique et de l'électrophorégramme des lipoprotéines.

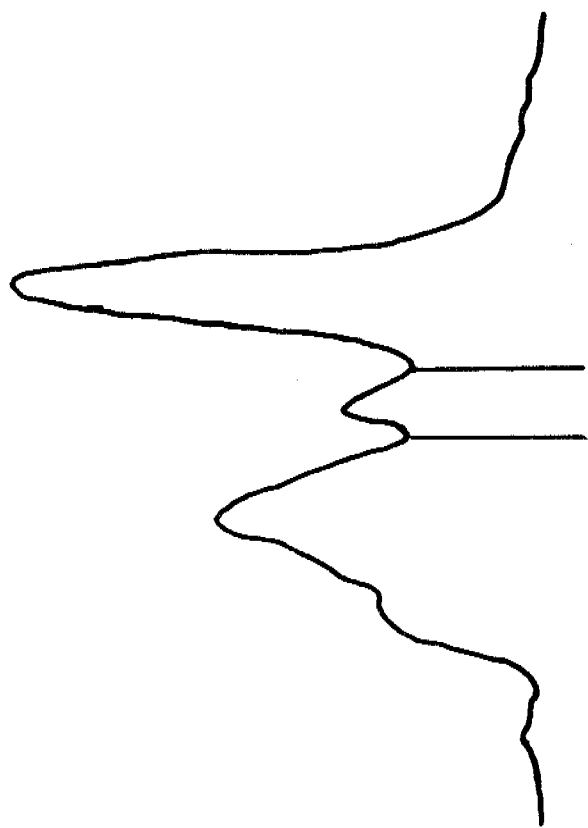
Les dosages enzymatiques ont été pratiqués, par les méthodes décrites précédemment, sur une période allant de 11 à 21 jours. Les dosages enzymatiques sont répétés fréquemment, car ces paramètres subissent une évolution rapide. Par contre, le bilan lipidique classique et l'électrophorégramme des lipoprotéines, réalisés sur le même échantillon de sérum, n'ont été pratiqués qu'une seule fois puisqu'il s'agit de paramètres à évolution très lente sur un sujet non traité.

Pour chacun des quatre malades, on trouvera ci-dessous un tableau de données numériques, le graphique de l'évolution chronologique des activités enzymatiques et le diagramme de l'électrophorèse des lipoprotéines.

BA...

Date	GOT	GPT	LDH	CPK	LT	CT	Trigly- cérides	β %	pré-β %	α %
14.11.80	32	13	156	53	6,7	4,90	1,02	44,9	11,0	44,9
15.	25	25	164	124						
17.	21	32	158	37						
19.	19	23	169	24						
20.	21	16	234	24						
22.	22	26	137	34						
24.	20	26	126	27						





β : 44.9 %

α' β : 11.0 %

α : 44.9 %

LIPIDES : 6,7 g / l

CHOLESTEROL : 4,90 mmol / l

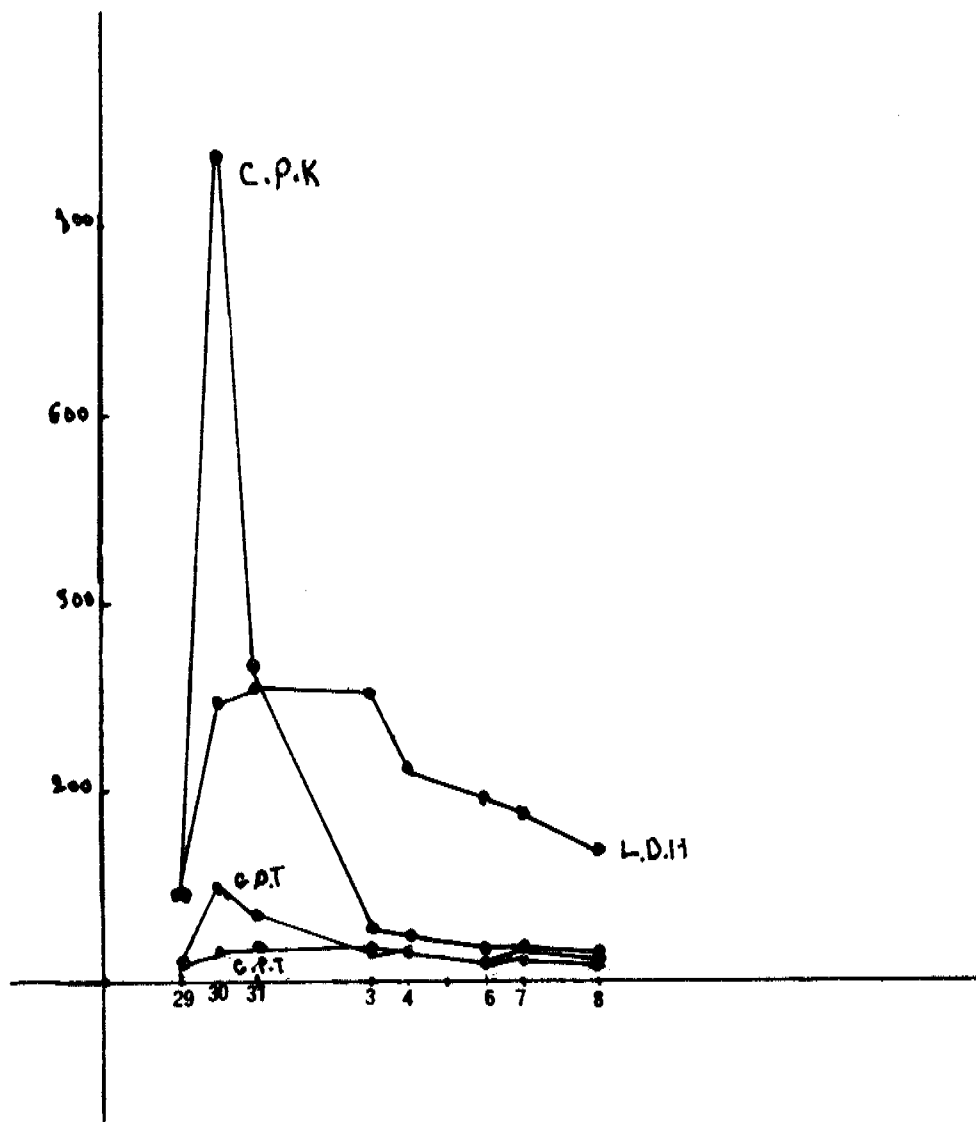
TRIGLYCERIDES : 1,02 mmol / l

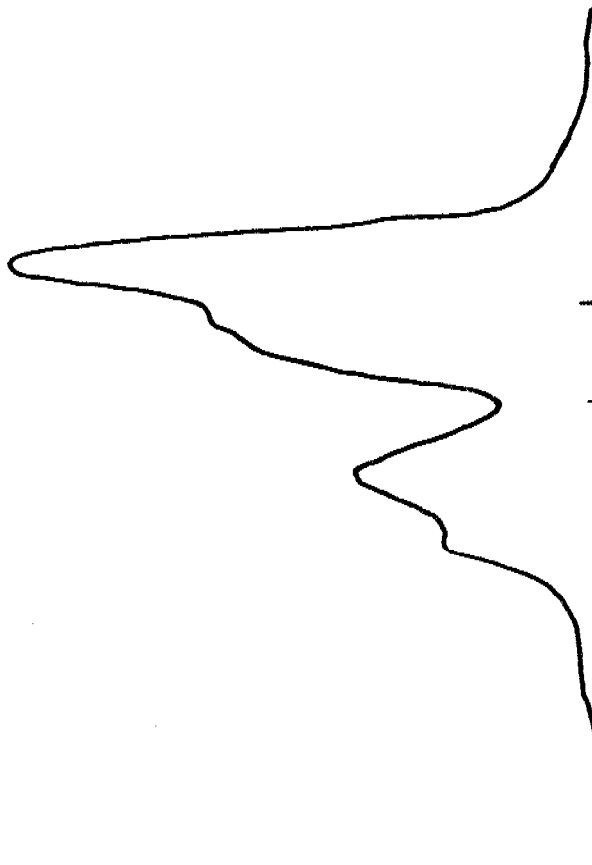
Conditions de l'électrophorèse :

support : bandes de cellogel 8,5 X 14 cm, Sébia (Issy-les-Moulineaux) ;
 tampon : tris-véronal, force ionique = 0,05, pH = 8,6 ;
 tension : 200 volts ;
 temps de migration : 40' ;
 réactif de coloration : rouge Ciba, Sébia ;
 temps de coloration : 2 heures ;
 lavage à l'eau : 5 minutes ;
 lecture des bandes non desséchées au densitomètre Super-Cellomatic, Sébia.

ARN...

Date	GOT	GPT	LDH	DPK	LT	CT	Trigly- cêrides	β %	pré- β %	α %
29.10.80	15	12	88	49	7,50	5,18	2,74	34,9	31,0	33,8
30.	109	27	293	874						
31.	69	32	331	351						
3.11.80	22	27	302	56						
4.	23	26	220	42						
6.	15	16	191	26						
7.	16	21	178	26						
8.	10	14	133	21						





β : 34.9%

pré β : 31.0%

α : 33.8%

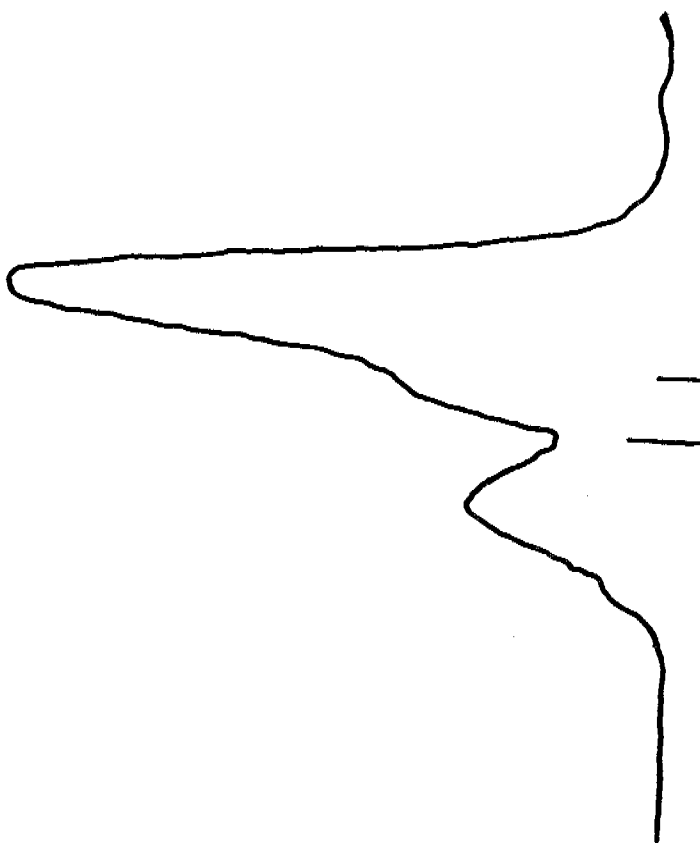
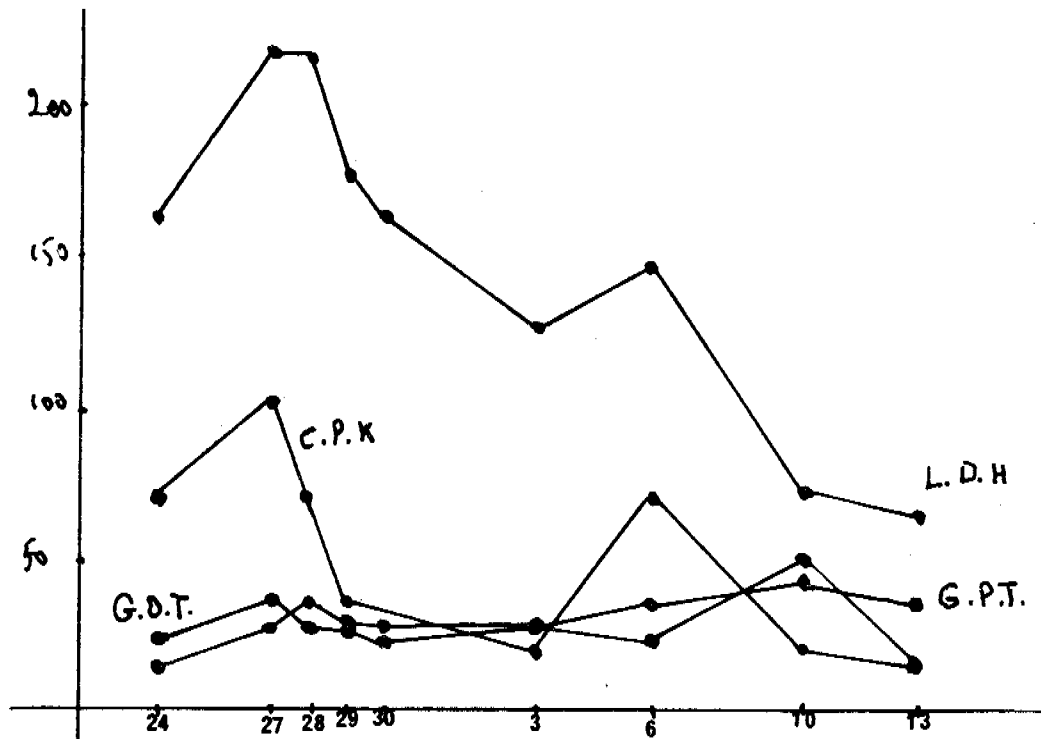
LIPIDES : 7,50 g/l

CHOLESTEROL : 5,13 mmol/l

TRIGLYCERIDES : 2,74 mmol/l

MI...

Date	GOT	GPT	LDH	CPK	LT	CT	Trigly- cêrides	β %	pré- β %	α %
24.10.80.	21	15	159	63	11,30	8,13	1,64	58,3	16,5	25,1
27.	32	26	213	99						
28.	28	32	215	62						
29.	25	28	176	32						
30.	22	29	158	25						
3.11.80.	26	27	124	16						
6.	23	32	142	62						
10.	51	43	66	21						
13.	17	35	62	15						



β : 58,3%

pre β : 16,5%

α : 25,1%

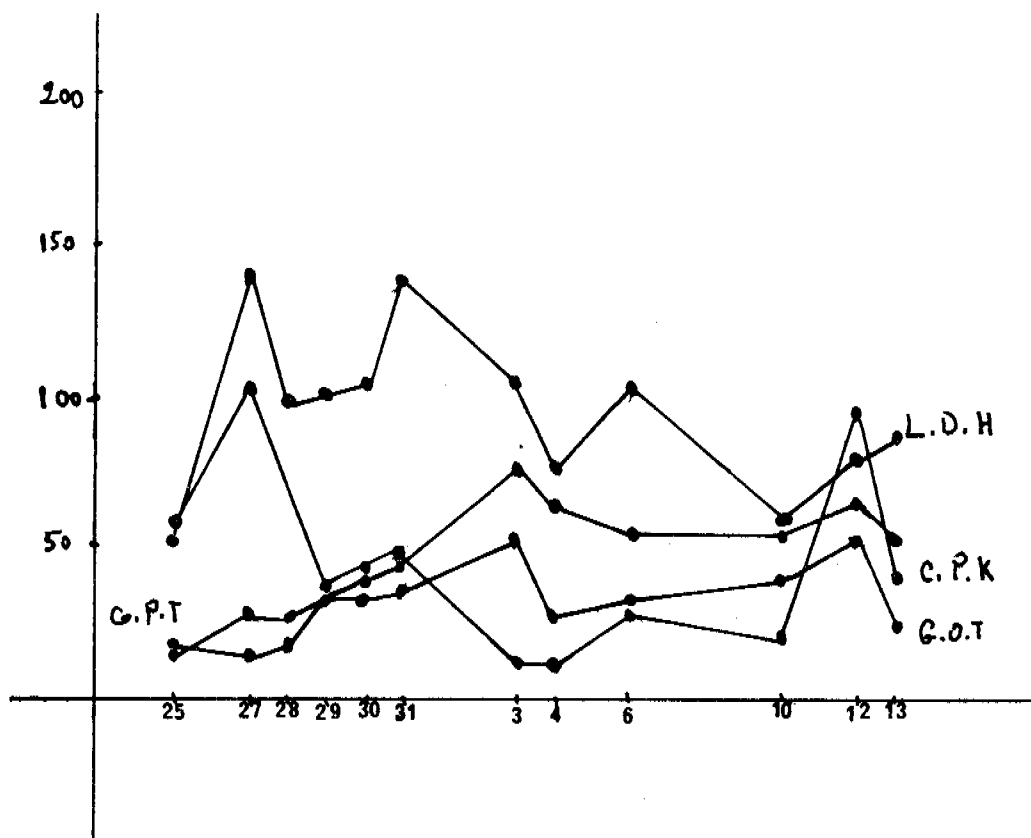
LIPIDES : 11,30 g/l

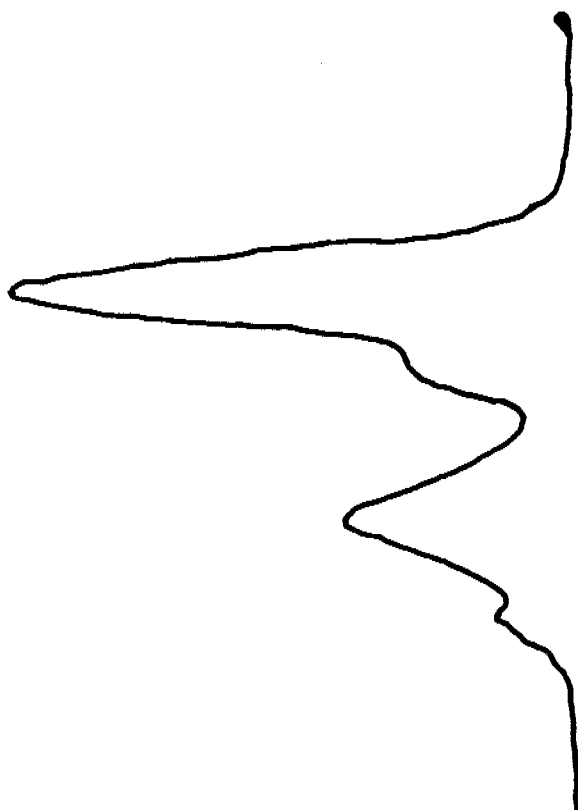
CHOLESTEROL : 8,13 mmol/l

TRIGLYCERIDES : 1,64 mmol/l

ME...

Date	GOT	GPT	LDH	CPK	LT	CT	Trigly- c�rides	β %	pré- β %	α %
25.10.80	14	18	53	56	5,7	4,43	1,04	54,0	13,2	32,3
27.	27	14	140	105						
28.	24	19	93	4						
29.	30	31	98	35						
30.	31	37	108	44						
31.	34	44	134	47						
3.11.80	50	77	106	10						
4.	26	62	74	11						
6.	31	56	104	24						
10.	37	55	58	16						
12.	51	64	77	92						
13.	22	49	83	34						





β : 54,0

— $\rho_{\alpha\beta}$: 13,2

— α : 32,3

LIPIDES : 5,7 g/l

CHOLESTEROL : 4,43 mmol/l

TRIGLYCERIDES : 1,04 mmol/l

4.2. RÉSULTATS DES TECHNIQUES MODERNES ESSAYÉES

Nous avons tout d'abord vérifié la reproductibilité de l'athérottest sur plusieurs sérums de malades (Tableau VIII) et celle de l'immunodiffusion radiale sur différentes dilutions des deux sérums standard (Tableau IX).

Nous avons travaillé sur les mêmes malades pour les deux tests pratiques (athérottest et immuno-diffusion radiale). La moitié d'entre eux pouvait être considérée comme des tout-venants alors que l'autre provenait du service de cardiologie.

Nous avons choisi neuf malades qui ont un taux de cholestérol inférieur à 5,3 mmol/l et neuf malades qui ont un taux de cholestérol anormal, plus ou moins élevé.

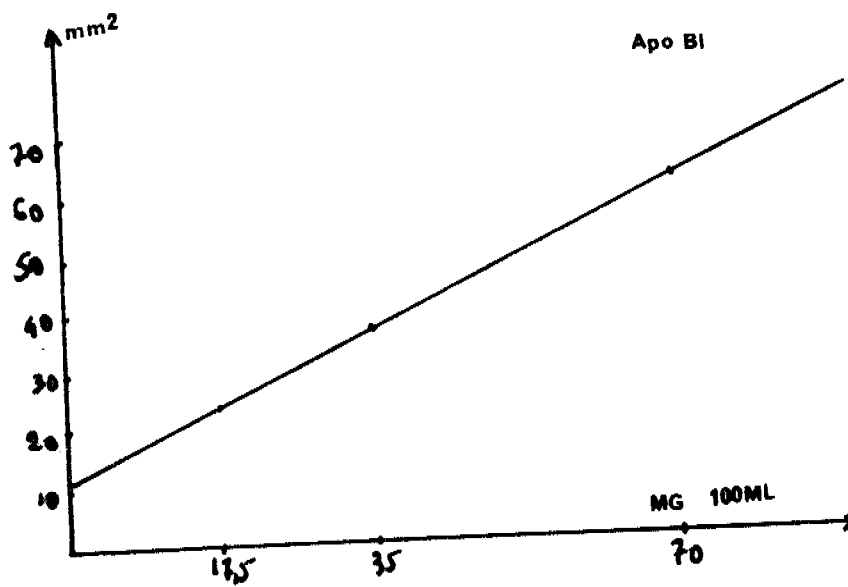
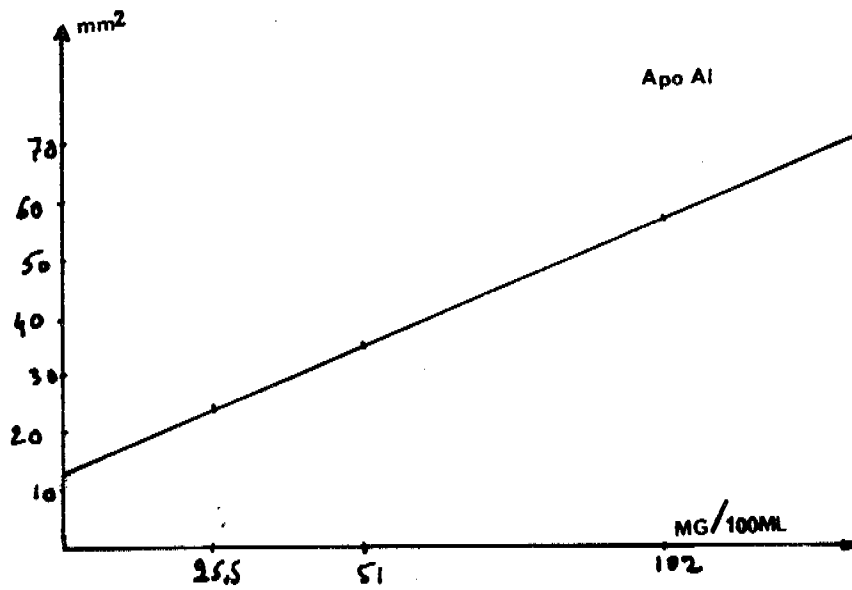
<u>Malades Fractions</u>		<u>E_s_s_a_i_s</u>							
AS...	LP-A	2,50	2,32	1,76	1,62	1,91	2,21	2,21	2,21
	LP-B	7,35	5,88	4,11	4,35	4,56	6,76	6,76	6,76
	LPA/LPB	0,34	0,39	0,43	0,37	0,41	0,33	0,33	0,33
DI...	LP-A	1,76	1,62	1,62	2,05	1,91			
	LP-B	4,26	3,97	3,97	4,26	4,12			
	LPA/LPB	0,41	0,41	0,41	0,48	0,49			
MONZ...	LP-A	1,87	1,60						
	LP-B	3,21	3,74						
	LPA/LPB	0,58	0,42						
MAR...	LP-A	1,18	0,88						
	LP-B	3,53	4,10						
	LPA/LPB	0,33	0,21						
RAM	LP-A	1,05	0,84						
	LP-B	1,26	1,05						
	LPA/LPB	0,83	0,8						
CLE...	LP-A	1,18	1,18						
	LP-B	3,52	3,52						
	LPA/LPB	0,34	0,34						

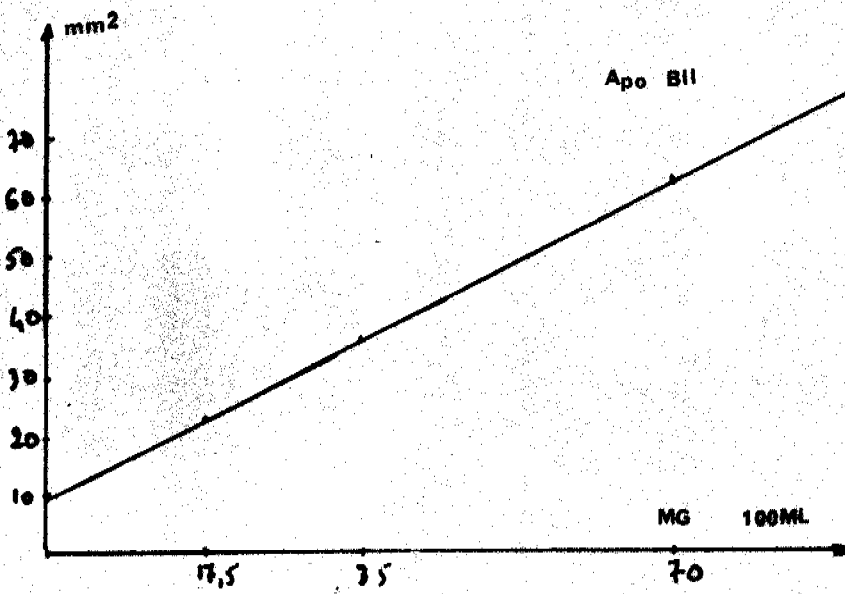
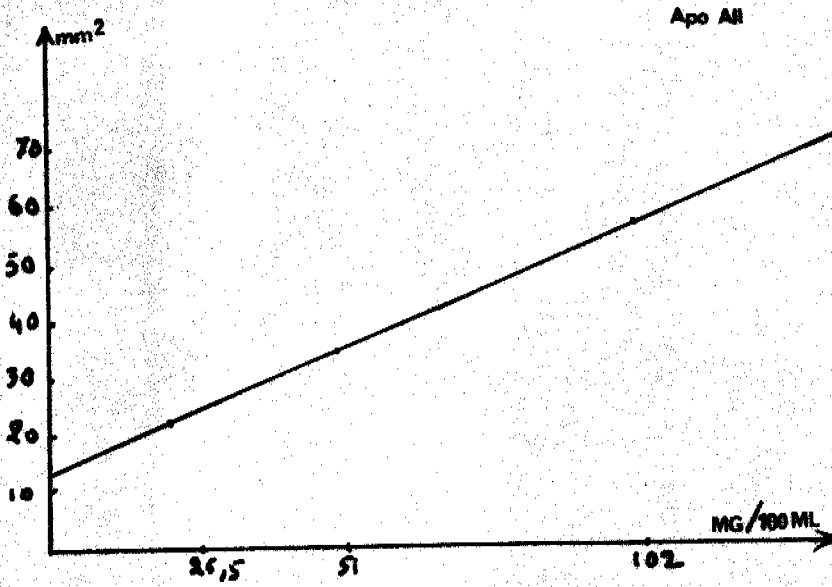
TABLEAU VIII - Tests de reproductibilité de l'athérotest.

<u>Dilutions</u>	<u>1/1</u>	<u>1/2</u>	<u>1/4</u>
Sérum standard Apo-A			
- 1ère expérience	102	$51,1 \times 2 = 102$	$25,5 \times 4 = 102$
- 2ème expérience	102	$51,1 \times 2 = 102$	$25,5 \times 4 = 102$
Sérum standard Apo-B			
- 1ère expérience	70	$35 \times 2 = 70$	$17,5 \times 4 = 70$
- 2ème expérience	70	$35 \times 2 = 70$	$17,5 \times 4 = 70$

TABLEAU IX - Tests de reproductibilité de l'immunodiffusion radiale.

Figure 8 : Courbe de dosage des apo-A et Apo-B par immuno-diffusion radiale.





	<u>Malades</u>	<u>1ère plaque</u>	<u>Malades</u>	<u>2ème plaque</u>
<u>Apo-A</u>	BO...	1,53	CA...	1,65
	MO...	2,04	DU...	2,35
	PE...	2,84	NOU...	1,79
	ARA...	2,64	DJ...	1,96
	BE...	1,84	F...	2,35
	PH...	2,60	NOV...	1,92
	SA...	2,04	SO...	2,21
	R...	2,64	COR...	2,51
	J...	1,64	COS...	3,53
<u>Apo-B</u>	BO...	1,54	CA...	1,09
	MO...	1,31	DU...	0,92
	PE...	1,38	NOU...	1,49
	ARA...	1,62	DJ...	1,01
	BE...	1,60	F...	0,94
	PH...	1,10	NOV...	0,94
	SA...	1,31	SO...	1,98
	R...	1,36	COR...	1,62
	J...	1,44	COS...	1,09

TABLEAU X - Dosage couplé des Apo-A et Apo-B.

Malades -----	CT --	LPA-C -----	LPB-C -----	LPA-C/LPB-C -----
BO...	6,70	0,74	7,35	0,10
MO...	5,80	0,74	7,35	0,10
PE...	6,96	1,84	4,41	0,83
AR...	8,72	2,21	6,61	0,33
BE...	7,17	1,10	6,25	0,18
PH...	5,24	2,21	4,78	0,46
SA...	5,00	1,47	3,68	0,40
R...	4,86	1,47	3,68	0,40
J...	4,97	1,47	2,94	0,50
CA...	4,98	2,69	2,45	1,10
DU...	4,66	4,66	1,47	2
NOU...	6,18	0,74	4,16	0,18
DJ...	6,48	1,22	3,43	0,36
F...	5,43	1,71	3,18	0,54
NOV...	4,07	1,22	1,47	0,83
SO...	8,68	4,43	5,15	0,86
COR...	6,89	3,92	4,41	0,89
COS...	6,31	2,94	3,68	0,80

Tableau XI - Dosages de l'athérottest.

DISCUSSION ET CONCLUSION

En ce qui concerne l'utilisation des méthodes de routine pratiquées au laboratoire, on observe que les dosages enzymatiques montrent bien le développement et l'évolution de l'infarctus, conformément aux données classiques (le malade ARN..., page 71 a présenté l'accident le plus grave).

Pour ce qui est des lipides, il existe une bonne correspondance entre le dosage des différents constituants et leur répartition apparente dans les lipoprotéines. Par contre, si l'on se place dans l'optique du risque athérogène, seul le malade MI... (page 68) peut être distingué par son taux élevé de cholestérol et de β -lipoprotéine.

Le tableau suivant, où l'on a disposé en deux colonnes distinctes les valeurs moyennes des données fournies par des malades présentant des taux normaux ou élevés de lipides, montre la bonne corrélation existant entre le bilan lipidique classique et les deux méthodes modernes que nous avons essayées.

	CT 5,3 mmol/l -----	Valeurs normales mmol/l -----	CT 5,3 mmol/l -----
CT	5,16		7,35
TG	1,24	0,60 - 17,8	2,02
LPA-C	1,72	1,15	2,41
LPB-C	3,20	4,90	5,05
Apo-A	2,14		1,33
Apo-B	1,15		1,48
LPA/LPB	0,54	0,31 - 0,65	0,48

Si l'on étudie séparément les cas individuels, la méthode de l'athérottest, bien qu'en principe reproductible (cf. Tableau VIII page 76), nous a semblé donner parfois des résultats ininterprétables dus probablement au caractère extrêmement minutieux de la technique (Tableau XI page 80: malades B0..., M0..., DJ..., S0..., COR...).

La méthode d'immunodiffusion radiale nous est apparue, au contraire, d'une grande cohérence dans l'étude

individuelle des malades : elle montre d'une façon très frappante que le risque athérogène peut être élevé chez un malade présentant une valeur de cholestérol tout-à-fait normale (cas du malade J...) et qu'inversement un malade possédant une cholestérolémie franchement élevée est susceptible d'offrir une répartition des lipoprotéines très rassurante (cas du malade COS...). Ces résultats sont confirmés, mais d'une façon moins nette, par l'athérottest : tableau

	Cholestérol	Immunodiffusion radiale		Athérottest LPA-C/ LPB-C
		Apo-A	Apo-B	
J...	4,97	1,64	1,44	0,50
COS...	6,31	3,53	1,09	0,80
Valeurs normales	53	1,65	1,35	0,31

Il nous est apparu donc important d'introduire cette notion nouvelle en biochimie clinique, surtout pour les malades présentant des taux normaux ou légèrement élevés de cholestérol, car les hypercholestérolémies franches, détectées simplement par le bilan lipidique classique et l'électrophorégramme des lipoprotéines (cas du malade MI...), doivent être toujours considérées comme un facteur de risque athérogène grave, sans qu'il soit nécessaire de pousser plus loin les investigations.

OUVRAGES GENERAUX

- BERGE J. A. Biochimie médicale : lipides, membranes stéroïdes hormonaux (II) . Paris, Masson, 1977
- BOULANGER P., J. POLONOVSKI, F. TAYEAU, P. MANDEL et G. BISERTE. Biochimie médicale: enzymes et métabolismes, 10è édition, (II). PARIS, Masson et Cie, 1973
- BOULANGER P., J. POLONOVSKI, F. TAYEAU, P. MANDEL et G. BISERTE. Biochimie médicale : sang, humeurs, tissus, organes (Biologie physiologique et sémiologique), 8è édition, (III). Paris, Masson et Cie, 1971.
- CRISTOL R. Docteur. Les aspects polyartériels de l'athérosclérose. 1972
- GREGOIRE E. Paul . Biochimie pathologique. Paris, Maloine 1972
- KRUH Jacques. Biochimie: études médicales et biologiques-métabolisme, nouvelle édition. Paris, Hermann
- LECOQ Raoul. Manuel d'analyses médicales et de Biologie clinique, 3è édition, (I). Paris, Doin, 1972
- LECOQ Raoul. Manuel d'analyses médicales et de Biologie clinique, 3è édition, (II). Paris, Doin, 1972
- LEVY D., Place des dosages enzymatiques en cardiologie et en anesthésie-réanimation. Boehringer Mannheim, Paris, 1975
- MULLER Claude, VERNIER Jacques. De l'examen biochimique au diagnostique: interprétation des examens de Biochimie en pathologie humaine. Schmidt E. et F., Mannheim, 1972
- SCHAPIRA G., J.C. DREYFUS et collaborateurs. Pathologie moléculaire. Paris, Masson et Cie, 1975.

MEMOIRES ORIGINAUX

Athérosclérose - enzymes cardiaques :

- ALCINDOR, L.G., G. BISERTE, M. DAUTREVAUX, L. DOUSTE-BLAZY, J. CL. DREYFUS, F. GUERRIN, M.F. JAYLE, P. KAMOVUN, J.P. LEROUX, S. LISSITZKY, P. LOUISOT, P. MANDEL, J.C. MARCHAND, G. MILHAUD, J. POLONOVSKI, A. RAISONNIER, Ph. ROUSSEL, G. VINCENDON. Biochimie Pathologique : Bioch. Med. (IV), Paris, New-York, Barcelone, Milan, 1977, 80, 508.
- CHAITA and BIERMAN, E.L. Pathophysiology of lipoprotein transport metabolism, 1978, 27, N°9, 1127.
- COLLING DE L'HORTET, M. GOVIND, J. JAILLARD, G. SEZILLE, J.C. FRUCHART, Ph. DEWAILLY. Les hyperlipidémies : le perfectionnement du praticien. Paris, 30. Novembre, 1979, 4, 65.
- CRISTOL, R. Les aspects polyartériels de l'athérosclérose, Mai 1972.
- GARNIER M., V. DELAMARRE. Dictionnaire des termes techniques de médecine, 18ème édition, Maloine S.A., Paris, 1970, 82, 1087.
- GIRARD, M.L. et F. ROUSSELET. Problèmes actuels de biochimie appliquée : lipides, lipoprotéines et athérosclérose. Paris, New-York, Barcelone, Milan, Masson 1976, 251.
- HENRY, R.J., CHIAMORI, N., GOLUB, O.J. and BERKMAN, S. . Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic oxalacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase and lactic deshydrogénase. Amer. J. Clin. Path., 1960, 34, 381.
- LENEGRE, J. et P. SOULE. Maladies de l'appareil cardiovasculaire (1). Editions Médicales, Flammarion, Paris, 1102, 1592.
- METAIS, P., J. AGNERAY, G. FERARD, JC. FRUCHART, J.C. JARDILLER, A. REVOL, G. SIEST, A. STAHL. Biochimie Métabolique, Biochim., Bruxelles, Simep Editions, 1980, 155, 279.
- ROSALKI, S.B. : An improved procedure for serum creatine phosphokinase MB isoenzymes. J. Lab. Clin. Med. (1967), 60, 695.
- ROUFFY, J., B. CHANU, R. BAKIN, J. GOY. Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose. Laboratoires Fournier, Dijon, Février 1979, 2, 21.

- STANBURY, B. John, M.D., James, B. WYNGAARDEN, M.D., Donald, S. FREDRICKSON, M.D. The metabolic basis of inherited disease, New-York, St Louis, San Francisco, Mc Graw-Hill Book Compagny, 544, 1862.
- WACKER, W.E.C., ULMER, R.D. and VALLEE, B.L. Metalloenzymes and myocardial infarction. New Eng. J. Med., 225, 449 (1976).
- Athérome, hyperlipidémies, clofidrate, DEP Publicité, Montreuil 1975, 12, 31.
- Cahiers intégrés de médecine, Cardiologie XIII, N° 70.
- Certificat de cardiologie clinique cardiologique, tome 2.
- Encyclopédie médioco-chirurgicale. Feuilles de titres, Coeur-Vaisseaux, tome 1 (2-197), 030 p 30, 11041R50, tome 2, 315-B10, 11950D10.
- Le perfectionnement du praticien : les hyperlipidémies, 332, 30 Novembre 1979, Paris.

Bilan lipidique :

- BUCCOLO, G. et DAVID, H. Clin. Chem., 1973, 19, 476.
- CANAL, J., DELATTRE, J., GIRARD, M.L. Ann. Biol. Clin. 1972, 30, 325.
- CURTIUS, H. Ch., and Marc ROTH. Clinical Biochemistry : principles and methods (II). Berlin, New-York, Walter de Gruyter, 1974, 1009, 1677.
- DIESNIS, M. Les analyses médicales : prélèvements et résultats (5ème édition) Paris, Académie de Médecine, 1972, 330, 794.
- HENRY J. Richard, M.D., Donald, C. CANNON, M.D. Ph. D., James W. Winkelman, M.D. (2ème édition). Clinical chemistry : principles and technics. Hagerstown, Maryland, New-York, San Francisco, London, Medical Department Harper and Row, 1974, 819, 1629.
- FRACTIONS Human Plasma Lipoproteins (N°1) Palo Alto, California Spinco Division of Beckman, 1977, 24.
- FRUCHART, J.C., G. SEZILLE, lipides et lipoprotéines, 1979, 17, 89.
- LE COQ Raoul. Manuel d'analyses médicales et de biochimie clinique, 3ème édition (1), Paris, Doin, 1971, 404, 926.

- LOPES-VIRELLA M.F.L., STONE P.G., COLWELL J.A., Serum high-density lipoprotein in diabetic patients, 1977, Diabetologia, 13, 285-291.
- MAC CONATY W.J., ALAUPOVIC P., Studies on the interaction of concanavalin A with major density classes of human plasma lipoproteins. Evidence for the specific binding of lipoprotein B in its associated and free forms, 1974, FEBS letters, 41, 1, 174-178.
- MILLER G.J., N.E. MILLER.
Plasma High Density-Lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease.
Lancet, 1975, 16.
- MILLER N.E., D.S. THELLE, O.H. FORDE, O.D. MJOS.
High Density-Lipoprotein and coronary heart disease; a prospective case - control study.
Lancet, 1977, 19, 1965.
- RECKLESS J.P.D., BETTERIDGE D.J., WU P., PAYNE B., GALTON D.J., High density- and low-density lipoproteins and prevalence of vascular disease in diabetes mellitus, 1978, British Medical Journal, 1, 883-886.
- ROSSNERS S., K. GKJELLIN, K.L. METTINGER, A. SIDEN, C.L. SODERSTROM.
Normal serum-Cholesterol, but High-Density-Lipoprotein Cholesterol concentration in young patients with ischaemic cerebrovascular disease.
- ROSSNER S., LARSSON-COHN U., CARLSON L.A., BOBERG J., Effects of an oral contraceptive agent on plasma lipids, plasma lipoproteins, the intravenous fat tolerance and the post-heparin lipoprotein lipase activity, 1971, Acta med. scand, 190, 301-5.
- SIMONS K., EHNHOLM C., RENKONEN O., BLOTH B., Characterization of the Lp(a) lipoprotein in human plasma, 1970, Acta path. microbiol.scand., section B, 78. 459-466.
- SCHULTZ J.S., SHREFFLER D.C., SING C.F., HARVIE N.R., The genetics of the Lp antigen, 1974, Ann. Hum. Genet, 38-39.
- STREJA D., MYMI David, Effect of propranolol on H.D.L. cholesterol concentrations, 1978, British Medical Journal, November 25, p. 1495.
- VERGANI C., G. TROVATO, N. DIOGUARDI.
Serum total lipids, lipoproteins cholesterol, apoproteins A and B in cardiovascular disease.
Clinical Chimica Acta, 1978, 87, 127.
- WALTON K.W., HITCHENS J., MAGNANI H.N., KAHN M. A study of methods of identification and estimation of Lp(a) lipoprotein and of its significance in health, hyperlipidaemia and atherosclerosis, 1974, atherosclerosis, 20, 323-346.
- WARNICK G.R. et ALBERS J.J., 1974, Journal of lipid research, 19, 65-76.
A comprehensive evolution of the heparin-manganese precipitation procedure for estimating high density lipoprotein cholesterol.

- High-Density-Lipoproteins and Atheroma.
Editorial.
Lancet, 1978, 16,1291.
- High-Density-Lipoproteins and Coronary-Heart-Disease.
Editorial.
Lancet, 1976, 17, 131.

TABLE DES MATIÈRES

	<u>Page</u>
1 - INTRODUCTION	1
1.1. Athérosclérose et plaque d'athérome	1
1.2. Infarctus du myocarde - Apport des dosages enzymatiques	13
2 - BILAN LIPIDIQUE	20
2.1. Bilan lipidique classique	20
2.1.1. Méthodes de dosage	20
2.1.1.1. Détermination du cholestérol	20
2.1.1.2. Détermination des triglycérides	26
2.1.1.3. Détermination des phospholipides	30
2.1.1.4. Détermination des acides gras non estérifiés	31
2.1.1.5. Détermination des lipides totaux	32
2.1.2. Valeurs physiologiques	34
2.2. Les lipoprotéines	35
2.2.1. Définition et rôle	35
2.2.2. Classification et caractérisation	35
2.2.2.1. Electrophorèse	36
2.2.2.2. Ultracentrifugation	38
2.2.2.3. Autres méthodes	40
2.2.3. Structure - Composition	40
2.2.4. Métabolisme des lipoprotéines	45
2.2.4.1. Métabolisme intravasculaire des chylomicrons	45
2.2.4.2. Métabolisme intravasculaire des VLDL ...	46
2.2.4.3. HDL circulantes	48
2.3. Classification des hyperlipoprotéïnémies ...	50
2.3.1. Définition	50
2.3.2. Diagnostic typologique et pathogénie des hyperlipoprotéïnémies primitives ou "idiopathiques"	51
2.3.2.1. Hyperlipoprotéïnémie de type I	51
2.3.2.2. Hyperlipoprotéïnémie de type IIa	52

2.3.2.3. Hyperlipoprotéïnémie de type III	53
2.3.2.4. Hyperlipoprotéïnémie de type IV	54
2.3.2.5. Hyperlipoprotéïnémie de type V	56
2.3.2.6. Hyperlipoprotéïnémie de type I Ib	56
2.3.3. Etude biologique et physiopathologique des hyperlipoprotéïnémies secondaires	58
2.3.3.1. Hyperlipoprotéïnémies secondaires au dia- bète sucré	58
2.3.3.2. Hyperlipoprotéïnémies secondaires aux af- fections thyroïdiennes	58
2.3.3.3. Hyperlipoprotéïnémies secondaires à la prise de contraceptifs oraux	59
2.3.3.4. Hyperlipoprotéïnémies secondaires aux af- fections hépatobiliaires	59
2.3.3.5. Hyperlipoprotéïnémies secondaires aux af- fections rénales	59
2.3.3.6. Hyperlipoprotéïnémies et dysglobunémies ...	60
3 - MISE AU POINT DE METHODES	61
3.1. Introduction	61
3.2. Méthodes utilisées	61
3.2.1. Précipitation à la concanavoline	61
3.2.2. Techniques immunologiques	65
3.2.2.1. Néphélémétrie laser	65
3.2.2.2. Immunodiffusion radiale	65
3.2.2.3. Valeurs normales	67
4 - RESULTATS	68
4.1. Résultats des méthodes de routine	68
4.2. Résultats des techniques modernes essayées ...	75
5 - DISCUSSION ET CONCLUSION	81