



**HAL**  
open science

## Les marqueurs biologiques de l'athérosclérose

Anne-Sophie Fourchtein Vienne

► **To cite this version:**

Anne-Sophie Fourchtein Vienne. Les marqueurs biologiques de l'athérosclérose. Sciences pharmaceutiques. 1994. <dumas-01998609>

**HAL Id: dumas-01998609**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01998609v1>**

Submitted on 29 Jan 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

1<sup>er</sup> exemplaire

UNIVERSITE Joseph FOURIER · GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine

U.F.R. DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE : 1994

N° D'ORDRE : 7011

LES MARQUEURS BIOLOGIQUES DE L' ATHEROSCLEROSE

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE.

Par

Mme FOURCHTEIN ANNE-SOPHIE née VIENNE

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le : 25 mars 1994

Devant Mme le Professeur A - M . ROUSSEL

Président du Jury

et

M. le Dr P . FAURE Maître de Conférences

et

Mlle le Dr C . METIER



115 013435 4

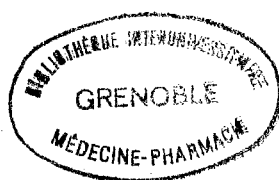


## REMERCIEMENTS

Mes remerciements s'adressent en priorité à Madame le Professeur A.M. Roussel qui m'a réservé un accueil particulièrement chaleureux pour la présidence de cette thèse tardive et qui a toujours été disponible pour sa mise au point et sa réalisation.

Je remercie également les membres du jury d'avoir intégré à leurs responsabilités quotidiennes cette surcharge de travail.

Enfin ma gratitude s'exprime à ma famille ; à mes parents qui m'ont permis de réaliser mes études en toute quiétude et à mon mari qui m'apporté un soutien logistique efficace pour la réalisation de ce document.



# SOMMAIRE

I . INTRODUCTION.....	3
II . LIPIDES PLASMATIQUES ET ATHEROSCLEROSE.....	6
1 . Cholestérol total et cardiopathies ischémiques.....	7
2 . Dosage du cholestérol total .....	9
a . Méthodes chromatographiques.....	10
b . Méthodes colorimétriques.....	10
c . Méthodes enzymatiques.....	11
3 . Triglycérides plasmatiques et cardiopathies ischémiques.....	11
4 . Dosage des triglycérides.....	13
a . Méthodes colorimétriques ou fluorimétriques.....	13
b . Méthodes enzymatiques.....	13
5 . Valeurs de référence et variations physiologiques .....	15
6 . Intérêt de leurs dosages .....	15
III . LIPOPROTEINES ET ATHEROSCLEROSE.....	21
1 . Structure générale des lipoprotéines.....	21
2 . Classification des lipoprotéines.....	22
a . Répartition .....	23
b . Composition pondérale .....	25
3 . Métabolisme.....	26
a . Devenir des graisses alimentaires.....	26
b . Métabolisme intravasculaire des chylomicrons .....	26
c . Métabolisme intravasculaire des VLDL.....	27
d . Métabolisme intravasculaire des HDL .....	28
e . Conclusion de ces métabolismes.....	29
4 . Méthodes d'étude des lipoprotéines.....	31
a . Prélèvement de sang en vue de l'étude des lipoprotéines à jeûn .....	31
b . Méthodes d'analyse qualitative des lipoprotéines par électrophorèse .....	31
b1 . Méthodes de séparation en fonction de la charge des lipoprotéines.....	31
b2 . Méthodes de séparation en fonction de la taille des lipoprotéines et accessoirement en fonction de leur charge .....	32
c . Méthodes d'analyse quantitative ou semi - quantitative.....	34
c1 . Précipitation sélective : estimation turbidimétrique des lipoprotéines.....	34
c2 . Ultracentrifugation de flottation.....	36
5 . Intérêt du dosage des HDL.....	37
6 . Mise en évidence et dosage des lipoprotéines particulières .....	41
a . Lipoprotéine Lp (a).....	41

b . Lipoprotéine X.....	42
IV . APOLIPOPROTEINES ET ATHEROSCLEROSE.....	44
1 . Structure et rôle des principales apolipoprotéines .....	44
a . Apolipoprotéine A1 .....	45
b . Apolipoprotéine B 100 .....	47
c . Apolipoprotéine E .....	49
d . Apolipoprotéine C II .....	49
2 . Classification des dyslipoprotéinémies.....	49
a . Classification des dyslipoprotéinémies primitives .....	49
3 . Dosage des Apolipoprotéines.....	57
a . Marqueurs de lipoprotéines .....	57
b . Recherche d'anomalies ou de déficits en certaines apolipoprotéines .....	59
c . Dosage des lipoparticules.....	60
d . Conclusion et conduite de l'exploration des lipides et des lipoprotéines.....	61
e . La lipoprotéine (a).....	63
V . CONCLUSION.....	66
VI . BIBLIOGRAPHIE.....	71

## I . INTRODUCTION

Les maladies cardiovasculaires sont en France la première cause des décès :

36,4 % de la mortalité contre 24,2 % pour le cancer.

Le lien de causalité entre l'hypercholestérolémie et le développement précoce de l'athérosclérose ne fait plus de doute aujourd'hui. L'hyperlipoprotéïnémie interagit avec d'autres facteurs de risques comme l'hypertension artérielle et le tabac. Néanmoins il y a tout lieu de croire que l'hypercholestérolémie est un élément majeur dans l'athérogénèse. Le risque athérogène est lié à l'augmentation de la teneur du sérum en lipoprotéines de basse densité (VLDL , IDL , LDL), alors que les lipoprotéines de haute densité (HDL) protègent de l'athérosclérose. Les anomalies des lipoprotéines constituent le facteur prédisposant majeur pour le développement et la progression des lésions artérielles. Elles sont liées le plus souvent à des facteurs génétiques dont l'expression est plus ou moins favorisée par des facteurs d'environnement. Le développement de l'athérosclérose augmente avec l'âge ; il est plus fréquent chez l'homme que chez la femme , tout au moins lorsque celle-ci est en période d'activité génitale (1).

Ceci explique que , au sein de la biologie clinique , l'exploration des lipides et des lipoprotéines plasmatiques soit depuis quelques années en mutation et s'enrichisse régulièrement par la mise au point de nouvelles méthodes de dosage. On admet actuellement que le dosage des lipides totaux n'a plus aucun intérêt et que ceux du cholestérol et des triglycérides doivent être complétés par une analyse de leurs transporteurs : LES LIPOPROTEINES. Un constituant lipidique tel que le cholestérol , n'a pas la même signification selon la lipoprotéine qui le transporte. Il importe donc de faire la différence entre dyslipémie et dyslipoprotéïnémie.

Avant de rentrer dans le vif du sujet , faisons un bref rappel sur l'athérosclérose et la formation de la plaque d'athérome (2). La définition de l'athérosclérose selon l'Organisation Mondiale de la Santé est la suivante : " Une association en proportion variable de remaniements de l'intima des artères , constituant en une accumulation locale de lipides , de complexes glucidiques , de sang et de produits

d'origine sanguine , de tissus fibreux et de dépôts calcaires , le tout accompagné de modifications de la média " .

Les lésions athéroscléreuses se développent avec prédilection en certains points du système vasculaire , ce qui conduit à faire jouer un rôle important aux facteurs hémodynamiques (zones de turbulence).

On les trouve en effet surtout :

- aux niveaux des segments proximaux des artères musculaires naissant directement de l'aorte,
- au niveau des bifurcations artérielles,
- au niveau des courbes artérielles (3).

Ainsi , l'athérosclérose touche avant tout les artères de gros et moyen calibre (aorte , système carotidien , artères coronaires , artères iliaques). Des localisations rénales et mésentériques peuvent également se voir mais les artères des membres supérieurs sont par contre en général indemnes. Les plaques athéroscléreuses de forme et de taille très variables , isolées ou confluentes , se développent au niveau de l'intima. Elles évoluent selon quatre stades :

- la plaque lipidique.
- la plaque fibreuse.
- la plaque fibro-lipidique.
- la plaque calcaire.

La plaque lipidique se présente le plus souvent sous forme de simples stries lipidiques à peine saillantes , allongées dans le sens du courant sanguin. On peut en trouver chez des sujets très jeunes et en bonne santé apparente. Dans de plus rares cas (hypercholestérolémie essentielle de type II a) il s'agit de véritables plaques lipidiques , de coloration jaune , de consistance molle et en relief sur l'intima.

La plaque fibreuse se retrouve dès l'âge de trente ans sur l'aorte et les coronaires : c' est un épaissement circonscrit à l'intima , assez ferme , de coloration blanchâtre ou grise et de contour mal limité.

La plaque fibro-lipidique est nettement en relief sur la paroi. De coloration grise ou jaunâtre elle va devenir de plus en plus dure au fur et à mesure de son

vieillissement. Son caractère sténosant la rend responsable des différents troubles ischémiques rencontrés en clinique.

La plaque calcaire étant le stade évolutif terminal , elle indique l'ancienneté du processus.

## II . LIPIDES PLASMATIQUES ET ATHEROSCLEROSE

Le rôle des lipides plasmatiques dans la genèse des plaques d'athérome a été mis en évidence par des études anatomopathologiques et histologiques , et par des enquêtes épidémiologiques rétrospectives ou prospectives qui ont montré que l'incidence de l'athérosclérose coronarienne (nombre d'infarctus) était en relation étroite avec le niveau de cholestérolémie et , à un degré moindre avec celui de triglycéridémie (4).

Le sérum sanguin renferme environ 7 g/l de lipides (cf FIG 1) (5). Ces derniers sont essentiellement le cholestérol libre et estérifié , les triglycérides , les phospholipides et les acides gras libres.

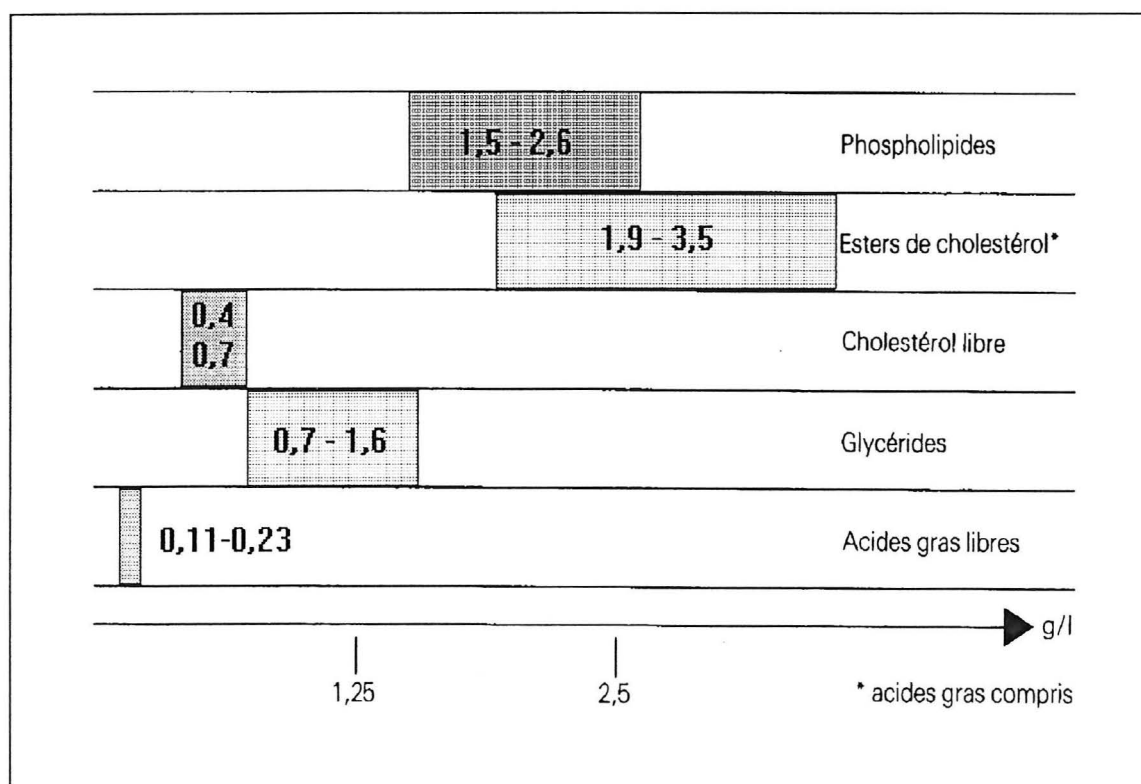


FIG. 1 : REPARTITION PONDERALE DES PRINCIPALES CLASSES DE LIPIDES DANS UN EXTRAIT LIPIDIQUE NORMAL (5.5 A 7.5 G/L DE SERUM ) (5)

L'analyse des lipides concerne essentiellement le cholestérol ou les triglycérides. Le dosage des phospholipides n'apporte pas d'information clinique supplémentaire particulière (sauf dans de rares cas de dyslipoprotéïnémies secondaires).

### **1 . Cholestérol total et cardiopathies ischémiques**

Les nombreuses enquêtes rétrospectives et prospectives effectuées dans le monde entier pendant les trois dernières décennies ont rendu incontestable le fait que la probabilité de développer précocement des lésions d'athérosclérose augmente avec le taux de cholestérol sérique. De plus , des études cliniques rétrospectives (telles que celle de Framingham FIG 2) (6) utilisant la coronarographie ont permis de confirmer la relation cholestérolémie-cardiopathies ischémiques en montrant que la concentration sérique moyenne en cholestérol est plus élevée chez les sujets présentant des lésions coronariennes que chez les sujets normaux . L'augmentation de la cholestérolémie totale affecte plusieurs territoires vasculaires : les artères coronaires , les artères des membres inférieurs et les artères cérébrales sont particulièrement atteintes. Au niveau coronarien , le risque est majeur puisqu'il existe une relation de type exponentiel entre l'incidence des coronaropathies et le taux de cholestérol et que , à ce niveau , le risque semble proportionnel au carré de la cholestérolémie.

La corrélation est moins nette en localisation cervico-encéphalique ou l'hypertension artérielle joue le rôle principal. Dans les artériopathies des membres inférieurs l'intoxication tabagique (cf FIG 3) (7) est le premier facteur de risque.

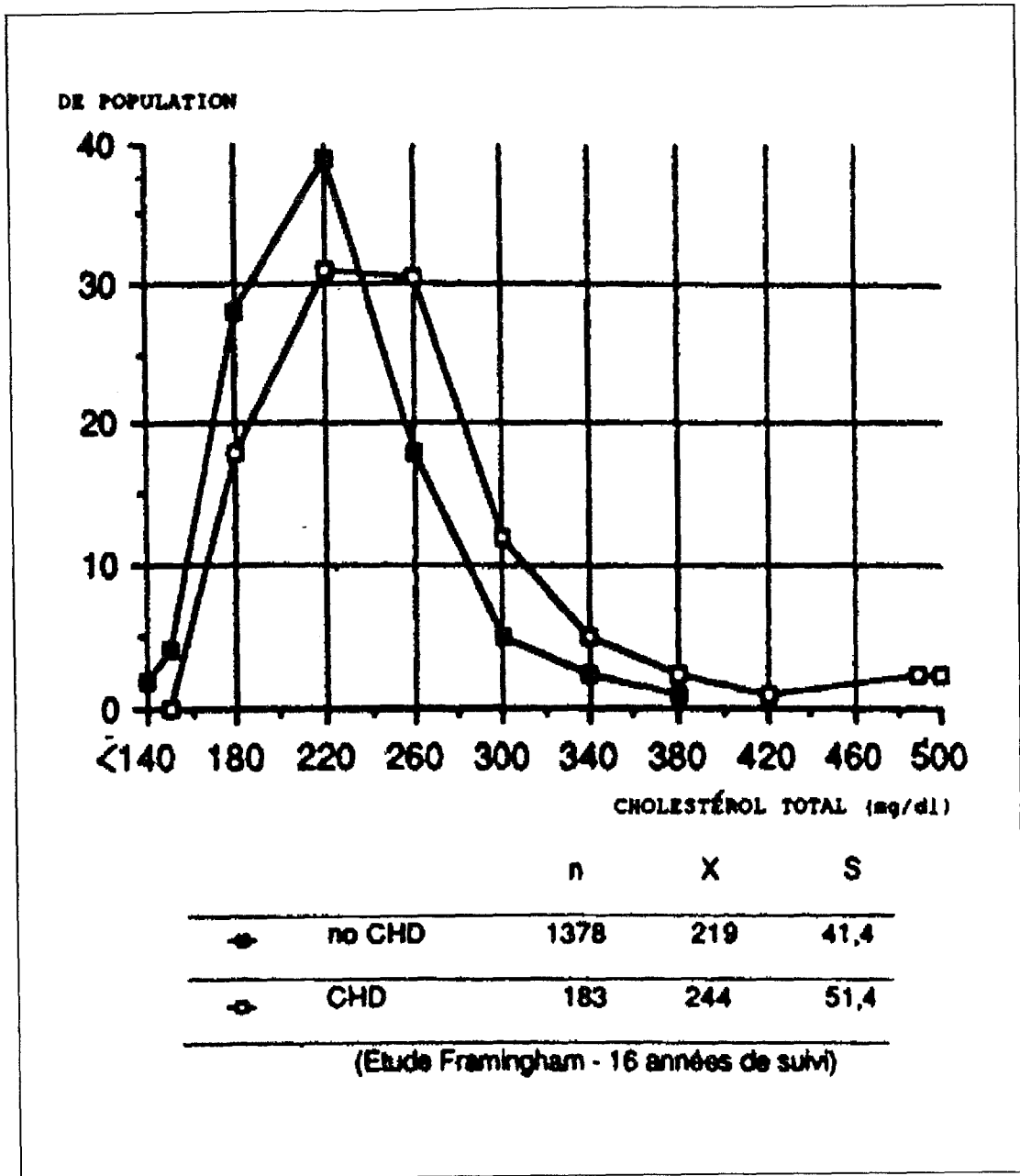


FIG. 2 : VALEURS DU CHOLESTEROL CHEZ DES SUJETS AVEC OU SANS STENOSE DES CORONAIRES (6)

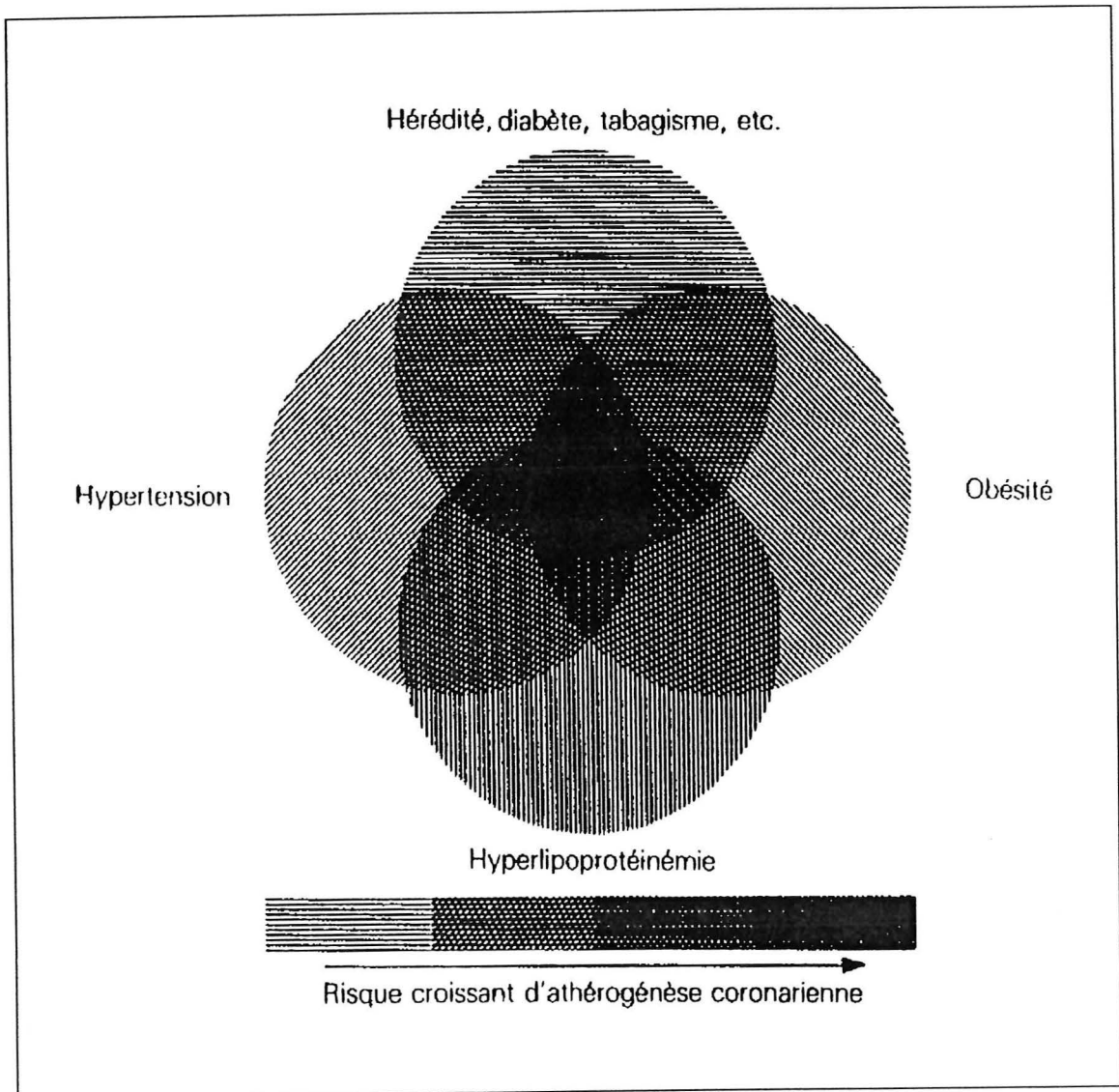


FIG. 3 : FACTEURS DE RISQUE INTERVENANT DANS L'ATHEROGENESE CORONARIENNE (7)

## 2 . Dosage du cholestérol total

Le cholestérol total peut être dosé par de nombreuses méthodes : Chromatographiques , colorimétriques et enzymatiques.



### a . Méthodes chromatographiques

La chromatographie en phase gazeuse a été appliquée avec succès par de nombreux auteurs au dosage du cholestérol (8). Réalisée sur colonne capillaire , elle permet de séparer l'éther triméthylsilylé (TMS) du cholestérol , de composés très voisins comme par exemple le cholestanol non séparable en colonne classique. Cette méthode permet une analyse quantitative sur quelques microlitres de sérum et c'est la méthode de choix pour l'analyse du cholestérol tissulaire.

### b . Méthodes colorimétriques

En toute rigueur , pour être spécifique, le dosage colorimétrique du cholestérol suppose 4 étapes : extraction , saponification , isolement du digitonide et coloration . Celle-ci repose généralement sur l'utilisation de deux réactions colorées:

- la réaction de LIEBERMANN-BURCHARD : développement d'une coloration verte en présence d'anhydride acétique et d'acide sulfurique.
- la réaction de ZAK : développement d'une coloration rouge en présence d'acide acétique , de perchlorure de fer et d'acide sulfurique (9).

Des méthodes en deux temps éliminant la saponification et l'isolement du digitonide ont pu être semi-automatisées en flux continu. Elles sont reproductibles et donnent des résultats bien corrélés avec ceux obtenus par la méthode de référence. Les méthodes directes , très répandues , sont techniquement simples , faciles à automatiser , mais sont exposées à de nombreuses sources d'erreur.

D'une manière générale , les méthodes directes commercialisées sous forme de coffrets de réactifs sont peu spécifiques , peu reproductibles , et ne devraient être utilisées qu'à des fins de dépistage (10). Les résultats obtenus par les méthodes directes colorimétriques sont en général de 10 % plus élevés que ceux obtenus par la méthode de référence chromatographique.

### **c . Méthodes enzymatiques**

Apparues récemment, elles utilisent les enzymes des micro-organismes agissant sur le cholestérol. Le principe de la méthode est exposé en FIG 4 (11). Les techniques varient en fonction du protocole de dosage du peroxyde d'hydrogène. Les méthodes enzymatiques de dosage du cholestérol sont très reproductibles (CV < 2 %) et les résultats sont bien corrélés à ceux obtenus par la méthode de référence. Leur spécificité est meilleure que celle des méthodes colorimétriques : la bilirubine et l'hémoglobine n'interfèrent pas ; les autres stérols présents dans le sérum influencent moins les résultats que dans les méthodes colorimétriques. Les interférences médicamenteuses sont négligeables ou nulles.

### **3 . Triglycérides plasmatiques et cardiopathies ischémiques**

L'existence d'une contribution indépendante de la triglycéridémie dans la prédiction des cardiopathies ischémiques est un sujet très discuté qui reste controversé. Pour certains il n'existe pas de preuve formelle concernant le rôle athérogène des triglycérides. Ceux-ci ne constitueraient pas un facteur de risque lorsqu'on les considère comme indépendants des autres facteurs qui sont habituellement associés (cholestérol , HTA , tabac). A l'inverse , pour d'autres les triglycérides sont athérogènes. En conséquence , il semble prudent de traiter toute élévation anormale des triglycérides plasmatiques .



#### **4 . Dosage des triglycérides**

##### **a . Méthodes colorimétriques ou fluorimétriques**

Le dosage des triglycérides , au même titre que celui du cholestérol, est nécessaire pour établir un bilan lipidique. Il peut être réalisé par des méthodes colorimétriques , fluorimétriques ou enzymatiques.

Elles comportent trois temps :

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

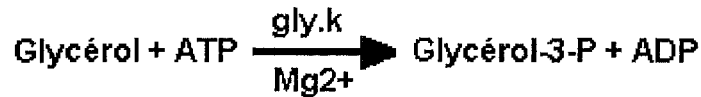
Le glycérol libéré est évalué soit directement , soit le plus souvent après oxydation périodique. De très nombreuses méthodes colorimétriques ou fluorimétriques ont été décrites pour doser le formaldéhyde formé après oxydation. La plus utilisée est la réaction de HANTZCH : dosage colorimétrique à 410 nm ou fluorimétrique de la lutidine. Pour éliminer l'interférence du glycérol libre et des glycérides partiels préexistant dans le sérum , il est possible de réaliser un blanc en faisant la même réaction sans hydrolyse préalable.

Ces méthodes ont été semi-automatisées ou automatisées. Elles sont considérées actuellement comme méthodes de référence.

##### **b . Méthodes enzymatiques**

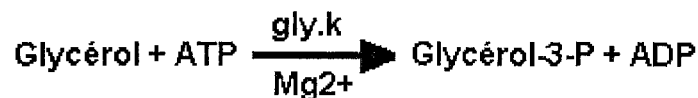
Elles reposent sur le dosage enzymatique du glycérol libéré après hydrolyse alcaline ou enzymatique des triglycérides (12). Deux réactions sont utilisées couramment pour le dosage du glycérol :

- La première consiste à phosphoryler le glycérol par l'ATP en présence de glycérol kinase et à doser l'ADP formé par une série de réactions enzymatiques faisant intervenir la pyruvate kinase et la lactate deshydrogénase.



Les trois réactions sont effectuées en milieu tamponné à pH = 7,2. La quantité de NADH + H<sup>+</sup> consommé, dosé par spectrophotométrie à 340 nm, est proportionnelle à la teneur en glycérol de l'échantillon.

- La deuxième est basée sur les réactions couplées suivantes :



Les trois réactions sont effectuées en milieu tamponné. La quantité de formazan apparue, appréciée en photométrie à 500 nm est proportionnelle à la teneur en glycérol de l'échantillon. L'utilisation d'agents d'hydrolyse enzymatique pour les lipides ( lipase additionnée d'estérase ou d'  $\alpha$  chymotrypsine pour que l'hydrolyse soit complète ) a permis une simplification des techniques.

Une automatisation totale est alors possible :

- en flux continu après hydrolyse enzymatique des triglycérides au bain-marie à 37° et dialyse du glycérol libéré.

- sur automates en point final ou en cinétique.

Les méthodes enzymatiques sont spécifiques et reproductibles. Les résultats obtenus avec ces méthodes sont en général parfaitement corrélés à ceux obtenus par les méthodes de référence.

## 5 . Valeurs de référence et variations physiologiques

Il est très difficile de définir une valeur "normale" pour la concentration sérique en cholestérol et en triglycérides. Les normales varient en fonction de la technique utilisée. Il est donc indispensable de ne comparer que des valeurs obtenues avec la même technique.

D'autre part , au sein d'une population , il convient de tenir compte de la race , du sexe , de l'âge , du mode d'alimentation et des conditions de vie des individus. Dans les FIG 5 et 6 suivantes (13) , sont rapportées les valeurs physiologiques habituelles obtenues pour le cholestérol sur des sujets normaux (méthode enzymatique) et pour les triglycérides dans une population à haut niveau de vie (méthode fluorimétrique).

Les valeurs délimitant l' hypercholestérolémie et l' hypertriglycéridémie sont arbitraires. Dans un but préventif , on peut fixer la limite supérieure de concentration sérique en cholestérol et en triglycérides à deux écart-types au-dessus de la moyenne de la population générale pour chaque groupe d'âge. Mais une population dite "normale" dans les pays industrialisés peut être anormale du point de vue de l'incidence de la maladie coronarienne (cf FIG 7) (14) .

## 6 . Intérêt de leurs dosages

Le dosage du cholestérol et des triglycérides sont des examens indispensables pour typer une dyslipoprotéinémie et suivre son évolution sous traitement. Néanmoins

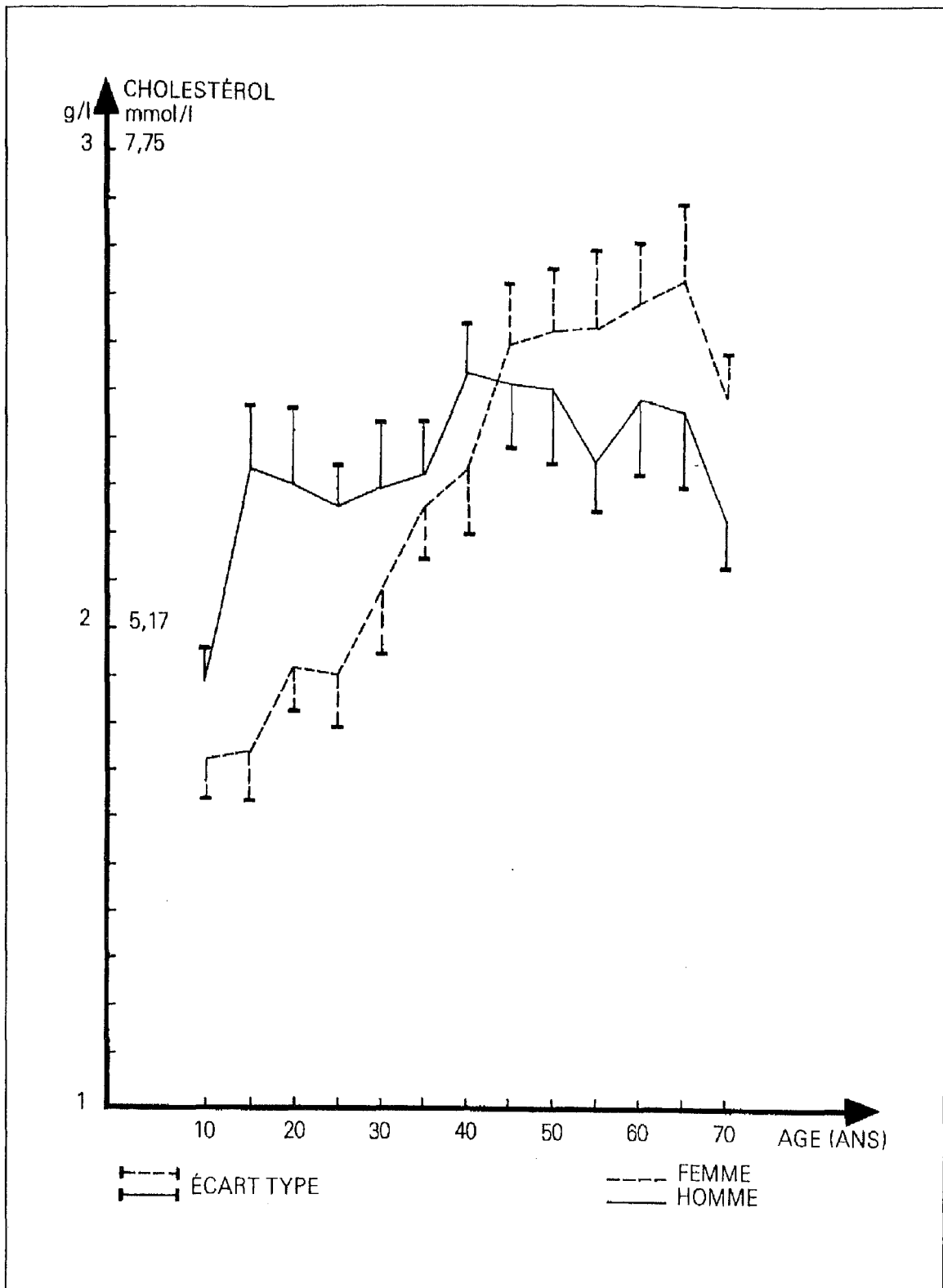


FIG. 5 : VALEURS PHYSIOLOGIQUES HABITUELLES DE LA CHOLESTEROLEMIE EN FONCTION DE L'AGE ET DU SEXE (13)

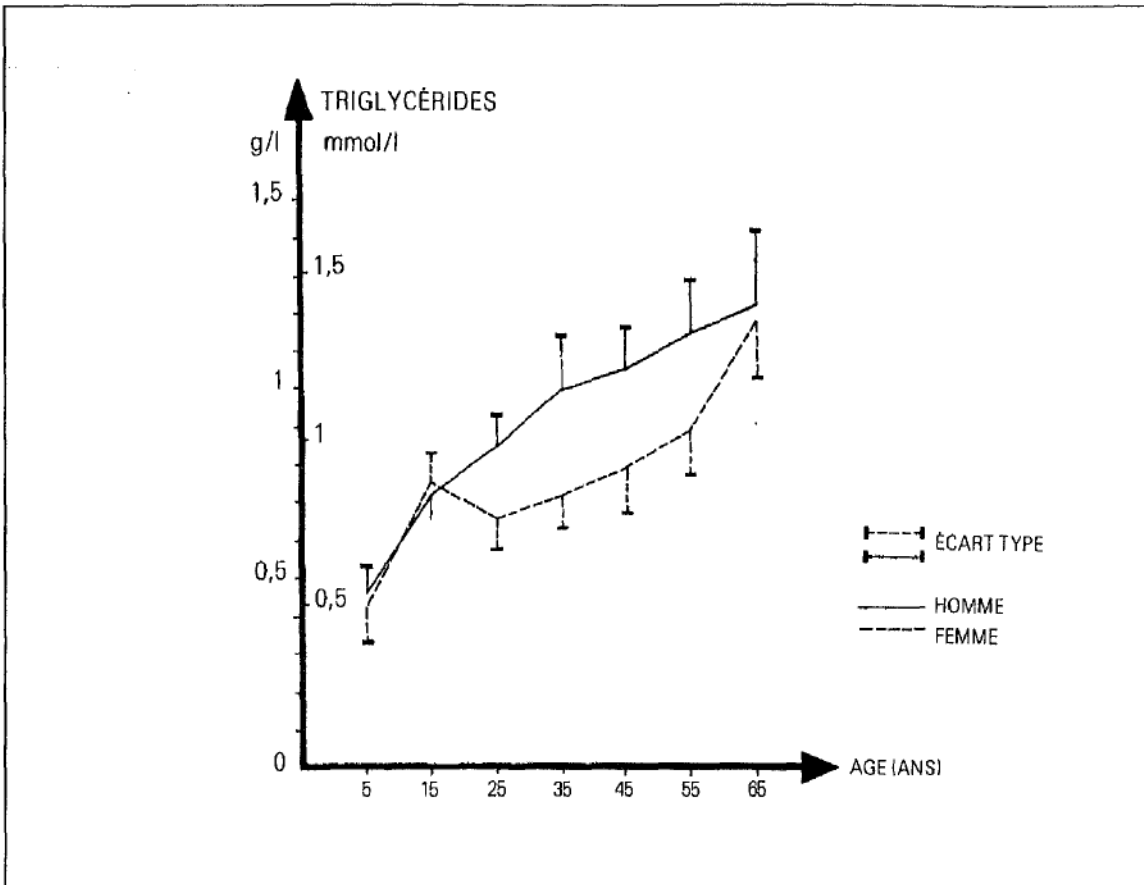


FIG. 6 : VALEURS PHYSIOLOGIQUES HABITUELLES DE LA TRIGLYCERIDEMIE EN FONCTION DE L'AGE ET DU SEXE (13)

Age	Risque modéré	Risque élevé
20-29	> 2,0 g/l (5,17 mM/l)	> 2,20 g/l (5,69 mM/l)
30-39	> 2,2 g/l (5,69 mM/l)	> 2,40 g/l (6,21 mM/l)
40 et plus	> 2,4 g/l (6,21 mM/l)	> 2,60 g/l (6,72 mM/l)

FIG. 7: CONCENTRATIONS SÉRIQUES EN CHOLESTEROL NECESSITANT UN TRAITEMENT CHEZ L'ADULTE (14)

Il est essentiel de savoir que le risque athérogène n'est pas le même selon la nature des lipoprotéines qui transportent ces lipides. De plus, dans un but de prévention, ces dosages sont très discutables. En effet, s'il est parfaitement prouvé qu'en moyenne, la concentration sérique en cholestérol et en triglycérides est plus élevée chez les sujets coronariens, en revanche, les enquêtes épidémiologiques prospectives ont démontré que ces paramètres et en particulier le cholestérol, ne permettaient pas de prévoir le risque cardiovasculaire chez un sujet donné. Les chevauchements entre les populations pathologiques et normales sont très importants : 80% (cf FIG 8 ET 9) (15).

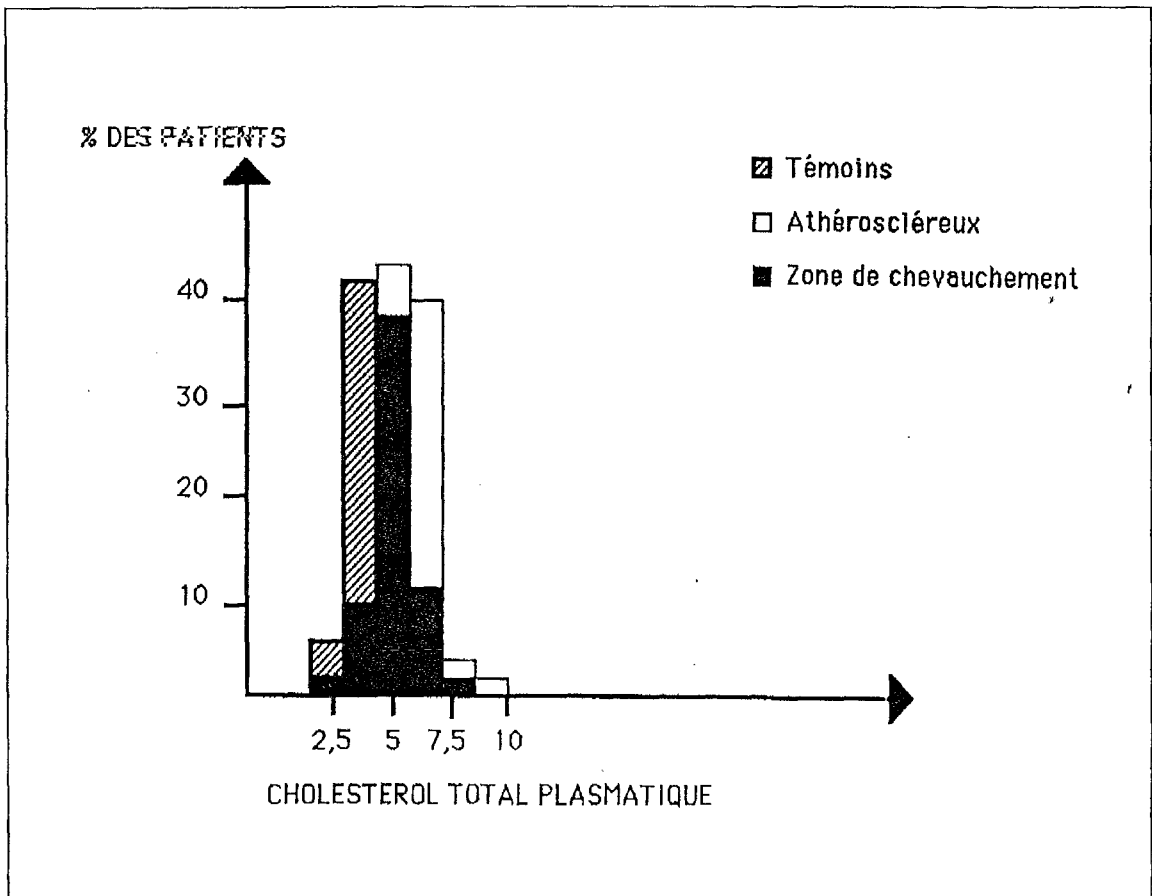


FIG. 8 : TAUX DE CHOLESTEROL PLASMATIQUE EN FONCTION DU % DES PATIENTS TEMOINS, ATHEROMATEUX, ET ZONE DE CHEVAUCHEMENT (15)

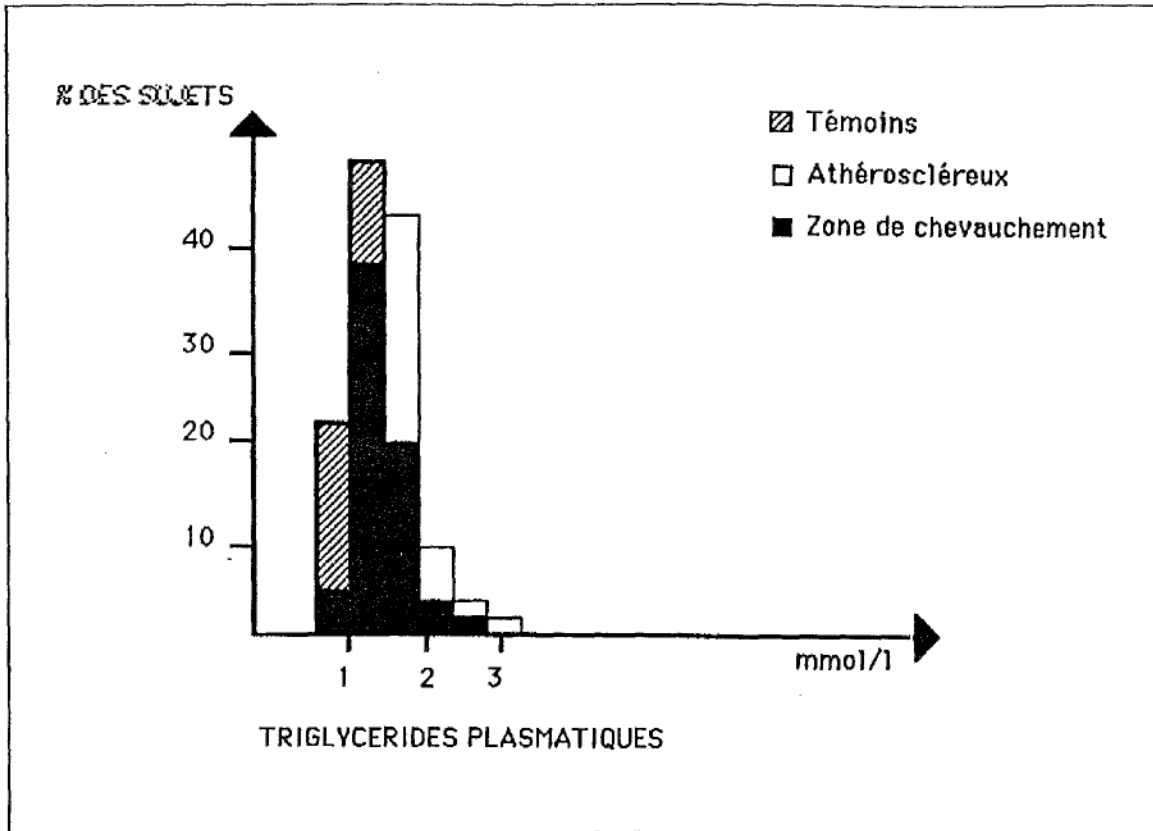


FIG. 9 : TAUX DE TRIGLYCERIDES SELON LES MEMES CRITERES DE CLASSEMENT (15)

On ne peut conclure qu'un sujet est à "risque cardio-vasculaire " qu'à partir d'une concentration sérique en cholestérol élevée. La détermination de cette valeur seuil est source de nombreuses discussions. Le coût humain et social de la maladie coronaire est encore aggravé par le fait qu'elle atteint l'homme dès l'âge moyen de sa vie et n'est nullement l'apanage de la vieillesse , ni du sexe masculin (les femmes étant surtout atteintes après la ménopause). Par exemple, si on évalue à 110000 le nombre annuel d'infarctus en France , 40% d'entre eux surviennent avant l'âge de 65 ans. Chaque année , 160000 personnes sont hospitalisées pour une insuffisance coronaire aiguë (infarctus ou angor instable) soit environ 430 hospitalisations quotidiennes en service spécialisé (soins intensifs , réanimation). La mortalité cardiaque , dûe largement à l'athérosclérose coronaire , représente 22% des décès de toute cause soit 122000 morts en 1985. L'athérosclérose a

également une responsabilité importante dans la morbidité et la mortalité vasculaire extra-cardiaque.

En conséquence , le " consensus français sur le cholestérol et les dyslipoprotéinémies" élaboré par le conseil d'administration du Comité français de coordination des Recherches sur l'Athérosclérose et le Cholestérol (ARCOL) préconise un examen de dépistage chez l'adulte au moins tous les cinq ans selon des critères restrictifs (16). "Une concentration sérique de cholestérol total est satisfaisante lorsqu'elle est inférieure à 1,80 g/l chez un sujet de moins de 20 ans et inférieure à 2 g/l chez un sujet de plus de 20 ans. Toute concentration sérique en cholestérol total supérieure à 2 g/l chez l'adulte doit être prise en considération : il importe alors de faire des analyses complémentaires pour savoir s'il y a effectivement anomalie et risques ". Enoncer un verdict aussi singulier revient à annoncer que plus de la moitié des français, sont anormaux , c'est à dire malades potentiels au lieu des 5 % habituellement recensés. Nous allons voir maintenant quels sont les paramètres complémentaires qui permettent d'évaluer le risque athérogène.

### III . LIPOPROTEINES ET ATHEROSCLEROSE

Ainsi, pour évaluer le risque athérogène, il n'est pas suffisant de doser les lipides ; le dosage du cholestérol et des triglycérides , surtout lorsque les valeurs ne sont pas extrêmes , doit être complété par celui des lipoprotéines.

#### 1 . Structure générale des lipoprotéines

Les lipoprotéines représentent la forme de transport des lipides dans le sang . Leur structure est en perpétuel remaniement du fait de nombreux échanges intermoléculaires. Dans le sang , les lipoprotéines circulent sous forme de micelles sphériques présentant une enveloppe monocouche formée par les lipides polaires ou hydrophiles (cholestérol et phospholipides) et par les apolipoprotéines. Le noyau central est composé de lipides non polaires ou hydrophobes , c'est à dire essentiellement de triglycérides et d'esters du cholestérol (cf. FIG. 10)(17).

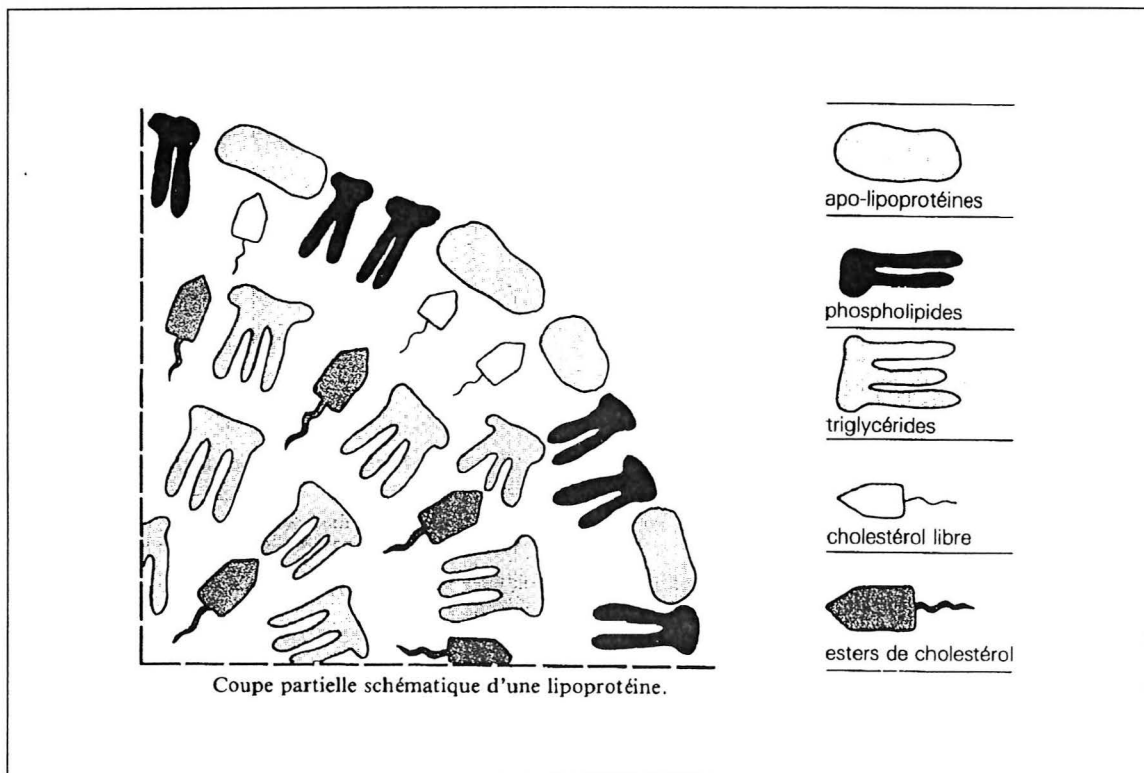


FIG. 10 : COUPE PARTIELLE SCHEMATIQUE D'UNE LIPOPROTEINE (17)

C'est l'enveloppe monocouche qui assure la solubilité et la stabilité de la particule dans le plasma. Les apolipoprotéines sont des protéines spécifiques des lipoprotéines et appartiennent à différents groupes A , B , C , D et E. Il est donc logique d'envisager l'existence de différentes familles de lipoprotéines (LpA , LpB) mais les classifications usuelles sont basées sur des critères électrophorétiques ou d'ultracentrifugation.

## 2 . Classification des lipoprotéines

L'utilisation de la classification des lipoprotéines en fonction de critères physico-chimiques tels que la densité , la charge électrique , la taille ou l'interaction avec des agents précipitants , a permis de révéler vers les années 1975 qu'il existait dans le plasma des lipoprotéines athérogènes (LDL) favorisant le dépôt de cholestérol dans les tissus, et des lipoprotéines "protectrices" (HDL) captant le cholestérol tissulaire pour le ramener au foie en vue de son excrétion.

On distingue ainsi , sur la base de leur densité hydratée et par ordre de taille décroissante , quatre grandes classes de lipoprotéines (18) :

- les chylomicrons ( $d=0,94$ )

ne migrent pas en électrophorèse et ne sont normalement présents dans le sang qu'en période post-prandiale. Synthétisés au niveau de l'intestin à partir de lipides d'origine alimentaire, ils assurent le transport de ceux-ci vers les sites d'utilisation et de stockage.

- les VLDL ou Very Low Density Lipoprotéin ( $0,94 < d < 1,006$ )

correspondent en électrophorèse aux pré-béta-lipoprotéines. Elles représentent, chez le sujet normal, 10 à 15% des lipoprotéines circulantes. Synthétisées au niveau du foie et de l'intestin , elles assurent le transport des triglycérides endogènes.

- les LDL ou Low Density Lipoprotéin ( $1,019 < d < 1,063$ )

migrent en électrophorèse en position bêta. Elles constituent 50 à 60 % de l'ensemble des lipoprotéines et assurent le transport du cholestérol et des phospholipides du foie vers les cellules périphériques pour lesquelles ces derniers sont des constituants structurants indispensables. Les LDL comprennent une fraction majeure LDL2 et une fraction mineure LDL1 appelée encore IDL (Intermediary Density Lipoprotein). Ces IDL migrent en électrophorèse en position bêta-pré-bêta. Elles résultent de la délipidation plasmatique des VLDL et sont les précurseurs des LDL2. En l'absence de maladie métabolique, elles ne sont trouvées qu'en très faible concentration dans le sérum.

- les HDL ou High Density Lipoprotein ( $1,063 < d < 1,210$ )

migrent en électrophorèse en position alpha. Elles représentent 30 à 35 % des lipoprotéines et sont produites par le foie et l'intestin sous une forme native discoïde, puis se développent complètement dans le plasma. Elles ont pour rôle de transporter le cholestérol des tissus périphériques vers le foie en vue de son excrétion. Les HDL se subdivisent en HDL3 prépondérantes, HDL2 et HDL1 (fraction mineure isolée avec les LDL).

- Les lipoprotéines Lp(a) appelées aussi "sinking pre-bêta-lipoproteins"

migrent en électrophorèse en position pré-bêta mais ont une densité intermédiaire entre celles des LDL2 et des HDL. Elles sont quantitativement peu importantes (0,14 g/l) ; leur rôle et leur fonction restent encore relativement mal connus (19).

a . Répartition

Chez le sujet à jeûn, pour une concentration globale de l'ordre de 8 g/l, on trouve en moyenne 12% de VLDL, 50% de LDL2 et 37% de HDL. Il est ce-

pendant plus courant d'apprécier la répartition des lipoprotéines sur la base de leur teneur en cholestérol.

En règle générale, et tout au moins avant la ménopause, il y a plus de HDL et moins de LDL et de VLDL chez la femme que chez l'homme. Ce sont les HDL2 qui sont systématiquement plus élevées en fonction de la production d'oestrogènes, alors que les HDL3 (75% des HDL totales) en général également plus élevées, dépendent surtout du sujet. Dans les deux sexes, les plus grandes variabilités s'observent au niveau des VLDL puis des LDL; l'âge, le mode d'alimentation, le poids, le degré de sédentarité, sont les principaux facteurs de variation.

Répartition des lipoprotéines en classes, sur la base de leur densité hydratée					
	DENSITÉ (g ml <sup>-1</sup> )	DIAMÈTRE (nm)	P.M. moyen	M.E.	
Chylomicrons	< 0,94	10 <sup>2</sup> - 10 <sup>3</sup>	5 . 10 <sup>9</sup>	origine	
VLDL	0,94 - 1,006	30 - 70	7,5 . 10 <sup>6</sup>	pré-β	
LDL	LDL <sub>1</sub> (IDL)	15 - 25	2,5 . 10 <sup>6</sup>	β	
	LDL <sub>2</sub>				1,019 - 1,063
HDL	HDL <sub>1</sub>	6 - 14	3,9 . 10 <sup>5</sup>	α	
	HDL <sub>2</sub>				1,063 - 1,125
	HDL <sub>3</sub>				1,125 - 1,21
VHDL	1,21 - 1,25		1,5 . 10 <sup>5</sup>		
Alb - AGL	> 1,25			Albumine	
Lp(a)	1,055 - 1,085			pré-β	

\* : représente moins de 5 % des LDL isolées par ultracentrifugation.  
P.M. : poids moléculaire.  
M.E. : mobilité électrophorétique sur agarose.

FIG. 11 : REPARTITION DES LIPOPROTEINES EN CLASSES, SUR LA BASE DE LEUR DENSITE HYDRATEE (20)

b . Composition pondérale

Les éléments de la figure 12 (21) schématisent la composition des principales classes de lipoprotéines et la composition en apolipoprotéines de l'enveloppe protéique des lipoprotéines.

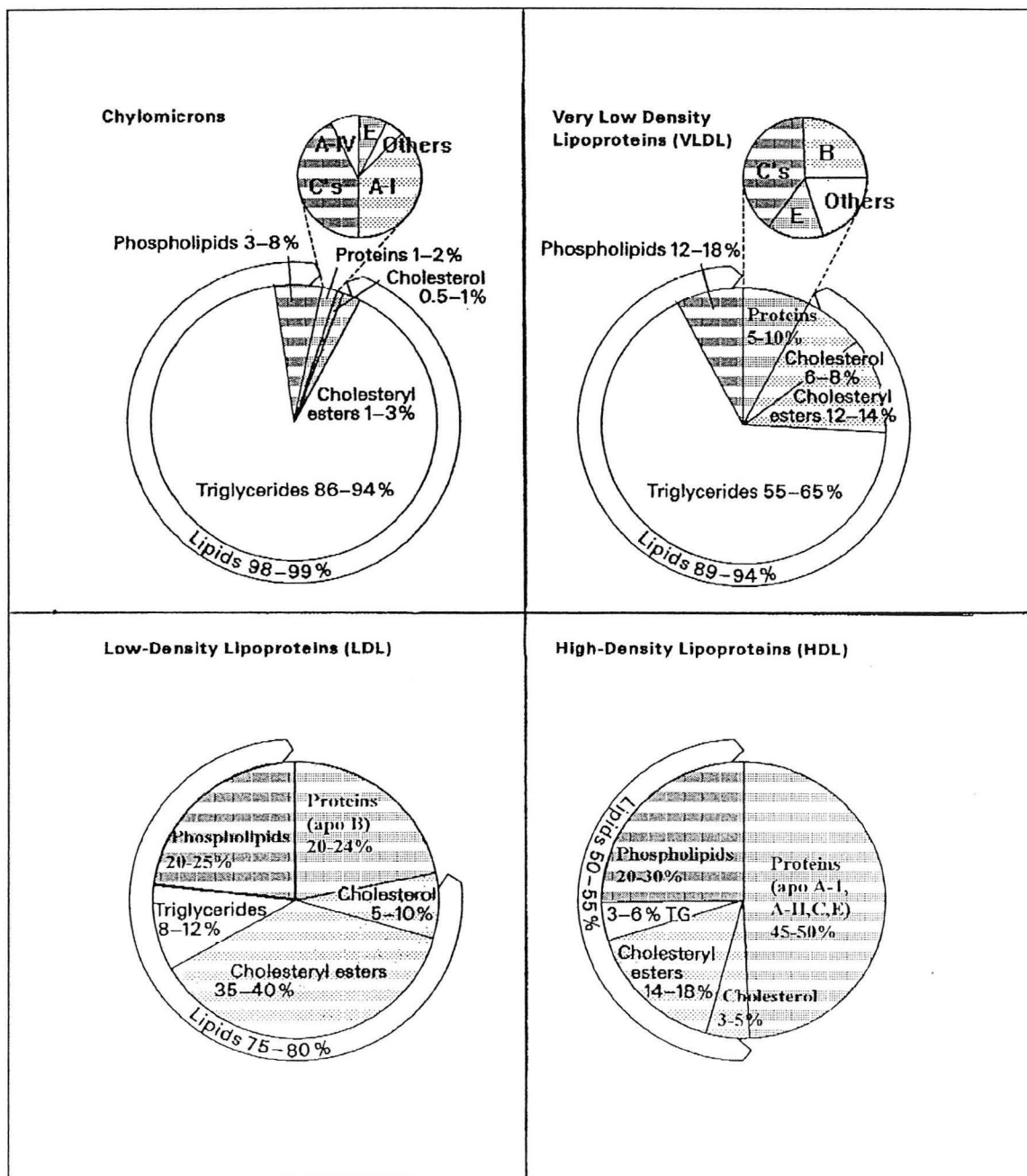


FIG. 12 : COMPOSITION OF LIPOPROTEINS (21)

### 3 . Métabolisme

#### a . Devenir des graisses alimentaires

Au niveau gastrique , les graisses alimentaires se séparent des protéines et une macro émulsion se forme . La lipase gastrique libère les acides gras à partir des triglycérides.

Au niveau intestinal , les sels biliaires transforment la macro émulsion en micro émulsion .

Le suc pancréatique va agir par ses trois enzymes lipolytiques principaux :

- la lipase pancréatique qui hydrolyse les triglycérides , détache les acides gras donnant ainsi naissance aux di et monoglycérides.
- la phospholipase qui hydrolyse les phospholipides .
- la cholestérol estérase qui transforme le cholestérol estérifié en cholestérol libre.

Les acides gras et deux monoglycérides libérés vont former des micelles en présence des sels biliaires . Ce sont ces micelles qui vont permettre l'absorption par la muqueuse du duodénum des acides gras libres , du glycérol , des monoglycérides et du cholestérol. Cholestérol , triglycérides , s'associent aux phospholipides et aux apolipoprotéines (l'apo B est indispensable) synthétisées "in situ " , pour former des chylomicrons , qui , libérés dans la lymphe intestinale rejoindront la circulation générale au niveau du canal thoracique.

#### b . Métabolisme intravasculaire des chylomicrons (22)

Dans le sang circulant , la demi-vie des triglycérides des chylomicrons est brève (environ 20 mn) . Ceci est dû au fait qu'en période nutritionnelle , la lipoprotéine

lipase du tissu adipeux est très active sous l'effet de l'hyperinsulinémie déclenchée par le repas . D'autre part , les chylomicrons sont 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 , l'apo C2 en particulier , indispensable à l'action de la lipoprotéine lipase .

Deux possibilités se présentent :

-soit l'hydrolyse des chylomicrons est totale : formation d'acides gras libres , de glycérol , de di et de monoglycérides , qui sont soit captés par le muscle et le tissu graisseux pour la resynthèse des triglycérides , soit déversés dans la circulation.

-soit l'hydrolyse des chylomicrons est incomplète : formation d'une particule résiduelle appelée "remnant" . L'apo C2 rejoint alors l'HDL(23). Le foie , qui possède une triglycéride lipase , capte , après hydrolyse , ces particules résiduelles.De 70 à 120 g de graisses alimentaires sont ainsi quotidiennement concernées . L'épuration globale après le repas , se fait en moins de 6 heures chez un sujet normalement pourvu de lipoprotéine lipase . Par contre tout déficit enzymatique conduit à des hyperchylomicronémies et donc à des hypertriglycéridémies souvent massives et permanentes.

### c . Métabolisme intravasculaire des VLDL

L'origine des VLDL est double :

-entérocytaire , à partir d'acides gras endogènes , en dehors des périodes postprandiales .

-hépatocytaire surtout, à partir d'acides gras endogènes , en présence d'apo B.

Ces VLDL natives sont riches en triglycérides endogènes et également en cholestérol . Comme les chylomicrons , ces VLDL reçoivent dans le sang un complément d'apo C fourni par les HDL .De 15 à 50 g de triglycérides VLDL sont épurés quotidiennement par la lipoprotéine lipase des tissus extra-hépatiques . La demi-vie des triglycérides est ici d'environ 4 heures car les VLDL , moins riches en triglycérides et de taille moindre , constituent un moins bon substrat que les chylomicrons . Par perte progressive des triglycérides et d'apo C qui retournent sur les HDL, on passe aux LDL1 (IDL) déjà riches en cholestérol estérifié et en apo B mais contenant encore des proportions appréciables de triglycérides . Ces LDL1 continuent à perdre leurs triglycérides par action de la triglycéride lipase hépatique . On passe ainsi au stade de LDL2 riches en cholestérol estérifié 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 . Le foie a longtemps été considéré comme le site majeur des LDL2 , mais on sait maintenant que celui-ci est essentiellement constitué par les tissus extra-hépatiques disposant de récepteurs membranaires . La fixation des LDL2 est suivie d'une protéolyse de l'apo B et d'une hydrolyse de la liaison ester du cholestérol estérifié avec cession du cholestérol libre formé , aux membranes cellulaires . Ce cholestérol libre est ensuite utilisé pour la synthèse membranaire et la synthèse stéroïdienne.

#### d . Métabolisme intravasculaire des HDL

Les HDL natives d'origine hépatique et entérocytaire ont une structure en double feuillet (forme discoïde). Elles sont riches en phospholipides , en cholestérol libre , en apo E mais contiennent peu d'apo A1(24) . Elles transportent en outre des apo C échangeables avec les VLDL et les chylomicrons . L'intestin est la

source majeure d'apo A1 transportée par les chylomicrons dont le catabolisme intravasculaire conduit , sous l'action de la lipoprotéine lipase du tissu adipeux , à des particules résiduelles ensuite métabolisées par le foie . Au niveau des espaces de Disse , les apo A1 sont transférées sur les HDL natives , où elles remplacent progressivement les apo E . La Lécithine Cholestérol Acyl Transférase (LCAT) des HDL activées par les apo A1 transférées , induit l'estérification du cholestérol libre . Le cholestérol estérifié formé , hydrophobe , peut s'insérer dans la partie hydrophobe des HDL , repoussant les deux feuillettes pour donner rapidement à la macromolécule une configuration sphérique.L'inclusion du cholestérol estérifié au sein de la molécule laisse en périphérie des places libres pour de nouvelles molécules de cholestérol libre. L'apo D , fournie par les HDL , transfère ce cholestérol estérifié vers les LDL et les "remnants" qui sont ensuite catabolisés par le foie : c'est le processus de retour du cholestérol vers le foie , suivi de son excrétion biliaire.Les HDL sont également catabolisées par le foie , constituant ainsi une autre voie de passage du cholestérol estérifié dans la bile ( cette voie a été mise en évidence chez l'animal hypercholestérolémique ) .

#### e . Conclusion de ces métabolismes

La figure 13 (25) présente le métabolisme général des lipoprotéines.



Ceci illustre les résultats de l'étude de Framingham , qui a montré que si le taux de cholestérol LDL est corrélé positivement avec le risque artériel , le taux de cholestérol HDL l'est négativement.

#### 4 . Méthodes d'étude des lipoprotéines

##### a . Prélèvement de sang en vue de l'étude des lipoprotéines à jeûn

Le sang doit être prélevé sur EDTA après une période de 12 heures de jeûne (concentration EDTA : 1,3 mmol/l ). Les analyses sont effectuées sur les plasmas prélevés le jour même (en particulier s'il s'agit d'études électrophorétiques sur papier , acétate de cellulose ou gel d'agarose) ou sur des plasmas conservés pendant moins de deux semaines à + 4°C en présence de merthiolate de sodium (0,5 mmol/l).

##### b . Méthodes d'analyse qualitative des lipoprotéines par électrophorèse (26)

Rapide et simple , l'électrophorèse de zone est couramment utilisée pour l'analyse qualitative des lipoprotéines . Son pouvoir de résolution dépend de la qualité du support utilisé. Deux types de méthodes peuvent être définies ;

##### b1. Méthodes de séparation en fonction de la charge des lipoprotéines

\* Electrophorèse sur papier : de nombreux essais de fractionnement de lipoprotéines ont été réalisés dès que l'électrophorèse sur papier fut entrée dans la pratique courante. Lors de la séparation au tampon véronal pH = 8,6 et en migration horizontale , les auteurs observaient derrière les alpha et bêta lipoprotéines qui correspondaient respectivement aux HDL et aux LDL , une traînée de lipoprotéines après coloration au noir de Soudan . Cette méthode n'a plus qu'un intérêt

historique . La séparation des lipoprotéines en électrophorèse sur papier vertical en cuve Durrum a permis à Frederickson de proposer une classification typologique des hyperlipoprotéinémies.

\*Electrophorèse sur acétate de cellulose : sur ce support les migrations électrophorétiques sont rapides et la séparation des fractions bêta et pré-bêta-lipoprotéines en particulier sont nettes . Cependant on constate que les chylomicrons du sérum migrent en traînée située en grande partie dans la zone des pré-bêta-lipoprotéines ou ne restent pas fixés au point de dépôt . La migration électrophorétique de ces particules exogènes est fonction de leur taille .

\*Electrophorèse sur gel d'agar : elle s'adapte parfaitement à la recherche de la Lp X , lipoprotéine anormale , qui apparaît dans le sérum des sujets présentant un ictère par obstruction . La Lp X qui en principe , ne migre pas du fait du flux d'électroendosmose sur ce support , se déplace vers la cathode et se sépare ainsi des autres lipoprotéines . La révélation peut se faire par précipitation par les polyanions ou par un immun sérum anti-Lp X.

### b2 . Méthodes de séparation en fonction de la taille des lipoprotéines et accessoirement en fonction de leur charge.

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide réalise une séparation où le principe de l'électrophorèse est associé à l'emploi d'un gel effectuant un tamisage moléculaire . Le facteur de taille moléculaire intervient alors en plus de la charge électrique et de ce fait , la migration des VLDL et des LDL est inversée par rapport à celle obtenue sur les autres supports (27) .

La séparation s'effectue le plus souvent en gel de polyacrylamide à gradient discontinu de concentration avec depuis le point de départ :

- un gel à 2% d'acrylamide destiné à retenir les chylomicrons éventuels ,
- éventuellement un gel de concentration à 3,25% d'acrylamide,
- un gel de séparation à 3% d'acrylamide.

Ces gels sont coulés dans des tubes ou sur film plastique (plaques d'acrylamide-agarose). Les lipoprotéines sont pré-colorées soit avec du noir Soudan acétylé ou succinylé, soit avec du diformazan de nitro bleu de tétrazolium. Lors de la migration, les chylomicrons se séparent nettement des VLDL et restent dans le gel à 2%. Les VLDL traversent le gel à 2% en acrylamide et se localisent juste à la limite du gel de concentration supérieure en une bande plus ou moins intense rassemblant les plus grosses molécules. Les LDL forment une bande parfaitement séparée des VLDL et la région diffuse de l'anode correspond aux HDL. Certains sérums hyperlipémiques peuvent présenter une bande supplémentaire située juste au-dessus de celle correspondant aux LDL : cette bande correspond à la Lp (a). Dans certains sérums riches en VLDL, une bande supplémentaire 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 des diagrammes d'électrophorèse de sérums ayant un taux anormalement élevé en triglycérides et s'apparente aux lipoprotéines intermédiaires (IDL) formées lors du catabolisme des VLDL et LDL. Le gel de polyacrylamide réalisé en gradient discontinu assure donc une excellente séparation des différentes lipoprotéines et permet un typage facile des hyperlipoprotéïnémies. Il permet également de soupçonner la présence d'une hyperlipoprotéïnémie de type III. En effet, alors que sur gel d'agarose, la lipoprotéine anormale du type III paraît en position bêta, sur gel de polyacrylamide elle se comporte comme les VLDL ou les IDL. On observe dans ce cas, malgré l'hypercholestérolémie, une absence quasi complète de la bande des LDL (28). En ce qui concerne l'interprétation du lipoprotéinogramme, il importe de savoir que le lipoprotéinogramme 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 normolipémique mais il faut savoir qu'il n'existe aucune relation linéaire entre la concentration en lipoprotéine et l'intensité de la coloration. Seuls des facteurs de correction difficiles à établir pourraient permettre une standardisation des valeurs obtenues.

Il semble donc dangereux de prendre en considération des résultats de lipoprotéinogramme en pourcentages car ces pourcentages ne sont en aucun cas des valeurs absolues correspondant à une concentration en lipoprotéine et peuvent induire le médecin en erreur . De ce fait , un lipoprotéinogramme ne peut s'interpréter, qu'en ayant la connaissance du bilan lipidique (cholestérol , triglycérides).

### c . Méthodes d'analyse quantitative ou semi - quantitative

Bien que s'adaptant aux dosages de tout type de lipoprotéines elles seront plus particulièrement étudiées pour le dosage des HDL(29).

#### c1 . Précipitation sélective : estimation turbidimétrique des lipoprotéines

En présence de cations bivalents , les polysaccharides sulfatés , le phosphotungstate de sodium et les polyphosphates sont susceptibles de précipiter à pH neutre toutes les classes de lipoprotéines . La précipitation dépend de la nature de l'anion ou du cation , de la conservation des réactifs et de la force ionique. La formation de complexe insoluble lipoprotéine-polyanion-cation est fonction du rapport protéine / lipide de la lipoprotéine . En augmentant progressivement la concentration de réactifs , on peut obtenir une précipitation sélective des différentes lipoprotéines . Pour doser les HDL on précipitera ainsi sélectivement les lipoprotéines de basse densité et après centrifugation on dosera le cholestérol du surnageant qui ne contient plus que les HDL.

#### \*Méthode utilisant l'héparine et le chlorure de manganèse

Préconisée par le " Lipid Research Clinics " cette méthode a fait l'objet de diverses études (30)(31) . Il ressort de ces travaux que la concentration optimale en héparine se situe à 8000 unités /ml . Dans le premier protocole préconisé , la concentration finale en  $Mn^{2+}$  était de 46 mmol/l , mais dans ces conditions la précipitation des lipoprotéines autres que les HDL est incomplète . Avec une

concentration finale en  $Mn^{2+}$  de 32 mmol/l avec addition séparée de l'héparine et du chlorure de manganèse, on ne retrouve de l'apo B dans le surnageant que dans 19 % des cas. Le mélange préalable de l'héparine et du chlorure de manganèse permet de réduire le temps d'incubation à 10 minutes et d'opérer à température ambiante mais dans ce cas seule une partie des HDL est précipitée. Avec ces techniques de précipitation, le dosage du cholestérol doit être réalisé avec une méthode non enzymatique car les ions  $Mn^{2+}$  interfèrent avec les réactifs des méthodes enzymatiques et il se forme un fin précipité. Ce précipité disparaît lorsqu'on ajoute de l'EDTA mais les interférences demeurent. D'autre part, il semble important d'utiliser toujours le même lot d'une héparine provenant de la même source. Il arrive fréquemment qu'avec des sérums de sujets hyperlipémiques ou de sujet non à jeûn, les surnageants soient turbides. Il est alors possible de procéder à une ultrafiltration qui entraîne cependant une légère perte d'HDL. Le dosage enzymatique du cholestérol n'étant pas possible, ces méthodes ne sont pas automatisables.

\*Méthode utilisant le sulfate de dextran associé au sulfate ou chlorure de magnésium. Dans cette méthode les lipoprotéines de basse densité sont précipitées par addition à 1 ml de sérum de 0,05 ml de sulfate de dextran 500 (20 mg/l) et de 0,1 ml d'une solution de sulfate de magnésium 1,1 mol /l. Après 5 minutes d'incubation et de centrifugation le cholestérol des HDL peut être déterminé sur le surnageant par une méthode enzymatique. Dans le cas de sérums hyperlipémiques, il convient de diluer au 1/2 le sérum avec du sérum physiologique et de renouveler l'opération en tenant compte de la dilution et de doser le cholestérol sur le surnageant clair. Cette méthode semble séduisante dans son principe mais d'après certains auteurs une partie des HDL seulement serait précipitée d'où une erreur par défaut.

### \*Méthodes utilisant le phosphotungstate de sodium associé au chlorure de magnésium

Dans cette méthode , les lipoprotéines de basse densité sont précipitées par addition au sérum d'une solution de phosphotungstate de sodium et de chlorure de magnésium. Cette méthode est très simple et donne de bons résultats à condition de stabiliser le pH du réactif . Néanmoins , il est fréquent d'obtenir des sur-nageants turbides même pour les sérums non hyperlipémiques et, d'après certains auteurs , une partie seulement des HDL serait précipitée d'où une erreur par défaut. Ces méthodes sont automatisées et utilisées en routine.

### c2 . Ultracentrifugation de flottation

La séparation des lipoprotéines par ultracentrifugation met à profit les différences entre les densités respectives des diverses catégories de lipoprotéines sériques (32). La présence de lipides dans la molécule confère en effet aux lipoprotéines une densité inférieure à celle des autres protéines du sérum , ce qui permet leur isolement par flottation dans un champ d' accélération très élevé . L'ultracentrifugation analytique , qui permet l'analyse qualitative des lipoprotéines , est considérée comme une méthode de référence . Le déplacement des lipoprotéines est suivi par un procédé d'enregistrement optique. Les différents clichés photographiques pris après des temps de centrifugation déterminés permettent de calculer la vitesse de déplacement caractéristique de chaque classe pour des conditions de densité, de température , et de viscosité données. L'ultracentrifugation préparative réalisée sur rotors classiques ou sur rotors zonaux permet la récupération des lipoprotéines purifiées et un dosage de leurs différents constituants . Ces méthodes sont très laborieuses et nécessitent un matériel très sophistiqué . Elles ne sont donc applicables que dans des laboratoires très spécialisés.

## 5 . Intérêt du dosage des HDL

De nombreux auteurs ont démontré que les HDL exercent un pouvoir protecteur vis à vis de l'athérosclérose .Dans une étude menée de 1968 à 1977 sur 3000 sujets (The Framingham Study) et destinée à étudier l'influence de la teneur en lipides et en lipoprotéines du sérum sur la survenue d'un infarctus du myocarde , Gordon et coll.(cf FIG14 )(33) ont montré qu'il existait une corrélation inverse très significative entre le taux de HDL et le risque athérogène.

Une autre étude effectuée sur 6595 hommes âgés de 20 à 49 ans pendant deux ans par Miller et coll. (34) aboutit à des conclusions identiques.D'après Rhoads et coll. (cf FIG 15)(35) , le risque athérogène est proportionnel au taux de cholestérol LDL et inversement proportionnel au taux de cholestérol HDL.

Il convient donc d'adjoindre aux six types d'hyperlipoprotéïnémies couramment décrites l'hyperHDLémie et l'hypoHDLémie . L' hyperHDLémie peut être primaire et isolée (taux normaux de LDL et de VLDL) et représente alors un statut "d'anti - risque ou de protection ".L' hyperHDLémie peut être aussi associée à une surcharge en LDL ce qui représente alors une surcharge combinée en cholestérol de "risque et d'anti - risque " (36).

*A. Cholestérol HDL en valeur absolue*

Cholestérol HDL (mmol/l)	Risque athérogène	
	Hommes	Femmes
0,65	2,00	-
0,78	1,82	-
0,90	1,49	-
1,03	1,22	1,94
1,16	1,00	1,55
1,30	0,82	1,25
1,42	0,67	1,00
1,55	0,55	0,80
1,68	0,45	0,64
1,80	-	0,52
1,93		

*B. Cholestérol HDL rapporté au cholestérol LDL ou au cholestérol total*

	Cholestérol LDL Cholestérol HDL		Cholestérol total Cholestérol HDL	
	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes
normal	3,55	3,22	5	4,40
risque multiplié par 2	6,25	5,03	9,51	7,00
risque multiplié par 3	7,99	6,14	23,0	11,0

FIG. 14 : INTERPRETATION DU RISQUE D' ATHEROSCLEROSE (33)

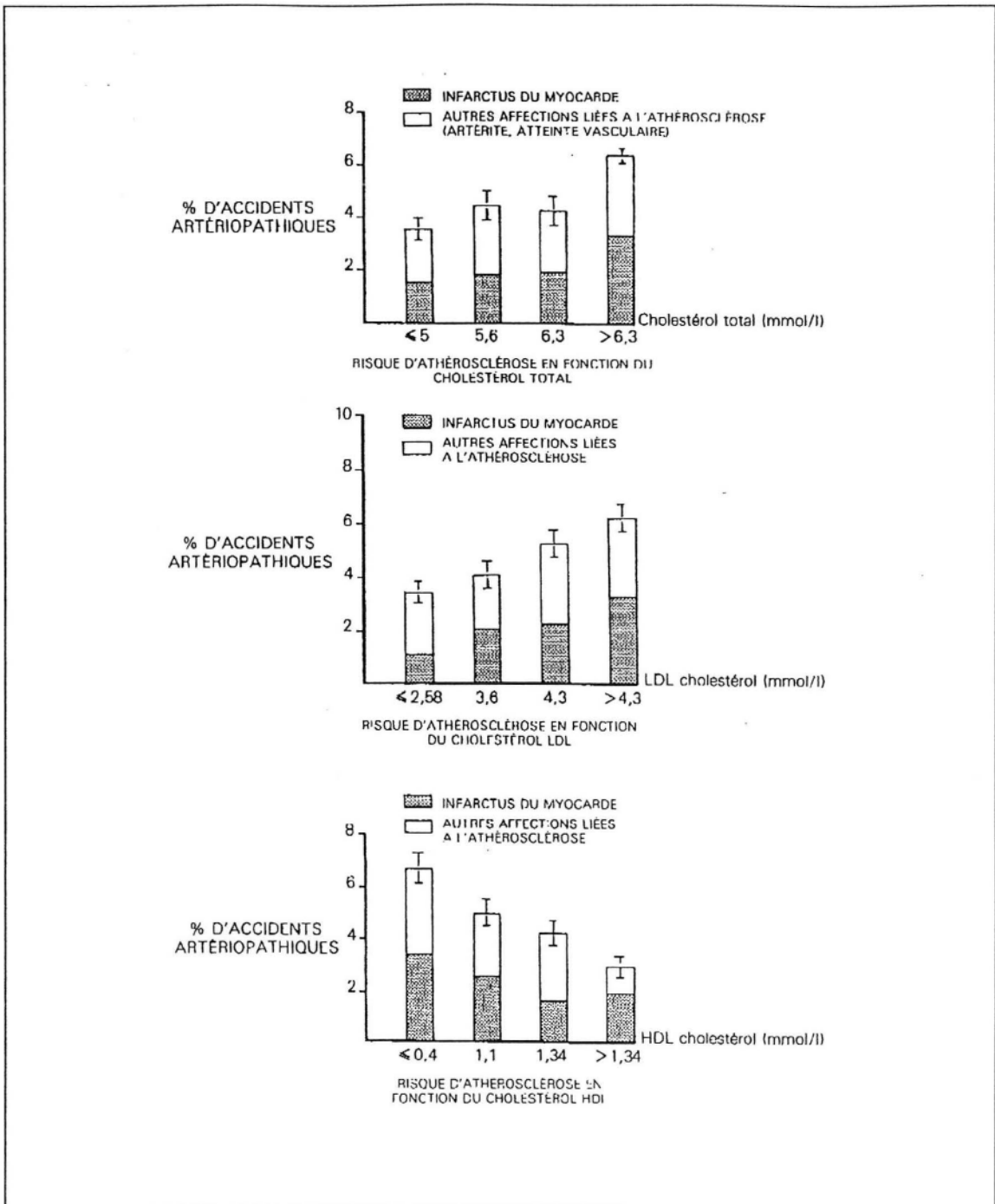


FIG. 15 : ETUDE DE LA CORRELATION ENTRE LA TENEUR EN CHOLESTEROL DES DIFFERENTES LIPOPROTEINES ET LE RISQUE ATHEROGENE (35)

En pratique, le diagnostic du type d'hyperlipoprotéinémie peut être le plus souvent posé uniquement à partir de l'inspection visuelle du sérum décanté associé à un dosage précis du cholestérol et des triglycérides. Ce bilan doit être systématiquement complété par un dosage du cholestérol des HDL évalué par une techni-

que de précipitation . En effet , l'établissement de différents index d'athérogénicité tel que Cholestérol TOTAL / Cholestérol HDL ( normale inférieure à 5 ) ou Cholestérol LDL + Cholestérol VLDL / Cholestérol HDL ( normale inférieure à 4 ) apporte une meilleure information pour prévoir un risque artériel ou pour séparer des sujets sains de sujets artériopathes que le dosage isolé des fractions de lipides. L 'hypoHDLémie apparaît aussi comme une nouvelle condition biologique associée positivement au risque artériel .L' hypoHDLémie peut également être isolée , primaire ou secondaire à certains processus pathologiques et être transmise sur le mode autosomique dominant . L 'hypoHDLémie est d'ailleurs souvent associée à certains types d'hyperlipoprotéïnémies particulièrement lors de poussées "lipidiques" ( types I, IIb , III , IV , V ).Dans de nombreuses situations ( régimes riches en hydrates de carbone , réduction pondérale , sédentarité , administration de chlofibrate , diabète , hypertriglycéridémies ) il existe une relation inverse entre le taux de triglycérides et la teneur du sérum en HDL : plus les triglycérides sont élevés plus les HDL sont basses . On peut donc se demander si le traitement d'une hypertriglycéridémie est bénéfique pour le patient si elle ne s'accompagne pas d'une augmentation des HDL.

A l'heure actuelle l'intérêt du dosage du cholestérol HDL par précipitation est le calcul du cholestérol LDL par la formule de Friedwald :  $C \text{ LDL} = C \text{ TOTAL} - C \text{ HDL} - TG / 5$  ( C pour cholestérol et TG pour triglycérides ) . Le résultat est exprimé en g / l et la formule est valable uniquement si le taux de triglycérides est inférieur à 3,5 g / l )(37).Cependant il convient d'émettre certaines réserves concernant les méthodes utilisant la précipitation sélective . En effet , en collaboration avec l'équipe d'Alaupovic ,J.C. Fruchart a montré que même si le contenu en cholestérol des fractions isolées par ultracentrifugation et précipitation sélective est voisin , il ne représente pas forcément celui des même particules lipoprotéiques . Il a notamment été démontré que sur la base de leur composition en apolipoprotéines ,les lipoprotéines non précipitables sont différentes des HDL . L 'utilisation du terme HDL pour ces préparations , bien que très répandue , doit donc être

évitée . Les mêmes réserves doivent être portées pour les méthodes par précipitation utilisées pour évaluer les HDL2 , HDL3 et LDL.

## 6 . Mise en évidence et dosage des lipoprotéines particulières

### a . Lipoprotéine Lp (a)

La lipoprotéine Lp (a) est une lipoprotéine particulière de densité comprise entre celle des LDL et celle des HDL . Sa présence dans la plaque d'athérome semble indiquer qu'elle est impliquée dans l'athérogénèse . Elle est présente dans le sang de tous les individus mais à des concentrations extrêmement variables.

La lipoprotéine Lp (a) peut être détectée dans le plasma :

-par des méthodes électrophorétiques et immunologiques sur des supports classiques d'électrophorèse (agarose , acétate de cellulose)(36). Sa migration au niveau pré-bêta rend difficile voire impossible son repérage . En revanche , lorsque le lipoprotéinogramme est effectué sur gel de polyacrylamide en gradient discontinu de pH et de concentration , la Lp (a) s'individualise très nettement des autres lipoprotéines et se situe juste au-dessus des LDL . Il a été montré que la limite inférieure de détection à l'aide de cette méthode se situait aux environs de 0,25 g /l (cf FIG 16)(38).

-par des méthodes immunologiques classiques ( immunodiffusion radiale , électro-immunodiffusion ) pourvu que l'on dispose d'un immun sérum monospécifique vis à vis de la Lp (a). De nombreux travaux donnent à penser que la Lp (a) est athérogène : l'élévation conjointe du taux de Lp (a) et de LDL semble dotée d'un potentiel athérogène particulier.

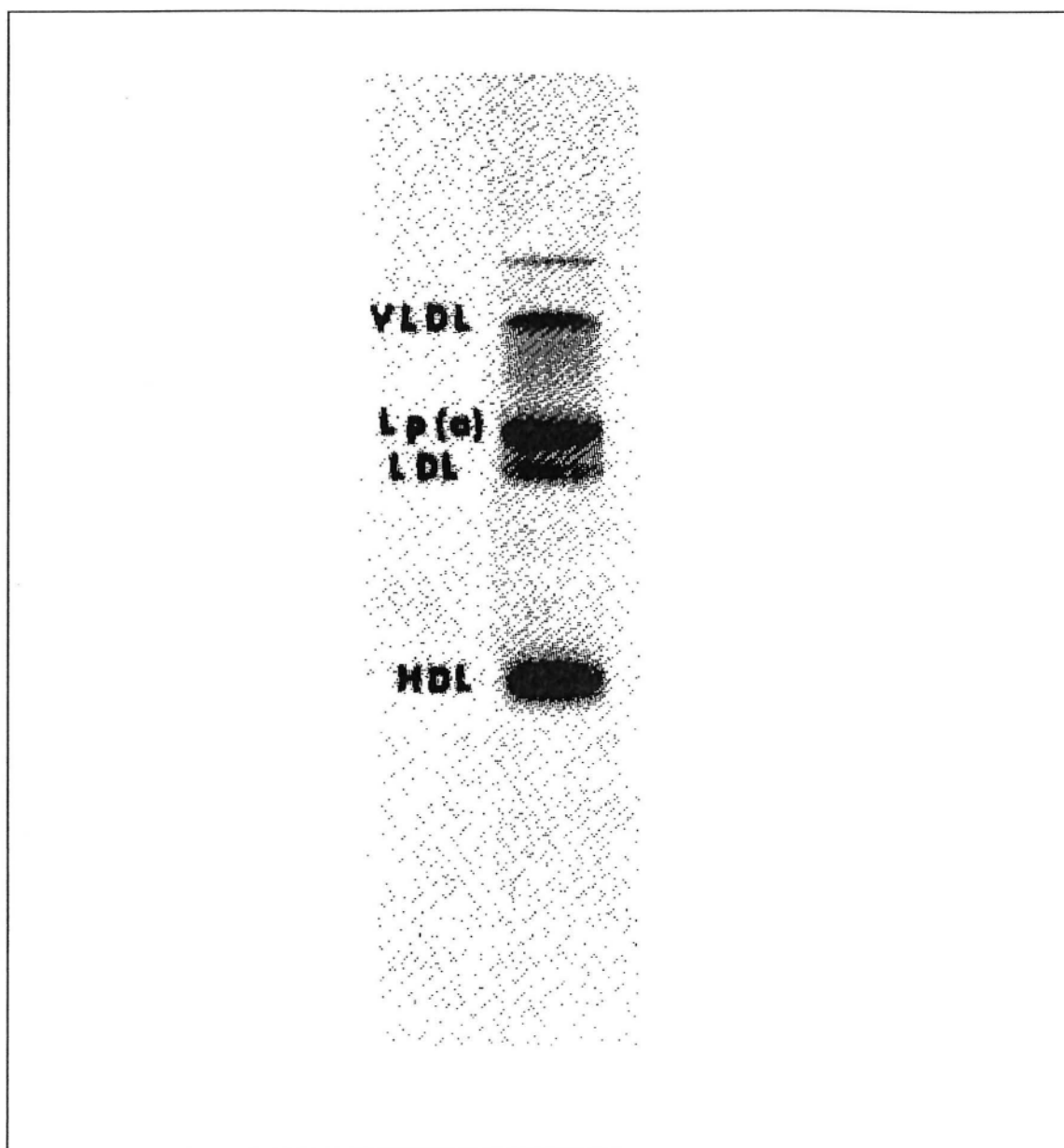


FIG. 16 : ELECTROPHORESE ANALYTIQUE SUR GEL DE POLYACRYLAMIDE D'UN SERUM ANORMALEMENT RICHE EN Lp (a)(38)

#### b . Lipoprotéine X

Le sérum des sujets présentant un ictère par obstruction renferme une lipoprotéine anormale spécifique de la cholestase , riche en cholestérol et en phospholipides : la Lp X. La recherche de cette lipoprotéine se fait après électrophorèse sur gel d'agar ; en effet , la Lp X , qui en principe ne migre pas sur ce support , du

fait du flux d'électroendosmose important , se déplace vers la cathode et se sépare ainsi des autres lipoprotéines . La révélation peut se faire par précipitation avec l'héparinate de sodium et le chlorure de magnésium ou par un immun sérum anti -Lp X (39).

Le dosage de la Lp X peut être réalisé :

- en dosant le phospholipide ou le cholestérol libre qu'elle contient après séparation électrophorétique en gel d'agar .
- par des méthodes immunologiques lorsqu'on dispose d'un immun sérum spécifique .
- ou plus simplement par densitométrie de la fraction précipitée par le polyanion.

D'après Ritland (40) les concentrations plasmatiques en Lp X sont nettement plus élevées dans les cholostases extra-hépatiques que dans les cholostases intra-hépatiques et , de ce fait son dosage permettrait de différencier ces deux types d'ictères . Ce dosage serait d'autre part plus sensible que celui de la phosphatase alcaline pour rechercher l'existence d'une obstruction biliaire.

## IV . APOLIPOPROTEINES ET ATHEROSCLEROSE

### **1 . Structure et rôle des principales apolipoprotéines**

Les apolipoprotéines sont la partie protéique de la lipoprotéine . Elles sont dénommées par une lettre de l'alphabet selon la nomenclature d'Alaupovic . Cette lettre peut être suivie d'un chiffre lorsqu'au sein d'une même famille d'apolipoprotéines la structure primaire varie . A un degré de plus , pour une même structure primaire , il peut exister des sous variétés déterminées par des modifications de migrations électrophorétiques liées pour certaines apolipoprotéines à un contenu variable en acide sialique. Ces apolipoprotéines jouent des rôles multiples; rôle structural , rôle de reconnaissance , rôle d'activateur ou d'inhibiteur enzymatique.

Une meilleure connaissance de ces protéines a permis des progrès considérables dans le domaine de la lipidologie depuis une dizaine d'années . Les différentes découvertes ont permis successivement de mieux comprendre le métabolisme des lipoprotéines puis le mécanisme physiopathologique de beaucoup d'hyperlipémies . Les résultats de ces données éclairent d'un jour nouveau les classifications des hyperlipémies et en particulier celle de Fredrickson dont l'inconvénient majeur est d'enfermer les différentes hyperlipémies dans une catégorie électrophorétique qui , non seulement varie d'un jour sur l'autre , mais de plus peut correspondre à des entités bien différentes sur le plan des complications cardiovasculaires.

Bien que plus d'une quinzaine d'apolipoprotéines soient connues (cf FIG. 17) (41) nous détaillerons celles dont le rôle est essentiel et la connaissance utile en pratique clinique.

APOLIPO- PROTÉINE	MASSE MOLÉCULAIRE X 10 <sup>-3</sup>	SITE DE SYNTHÈSE	FONCTION
A-I	28,3	intestin foie	cofacteur de la LCAT
A-II	17	intestin	protéine de structure des HDL
A-IV	46	intestin	non connu
B100	549	foie	synthèse et transport des VLDL et des LDL
B48	265	intestin foie	synthèse et transport des chylomicrons et des VLDL
C-I	6,5	foie	activateur de la LCAT
C-II	8,9	foie intestin	activateur de la LPL
C-III 0,1,2	9	foie intestin	inhibiteur de la LPL
D	20	?	rôle dans le métabolisme des esters de cholestérol
E	39	foie	permet la fixation des « remnants » des VLDL et des chylomicrons sur les récepteurs cellulaires hépatiques
F	30	foie	?
H		?	activateur de la LPL
Lp (a+)	250	foie	?

FIG. 17 : PROPRIETES ET FONCTION DES APOLIPOPORTEINES (41)

#### a . Apolipoprotéine A 1

C'est l'apolipoprotéine des HDL . Sa structure est connue avec 245 acides aminés et un poids moléculaire de 283000 . Sa synthèse intestinale et hépatique semble nettement stimulée par les oestrogènes , connus pour leur propriété d'augmenter le taux d'HDL . L'apo A1 des HDL provient d'un pool plasmatique issu des chylomicrons et de la synthèse hépatique (cf FIG 18) . L'apo A1 peut être séparée en 6 isomorphes par des techniques d'électrophorèse en deux dimensions (42) .

La propriété principale de l'apo A1 est la stimulation de l'enzyme LCAT (Lécithine Cholestérol Acyl Transférase) qui permet l'estérification du cholestérol.

L'apo A1 est principalement présente dans les HDL naissantes et les HDL<sub>2</sub>, sous-fraction la plus protectrice vis à vis des lésions d'athérosclérose. Son taux est un reflet plus fin des facteurs de risque cardiovasculaire. Cette notion a été confirmée par plusieurs études épidémiologiques. L'existence d'un récepteur à l'apo A1 est maintenant vérifiée. L'apo A II pourrait être un inhibiteur compétitif empêchant la fixation des lipoprotéines sur ce récepteur.

Sur le plan génétique, le gène de l'apo A1 est maintenant connu; il est proche de l'apo C III, expliquant la possibilité de déficit combiné dans ces deux apolipoprotéines. Cette proximité peut expliquer la fréquence plus grande des hypertriglycémies associées à des modifications du gène de l'apo A1 mises en évidence par étude des fragments de restriction enzymatique de l'ADN. Le déficit familial en HDL (maladie de Tangier) s'accompagne d'un taux bas d'apo A1. Celui-ci est toutefois suffisant pour activer normalement la lécithine cholestérol acyl transférase. L'anomalie principale de cette apolipoprotéine dans la maladie de Tangier pourrait être l'absence de conversion en apo A mature. Pour une raison inconnue le déficit en apo A1 C III entraîne une athérosclérose prématurée, mais pas la maladie de Tangier (43).

En pratique, le dosage de l'apo A1 paraît nettement supérieur à celui des HDL totales tant sur un plan individuel qu'épidémiologique. Si la fiabilité du dosage en ville doit encore faire des progrès, son intérêt est de toute façon supérieur à la simple évaluation du HDL en électrophorèse. Le taux normal d'apo A1 est supérieur à 1,20 g/l. Seul ce dosage est utile et doit donc remplacer celui de l'apo A totale.

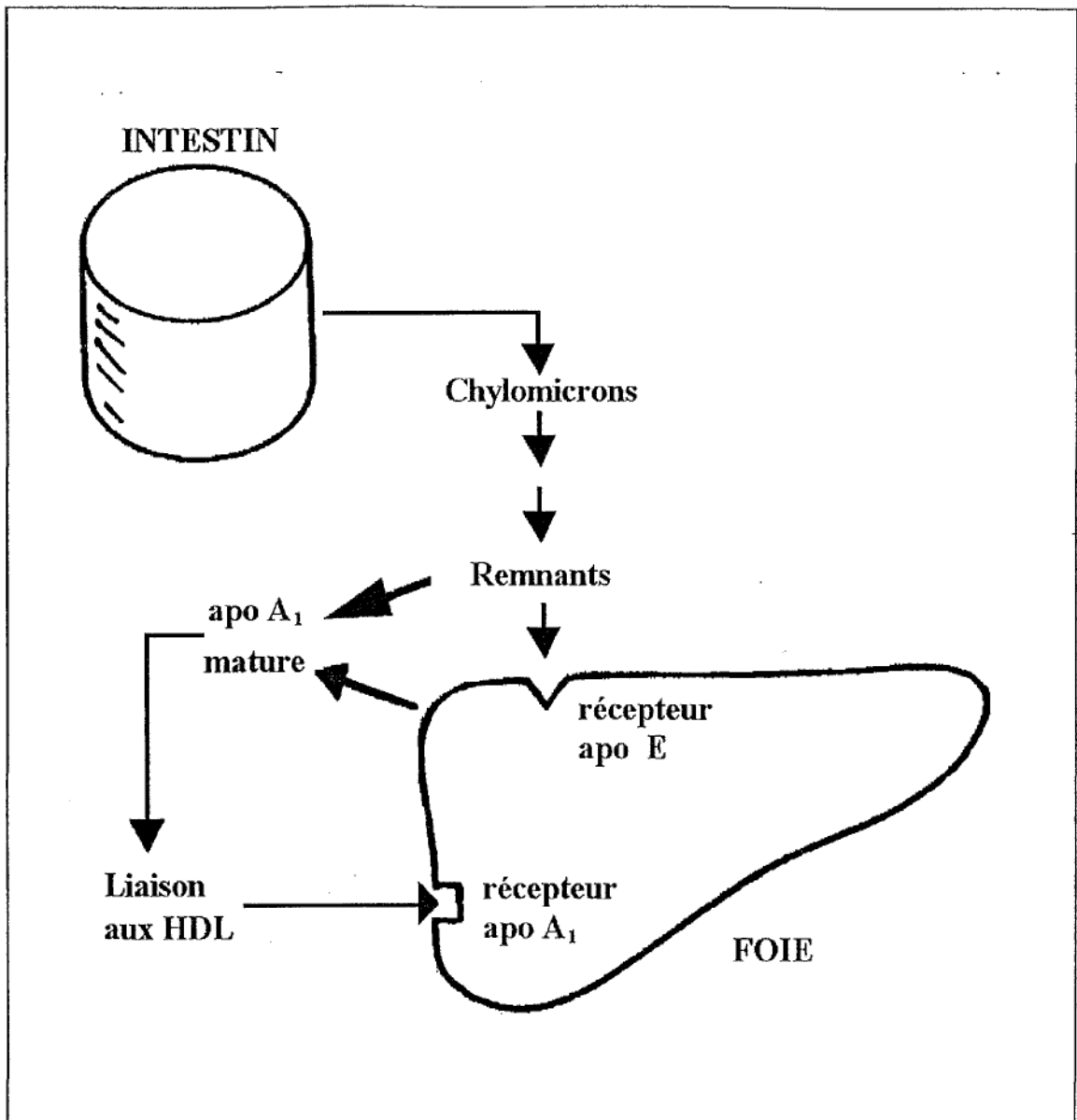


FIG. 18 : METABOLISME DE L APO A1 (44)

#### b . Apolipoprotéine B 100

C'est l'une des plus grosses protéines de l'organisme avec un poids moléculaire supérieur à 550 000 . Sa synthèse est hépatique contrairement à l'autre forme d'apo B (dite B48 ) dont la synthèse est intestinale . Le gène de l'apo B 100 a été récemment isolé , permettant de connaître la composition en acides aminés .

L'apo B 100 est indispensable à la synthèse des VLDL hépatiques qui sont chez l'homme l'unique précurseur des LDL . Cette apolipoprotéine est la charpente inamovible de ces deux lipoprotéines . En effet , c'est la seule apolipoprotéine qui

ne s'échange pas d'une lipoprotéine à une autre . Au niveau des LDL , elle représente 90 % de toutes les apolipoprotéines , si bien que , chez l'homme le dosage sanguin de l'apo B est un reflet assez fidèle du taux de LDL.

L'apo B100 est reconnue par un récepteur spécifique , découvert par Goldstein et Brown . Une perturbation de ce processus métabolique semble être à l'origine de la plupart des hyperlipémies athérogènes . L'hypercholestérolémie pure peut être secondaire à un défaut du récepteur B -E (présent à 50 % dans la forme hétérozygote de la xanthomatose tendineuse familiale ) . L'hyperlipémie mixte , certaines hypercholestérolémies pures , et même certaines hypertriglycéridémies isolées peuvent être secondaires à une synthèse accrue d'apo B . Une élévation isolée de l'apo B avec cholestérolémie et triglycéridémie normales , décrite par Sniderman (45) sous le nom d'hyper apo bêta lipoprotéinémie est nettement plus souvent retrouvée chez les patients atteint de coronaropathie.

La supériorité de l'apo A1 et de l'apo B par rapport respectivement aux HDL totales et aux LDL calculées explique la puissance prédictive du rapport apo A1 / apo B retrouvée supérieure au rapport HDL / LDL dans la plupart des études . En outre des études récentes ont clairement montré que le rapport apo A1 / apo B était significativement plus bas chez les enfants dont les parents avaient été victimes d'infarctus du myocarde . Parallèlement , il n'a pas été retrouvé de différence significative dans le taux de cholestérol des différentes fractions lipidiques entre enfants de parents sains et enfants de parents victime d'infarctus du myocarde.

En pratique , l'apolipoprotéine B est un fidèle marqueur de l'athérosclérose , particulièrement intéressant dans les hypertriglycéridémies isolées et dans les hypercholestérolémies modérées . En effet , normale elle indique dans ce dernier cas un taux normal de LDL et permet d'attribuer l'élévation du cholestérol total à une élévation de la fraction HDL . Elle peut en outre être un marqueur intéressant lorsque le bilan lipidique est normal . Le taux normal d'apolipoprotéine B est inférieur à 1,20 g /l.

### c . Apolipoprotéine E

C'est une petite apolipoprotéine de 299 acides aminés dont le poids moléculaire est de 38 000 . Elle existe sous 3 isomorphes différents E2 ,E 3 et E 4 à trois allèles sur un même locus si bien que six phénotypes différents peuvent être rencontrés chez l'homme . L'affinité de ces isomorphes pour le récepteur spécifique de l'apo E est variable . L'affinité de l'allèle E2 est la plus faible expliquant un ralentissement du catabolisme des remnants de VLDL(IDL) . Ce ralentissement est l'une des conditions essentielles à la survenue de l'hyperlipidémie de type III caractérisée par une bande anormale de lipoprotéines en électrophorèse correspondant aux IDL (46) .

### d . Apolipoprotéine C II

Elle appartient à la classe des apoprotéines C qui comprend trois isoprotéines C I, C II et C III . Ces apolipoprotéines sont caractérisées par leur petit poids moléculaire entre 6 000 et 9 000 , avec moins de 100 acides aminés . Le rôle essentiel de l'apo C II est la stimulation de la lipoprotéine lipase (47) . Cette enzyme permet l'hydrolyse des triglycérides des chylomicrons et des VLDL . Elle est située sur l'endothélium des vaisseaux capables d'utiliser les triglycérides soit à des fins énergétiques (coeur , poumon , muscle squelettique) , soit de stockage (tissu adipeux , glande mammaire) . L'absence de l'apo C II est à l'origine de certaines hyperchylomicronémies (type I de la classification de Fredrickson).

## 2 . Classification des dyslipoprotéinémies

### a . Classification des dyslipoprotéinémies primitives

La classification internationale , toujours en vigueur , est fondée sur l'aspect du sérum , le dosage des lipides et l'électrophorèse des lipoprotéines . Les hyperlipoprotéinémies sont des états caractérisés par l'augmentation d'une ou plusieurs

classes de lipoprotéines. Ces augmentations se manifestent par une surcharge plasmatique en lipides . L'intérêt se porte en général sur les lipides transportés : cholestérol et triglycérides dont on sait qu'ils sont répartis différemment dans les principales classes de lipoprotéines . Selon le cas , on observe donc :

- soit une surcharge en cholestérol
- soit une surcharge en triglycérides
- soit une augmentation conjointe des deux catégories de lipides.

Le diagnostic typologique des hyperlipoprotéïnémies (cf FIG 19) (48) peut donc être établi , chez un patient à jeun , à partir des données suivantes : aspect du sérum (clair , trouble , turbide) cholestérolémie , triglycéridémie , dosage des apo A1 et des apo B , lipoprotéinogramme effectué de préférence sur un support très sélectif tel le gel de polyacrylamide.

A ce bilan de base il est parfois utile d'adjoindre un dosage des lipides totaux ou une ultracentrifugation de flottation pour isoler et étudier la composition d'une ou plusieurs classes de lipoprotéines . On peut également faire une mesure de l'activité lipolytique du plasma post - héparine ou du tissu adipeux . Les récents progrès réalisés dans l'analyse des lipoprotéines et des protéines qui gouvernent leur métabolisme font que la classification des lipoprotéines selon Fredrickson est aujourd'hui dépassée .

Type	Turbidité		Dosages				Lipoprotéinogramme				
	de base	crémage	CT	TG	apo B	apo A1	Chy lo	VLDL	IDL	LDL	HDL
normal	0		variable en fonction de l'âge et du sexe					+	+	++	++
I	+++	+++		↗↗↗	N ou ↘	↘↘	+++	↘	↘	↘	↘
IIa	0		↗↗	↔	↗↗↗	↔	0	+	+	↗↗	++
IIb	0		↗	↗	↗	↔	0	↗	+ a ↗	↗	++
III	0 à +		↗↗	↗↗	↗	↔ ou ↘	0 a +	↗	↗↗↗	↘↘↘	++
IV	0 à +		↔↗	↗↗	↗	↔	0	↗↗	+ à ↗	+++ à ↘	+++ à ↘
V	++		↔↗	↗↗↗	↗	↔ ou ↘	++	↗↗	+ à ↗	+++ à ↘	+++ à ↘

FIG. 19 : DIAGNOSTIC TYPOLOGIQUE DES HYPERLIPOPROTEINEMIES  
(48)

Le déchiffrement de l'erreur génétique étant aujourd'hui très avancé pour de nombreuses formes de dyslipoprotéinémies, il devient essentiel de proposer une classification moléculaire qui permet de mieux orienter la thérapeutique et les actions de prévention. Les hyperlipoprotéinémies peuvent être soit secondaires à une affection sous-jacente et ne répondant donc qu'au traitement étiologique soit primitives (idiopathiques) et sont alors à détermination ou à prédisposition génétique.

\*Dyslipoprotéinémies primitives caractérisées par une augmentation élective de la concentration sérique en cholestérol.

Connues également sous le nom d'hypercholestérolémie essentielle , cette maladie familiale , transmise selon un mode autosomique dominant , existe sous deux formes :

- forme hétérozygote dont la fréquence est de 1 pour 20 à 1 pour 500
- forme homozygote , très grave , dont la fréquence est de 1 pour 10<sup>6</sup>.

Le tableau clinique associe des xanthomes tendineux , sous périostés , cutanés plans ou tubéreux (dans la forme homozygote) ; des xanthelasmas (1/3 des cas) et un arc cornéen (3/4 des cas) . La précocité , la fréquence et l'intensité des complications cardiovasculaires qui surviennent au cours de cette affection en font la plus grave des hyperlipoprotéinémies primitives .

D'un point de vue biologique , le sérum à jeun est parfaitement clair . On observe une hypercholestérolémie , en moyenne deux fois plus élevée dans la forme homozygote que dans la forme hétérozygote , qui se situe entre 7,8 et 26 mmol /l (3 à 10 g /l) . L'analyse des lipoprotéines montre une surcharge plasmatique exclusive en LDL avec une augmentation de la concentration en apolipoprotéine B d'autant plus importante que la maladie est plus grave.

Les travaux réalisés par Goldstein et Brown (49) (50) (51) ont révélé que l'origine de l'affection est un défaut de catabolisme des LDL lié à l'existence d'une mutation au niveau du système des récepteurs B/ E . La pathogénie de l'hypercholestérolémie essentielle est aujourd'hui parfaitement comprise . En cas de déficit en récepteurs B/E la clairance hépatique des IDL est réduite et de ce fait , il existe un excès de production des LDL à partir des IDL . D'autre part , la clairance des LDL est diminuée ce qui aboutit à une augmentation importante de leur concentration sérique.

\*Dyslipoprotéinémies primitives caractérisées par une augmentation prédominante de la concentration sérique en triglycérides.

Elles sont liées soit à un défaut de lipolyse soit à une surproduction de lipoprotéines riches en triglycérides.

Dans le premier cas , si le défaut de lipolyse est majeur il est responsable d'une affection rare transmise sur le mode autosomique récessif , dont le tableau clinique associe classiquement des crises douloureuses abdominales , une asthénie et une lipémie rétinienne avec parfois présence d'une xanthomatose éruptive ;

l'évolution se caractérise par des poussées éventuelles de pancréatite . D'un point de vue biologique , on retrouve à jeûn un sérum lactescent contenant une concentration importante de lipoprotéines riches en triglycérides (chylomicrons ,VLDL) ;

les autres fractions lipoprotéiques et en particulier les HDL sont très diminuées .

L'origine de l'affection est un déficit partiel ou total en lipoprotéine lipase résultant soit d'une mutation au niveau du gène responsable de sa synthèse soit d'une modification post -translationnelle de l'enzyme (52) . L' affection peut être

également dûe à une anomalie de composition en apoprotéines des lipoprotéines riches en triglycérides . C'est ainsi qu'une vingtaine de cas de déficit congénital en apolipoprotéine C II , activatrice de la lipoprotéine lipase ont été décrits (53) .

La surproduction de lipoprotéines riches en triglycérides et en particulier de VLDL contribue de manière significative à la genèse de certaines dyslipoprotéinémies primitives mais on ne connaît pas encore les anomalies moléculaires à l'origine .

Les conséquences métaboliques de cette surproduction sont fonction de l'efficacité des mécanismes de clairance (lipolyse , captation par les récepteurs).

\*Dyslipoprotéinémies primitives caractérisées par une augmentation de la concentration sérique en cholestérol et en triglycérides.

La dysbétalipoprotéinémie décrite par Fredrickson (hyperlipémie de type III) se caractérise par la présence dans le sérum d'une lipoprotéine anormale qui, bien que flottant à la densité de 1,006 en ultracentrifugation, possède une mobilité bêta en électrophorèse de zone. Des dépôts lipidiques extra vasculaires sont rencontrés dans les formes majeures, en particulier des xanthomes localisés aux plis palmaires qui seraient pathognomoniques de l'affection. L'extension vasculaire fait toute la gravité de ce type d'hyperlipoprotéinémie qui est très athérogène. Des travaux concernant les apolipoprotéines E ont permis d'expliquer l'origine de l'anomalie (54). L'isoélectrofocalisation sépare plusieurs formes d'apo E dont 3 principales E2, E3, E4 dont la séquence primaire est connue et diffère par le contenu en cystéine et arginine. Six phénotypes différents peuvent être individualisés dont 3 homozygotes E2/E2, E3/E3, E4/E4 et trois hétérozygotes E2/E3, E3/E4 et E2/E4. Les apo E ont une origine essentiellement hépatique et sont sécrétées sous forme de HDL naissantes discoidales. Elles passent ensuite sur les lipoprotéines riches en triglycérides (chylomicrons et VLDL) et subsistent à la surface des particules résiduelles ou "remnants" formées de la lipolyse des triglycérides par la lipoprotéine lipase. C'est à cause de l'affinité des apo E pour les récepteurs cellulaires que les "remnants" pourront être capturés et dégradés. Deux types de récepteurs reconnaissent l'apo E :

- le premier est le récepteur LDL (B/E) récepteur trouvé dans les cellules périphériques et aussi dans le foie.
- le second, exclusivement hépatique, est connu sous le nom d'apo E récepteur ou "remnant" récepteur. La présence d'une arginine en position 158 est essentielle pour que l'apo E des "remnants" puisse se fixer sur ce récepteur.

Plusieurs types de dysbétalipoprotéinémies ont été décrits :

- chez des sujets homozygotes E2/E2 (très rare)
- chez des sujets déficitaires en apo E

-chez des sujets porteurs de mutations dans la région spécifique de la liaison au récepteur.

Les autres dyslipoprotéïnémies de ce type sont moins bien caractérisées . Elles sont dûes le plus souvent à une surproduction de lipoprotéines associée à un déficit de leur clairance (55) .

\*Dyslipoprotéïnémies primitives avec cholestérol et triglycérides compris dans l'intervalle physiologique

On trouve dans ce groupe :

- le déficit familial en apo A1 et C III : affection rare responsable d'une athérosclérose prématurée ;
- l'abêtalipoprotéïnémie et l'hypobêtalipoprotéïnémie qui entraîne une malabsorption , une rétinite , et une ataxie cérébelleuse ;
- l'hyperapobêtalipoprotéïnémie associée à une athérosclérose prématurée.

b . Classification des dyslipoprotéïnémies secondaires

Elle est fonction de l'étiologie.

\*Dyslipoprotéïnémies secondaires au diabète :

Au cours du diabète insulino - dépendant l'hyperlipoprotéïnémie témoigne du déséquilibre des métabolismes glucidiques et lipidiques 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 . C'est la carence insulinique qui est à l'origine de l'hypertriglycéridémie . L'insuline , en diminuant la teneur en AMP cyclique de l'adipocyte , déprime la lipolyse (baisse de l'activité de la triglycéride lipase hormonosensible) et active la lipogénèse (augmentation de l'activité de la lipoprotéine lipase) . La déficience en insuline 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.

\*Dyslipoprotéinémies secondaires aux affections thyroïdiennes

L'hypothyroïdie entraîne une augmentation de la teneur du sérum en LDL et parfois en VLDL . L'hypercholestérolémie liée à une diminution du catabolisme des LDL 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 lipoprotéine lipase (normalement activée par les hormones thyroïdiennes) . L'hyperthyroïdie s'accompagne d'hypertriglycéridémie et d'hypocholestérolémie . 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.

\*Dyslipoprotéinémies secondaires aux affections hépato-biliaires :

Les glycoséoses hépatiques de type I , III , IV s'accompagne d'hypertriglycéridémie avec augmentation des VLDL induite par l'hypertriglycéridémie secondaire à la mobilisation des graisses de réserve . L'obstruction intra ou extra hépatique entraîne une augmentation de la concentration sérique des phospholipides et du cholestérol non estérifiés avec apparition de lipoprotéines anormales (Lp X) qui possèdent en gel d'agar une mobilité électrophorétique inverse de celle des autres lipoprotéines.

\*Dyslipoprotéinémies secondaires aux affections rénales :

L'hyperlipoprotéinémie rencontrée dans le syndrome néphrotique est généralement de type mixte : élévation des VLDL et surtout des LDL avec hypertriglycéri-

démie et hypercholestérolémie . Plus rarement , on rencontre dans ce type d'affection une hypercholestérolémie isolée ou une hypertriglycéridémie exogène et endogène . Du point de vue pathogénique , deux mécanismes sont invoqués :

-défaut d'épuration des triglycérides avec diminution du rapport apo C II / apo C III .

-et surtout perte protéique urinaire qui induit une augmentation de la synthèse des protéines au niveau du foie ou augmentation des VLDL catabolisées secondairement en LDL . L'hypertriglycéridémie dans l'insuffisance rénale chronique avec augmentation des VLDL est secondaire à un défaut d'épuration des triglycérides , objectivée par la diminution de l'activité lipoprotéine lipase du plasma post - hépariné et des tissus et une diminution du rapport apo C II / apo C III.

### **3 . Dosage des Apolipoprotéines**

Les dosages ou études des apolipoprotéines ont pour objet d'explorer le double rôle que possèdent ces protéines particulières :

-rôle de transport des constituants lipidiques : marqueurs des lipoprotéines (apo A1 , apo B).

-rôle fonctionnel direct dans le métabolisme des lipoprotéines (activation , inhibition d'enzymes , reconnaissance par des récepteurs spécifiques) : recherche de déficit ou d'anomalies responsables de dyslipoprotéinémies (apo C, apo E.....)

#### **a . Marqueurs de lipoprotéines**

A l'inverse de constituants lipidiques , les apolipoprotéines présentent une spécificité de répartition dans les lipoprotéines . Ainsi , par exemple , l'apo B est présente dans les LDL et les VLDL (et les chylomicrons ) et est absente dans les HDL . Inversement les apo A1 et A2 sont présentes dans les HDL et absentes dans les LDL et VLDL . On comprend donc pourquoi l'apo B constitue un mar-

queur des lipoprotéines athérogènes (LDL , VLDL) et l'apo A1 un marqueur des lipoprotéines anti-athérogènes protectrices (HDL) .

TECHNIQUE	AVANTAGES	INCONVENIENTS	AUTOMATISATION
<b>RIA</b>	Sensibilité Spécificité	Dilution importante Isotope	+
<b>ELISA</b>	Sensibilité Spécificité Pas d'isotope	Dilution importante	+
<b>IDR</b>	Simple, faible dilution, pas d'isotope	Durée (48 à 72 h)	-
<b>EID</b>	Faible dilution, pas d'isotope	Faible débit CV (?)	-
<b>IN</b>	Simple, faible dilution, pas d'isotope	Appareillage Turbidité	+
<b>IT</b>	Simple, faible dilution, pas d'isotope	Turbidité	+

**RIA** Radioimmunologie  
**ELISA** Enzyme-linked immunosorbent assay  
**IDR** Immunodiffusion radiale  
**EID** Electroimmunodiffusion  
**IN** Immunonéphélométrie  
**IT** Immunoturbidimétrie

FIGURE 20 : METHODES DE DOSAGE IMMUNOLOGIQUES DES APOLIPO-  
PROTEINES (56)

Les méthodes de dosages classiques pour les protéines (immunodiffusion radiale , électroimmunodiffusion , immunonéphélométrie , immunoturbidimétrie , immunoenzymologie , radio-immunologie ) sont utilisées . Les qualités comparées de ces différents procédés sont reproduits dans la figure 20 (56) .

Cependant le dosage des apolipoprotéines pose un certain nombre de problèmes se traduisant par des difficultés de comparaison des résultats obtenus par des techniques différentes . Ces difficultés sont en partie liées au fait que les apolipoprotéines , contrairement aux autres protéines du sérum , étant incluses dans la masse des lipides , voient leurs sites antigéniques plus ou moins masqués : ceci explique par exemple les immunoréactivités différentes d'une même apolipoprotéine d'une lipoprotéine à une autre (apo B des LDL et des VLDL) et permet de comprendre certaines différences entre les systèmes analytiques . Des efforts importants de standardisation sont actuellement développés tant en France qu'à l'étranger pour uniformiser les résultats obtenus . Ces travaux coordonnés sur le plan international par l'IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) sont dirigés sur le plan européen par l'ARCOL et la SFBC . Cependant il est d'ores et déjà possible de conseiller sur le plan pratique que , si les différentes méthodes conduisent à des résultats difficilement comparables , elles sont suffisamment fiables pour que chacune d'entre elles permette un suivi correct des patients . Les valeurs usuelles admises pour les apolipoprotéines sont de 1,10 à 1,60 g/l pour l'apo A1 et de 0,70 à 1,30 g/l pour l'apo B.

#### **b . Recherche d'anomalies ou de déficits en certaines apolipoprotéines**

Elles concernent essentiellement les apolipoprotéines C et E.

- Les apolipoprotéines C interviennent dans le catabolisme des triglycérides , des chylomicrons et des VLDL ( apo C II activatrice et apo C III inhibitrice de la lipoprotéine lipase ) . Des déficits en apo C II sont responsables de l'hyperchylomicronémie (type I) et le rapport apo C II / apo C III serait impliqué dans les hyperVLDLémies (type IV) (57) .

- L'apolipoprotéine E joue un rôle essentiel de ligand pour la reconnaissance des lipoprotéines IDL par les récepteurs ( E et B/E) . Il existe trois isoformes majeurs

de l'apo E (E2 , E3 , E4) . Dans l'hyperlipoprotéinémie de type II hyperlipoprotéinémie très athérogène , une augmentation de l'apo E est observée avec le phénotype E2/E2.

### c . Dosage des lipoparticules

On sait maintenant que les lipoprotéines définies selon les classifications usuelles ne sont pas homogènes au niveau moléculaire et représentent des mélanges de particules lipoprotéiques distinctes dont la signification clinique est différente . Chaque particule est formée de lipides associés à une apolipoprotéine (particules simples : Lp A1 , Lp B) ou à deux ou plusieurs apolipoprotéines (particules complexes : LpA1:A II , Lp B:E...) . Chaque lipoparticule a des fonctions distinctes et représente l'unité de base du métabolisme lipidique . Aussi , l'étude des variations des concentrations plasmatiques de ces lipoparticules rend mieux compte de l'état métabolique des sujets , permettant ainsi de contribuer au diagnostic des dyslipoprotéinémies et à leurs suivis thérapeutiques . Il a été notamment montré , par exemple , que parmi les particules entrant dans la classe des HDL (Lp A1, Lp A1:A II) seules les Lp A1 sont responsables de l'efflux de cholestérol pour le transport reverse de ce lipide des tissus périphériques vers le foie : ce sont ces particules qui ont un rôle anti-athérogène et qui constituent un meilleur marqueur que le cholestérol HDL ou l'apolipoprotéine A1 totale . Il est actuellement possible de quantifier les lipoparticules à l'aide de méthodes immunologiques (électroimmunodiffusion , immunoenzymologie) . Les méthodes sont relativement simples à mettre en oeuvre mais se prêtent assez difficilement à l'utilisation en grande série (58) .

Parmi ces lipoparticules , l'une d'entre elle présente un intérêt particulier : il s'agit de la lipoprotéine Lp (a).

#### **d . Conclusion et conduite de l'exploration des lipides et des lipoprotéines**

Parmi les constituants que nous venons de détailler , compte tenu des intérêts respectifs et des différents problèmes analytiques présentés par chacun d'entre eux , le bilan de dépistage "minimum" des dyslipoprotéinémies devra comporter les éléments suivants :

-cholestérol + triglycérides

-cholestérol HDL et le calcul du cholestérol LDL.

Ce bilan de dépistage sera complété d'un bilan de confirmation comportant les dosages des apolipoprotéines A1 et B et l'électrophorèse des lipoprotéines . Ces examens seront d'autant plus intéressants qu'il est important de se souvenir que la détermination du cholestérol HDL est impossible en cas d'hypertriglycéridémie (triglycérides  $> 4$  à  $5$  mmol/l) . Le tableau de la figure 21 (59) propose pour chacun des paramètres cités les valeurs souhaitables et les seuils d'intervention rapportés dans la littérature.

	<b>VALEURS SOUHAITABLES</b>	<b>SEUILS D'INTERVENTION</b>
<b>CHOLESTEROL TOTAL</b>	≤ 2 g/l ( < 5,2 mmol/l)	≥ 2,40 g/l ( ≥ 6,2 mmol/l)
<b>TRIGLYCERIDES</b>	≤ 1,50 g/l ( ≤ 1,7 mmol/l)	≥ 2 g/l ( ≥ 2,2 mmol/l)
<b>CHOL HDL</b>	Femme ≥ 0,55 g/l ( ≥ 1,7 mmol/l)	≤ 0,55 g/l ( ≤ 1,4 mmol/l)
	Homme ≥ 0,45 g/l ( ≥ 1,15 mmol/l)	≤ 0,45 g/l ( ≤ 1,15 mmol/l)
<b>CHOL LDL</b>	≤ 1,30 g/l ( ≤ 3,35 mmol/l)	≥ 1,60 g/l ( ≥ 4,15 mmol/l)
<b>Apo AI</b>	≥ 1,20 g/l	≤ 1,20 g/l
<b>Apo B</b>	≤ 1,30 g/l	≥ 1,30 g/l

FIGURE 21 : VALEURS SOUHAITABLES ET SEUIL D'INTERVENTION DES PRINCIPAUX PARAMETRES LIPOPROTEINIQUES (59)

Parmi les lipoparticules , la lipoprotéine Lp (a) est à prendre en compte dès maintenant . Si les méthodes de dosages immunologiques posent actuellement quelques problèmes , des procédés simples de détection de cette lipoprotéine au-delà d'une valeur seuil peuvent être mis en oeuvre (électrophorèse) . L'utilisation en routine des dosages des autres lipoparticules est conditionnée aux progrès méthodologiques futurs . D'autres voies s'ouvriront encore dans les prochaines années . La meilleure connaissance des mécanismes de l'athérogénèse avec l'intervention des LDL oxydées et modifiées ouvrent dès maintenant d'autres champs d'investigation . D'autres marqueurs ( de la lipidoperoxydation , systèmes protecteurs....) apparaîtront dans les demandes usuelles afin de mieux cerner les dyslipoprotéïnémies , leurs conséquences et leurs suivis thérapeutiques.

### e . La lipoprotéine (a)

En 1963 , K.Berg (60) identifia un antigène présent de façon variable dans les LDL , transmis génétiquement , qu'il appellera lipoprotéine (a) (LDL Lipoprotein antigen) . Un taux élevé de lipoprotéine (a) sérique constitue un facteur de risque indépendant de coronaropathie et d'accidents cérébraux vasculaires . Il accroît le risque cardio-vasculaire des sujets atteints d'hypercholestérolémie familiale.

La Lp (a) flotte après ultracentrifugation dans la zone de densité 1.055 -1.12 g/ml , donc avec une partie des LDL , mais elle est plus riche en protéines . Elle est constituée d'une lipoparticule de LDL liée à une molécule d'apolipoprotéine (apo(a)) qui lui confère des propriétés physico-chimiques et immunologiques originales . L'apo (a) est liée à la molécule d'apolipoprotéine B100 par un pont disulfure mettant en jeu un résidu cystéine situé dans la partie carboxyterminale de l'apo B100 . L'apo (a) est une glycoprotéine riche en sucre , particulièrement en acide sialique . Sa séquence , établie en 1987 par Mac Lean et col. (61) présente des analogies avec celle du plasminogène . Il faut remarquer que l'apo (a) est hydrosoluble et qu'elle ne se lie pas aux lipides . Elle ne présente donc pas les caractéristiques d'une apolipoprotéine.

La Lp (a) est présente chez tous les individus mais à des taux extrêmement variables . Sa distribution diffère selon les groupes ethniques . Différentes hypothèses ont été avancées pour expliquer le contrôle génétique des concentrations plasmatiques de Lp (a) . Certains auteurs ont confirmé la relation entre la masse moléculaire de l'apo (a) et les taux sériques de Lp (a) . D'autres facteurs génétiques , inconnus pour l'instant , doivent donc également contrôler les concentrations plasmatiques de Lp (a).

Le foie est le lieu principal de synthèse de la Lp(a) , qu'il secrète sous une forme très proche de la forme circulante (62) . L'apo (a) peut être détectée en période post prandiale dans les chylomicrons et leurs "remnants" , suggérant que l'apo (a) peut être également incorporée dans les lipoprotéines riches en triglycérides . Le foie semble également être le site principal de dégradation de la Lp(a) mais d'autres organes peuvent également la capter . L'implication des récepteurs B/E dans la captation et l'internalisation de la Lp(a) est controversée.

Le rôle physiologique de la Lp(a) est actuellement inconnu . La question se pose de savoir pour quelle raison l'apo (a) , qui est hydrosoluble , est liée à une lipoparticule LDL . Il a été spéculé que , par sa propriété de se lier à la fibrine , l'apo(a) pourrait apporter cette lipoparticule au site d'une atteinte vasculaire, donc du cholestérol nécessaire à la réparation tissulaire . L'élévation du taux de Lp(a) constitue un risque important d'athérosclérose . Plusieurs mécanismes pourraient contribuer au rôle athérogène de cette lipoprotéine . Des études anatomopathologiques et immuno-histochimiques de vaisseaux artériels de pontage coronariens ont montré que la Lp(a) s'accumule dans l'intima préférentiellement au voisinage de la plaque fibreuse . La concentration plasmatique de la Lp(a) s'élève au cours de maladies métaboliques comme les néphropathies et le diabète . Elle pourrait donc contribuer au développement précoce de l'athérosclérose observée au cours de ces pathologies.

La Lp(a) peut être détectée avec des sensibilités variables par électrophorèse sur divers supports. L'Hydragel LIPO Lp(a) Sebia permet de séparer nettement la Lp(a) entre les alfa et les pré-béta lipoprotéines , quel que soit l'âge du sérum. Dans des conditions définies de coloration le seuil de détection se situerait aux environs de 0.15-0.20 g/l . Le dosage de la Lp(a) s'effectue par des méthodes immunologiques classiques dont chacune présente des avantages et des inconvénients (cf FIG 22) (63) .

	IDR <sup>1</sup>	EID <sup>2</sup>	NEP <sup>3</sup>	RIA <sup>4</sup>	LIA <sup>5</sup>	ELISA <sup>6</sup>
Seuil de détection (mg/l)	30	10	100	0,01	0,1	0,1
Seuil d'utilisation (mg/l)	80	50	100	-	-	-
CV <sup>7</sup> (%)	10-14	7-10	2-4	3-9	3-8	4-8
Durée moyenne d'un dosage (heures)	72	6	0,5	4	1	4

<sup>1</sup>Immunodiffusion radiale, <sup>2</sup>électroimmunodiffusion, <sup>3</sup>néphélométrie, <sup>4</sup>radioimmunoassay, <sup>5</sup>lateximmunoassay, <sup>6</sup>enzyme linked immunosorbent assay, <sup>7</sup>coefficient de variation.

FIGURE 22 : COMPARAISON DE DIFFERENTES TECHNIQUES UTILISEES POUR LE DOSAGE DE LA Lp(a) (63)

Les méthodes immunonéphélométriques et immunoturbidimétriques automatisables et rapides sont actuellement très utilisées . Cependant le dosage de la Lp(a) par ces méthodes demande une extrême vigilance. Le fait qu'elles soient sensibles à des différences de taille de l'analyte constitue un problème compte tenu du polymorphisme de la Lp(a) . Ces méthodes sont également sensibles à la turbidité de l'échantillon . La surcharge de sérums par des particules riches en triglycérides entraîne une majoration du taux de Lp(a) . Il est donc conseillé d'effectuer des blancs échantillons et de ne valider que les résultats des sérums dont les blancs sont négligeables.

Quelles que soient les méthodes utilisées , la qualité des immunodosages dépend de la qualité des anticorps et de l'étalonnage . Un bon anticorps ne devrait pas croiser avec le plasminogène et se lier avec la même affinité avec tous les phénotypes . Les anticorps polyclonaux croisent plus ou moins selon les lots avec le plasminogène . La préparation d'anticorps monoclonaux devrait permettre de régler ces problèmes . L'étalonnage de la Lp(a) est également difficile . Il n'est donc pas surprenant qu'actuellement des résultats différents puissent être obtenus pour un même sérum selon les systèmes analytiques utilisés (64) .

## V . CONCLUSION

La détermination des marqueurs de l'athérosclérose est nécessaire dans le cadre du dépistage de patients "à risque "aussi bien que dans le suivi d'un patient traité . En dehors de l'importance d'un bon diagnostic se pose également un problème économique sur le choix des marqueurs de l'athérosclérose.

Nous l'avons vu que l'établissement des " valeurs normales " ou valeurs usuelles de la cholestérolémie et de la triglycéridémie est difficile à réaliser . Pour le cholestérol total la référence suivie est souvent la conférence de Consensus Américain de 1985 qui donne la valeur optimale souhaitée de 5,17 mmol/l ( 2g/l ) . Pour les triglycérides on admettra comme valeur limite ou seuil à ne pas dépasser le taux de 2,1 mmol/l ( 2g/l ) .

De toute manière , la cholestérolémie et la triglycéridémie ne doivent pas être interprétés isolément . C' est grâce à la comparaison des deux résultats qu'une bonne interprétation et par suite une bonne démarche diététique et / ou thérapeutique pourra être engagée . Ceci a bien été rappelé par l'ARCOL (Comité Français de Coordination des Recherches sur l'Athérosclérose et le Cholestérol ) dans le Consensus Français sur le Cholestérol et les Dyslipoprotéïnémies : c'est ce que montre le guide du traitement des hyperlipidémies reproduit dans la figure 23 (65) .

<p><b>- A -</b> Cholestérol : 2,00-2,50 g/l</p> <p>Triglycérides : &lt; 2,00 g/l</p>	<p>Atteste un risque modéré de maladie coronarienne, surtout en cas d'antécédents familiaux, de tabagisme, d'hypertension, de diabète, ou si : C-HDL &lt; 0,35 g/l apo A1 &lt; 1,20 g/l apo B &gt; 1,30 g/l</p>	<p>En cas d'excès de poids, réduire les apports ou augmenter les dépenses : donner des conseils diététiques ; corriger les autres facteurs de risque.</p>
<p><b>- B -</b> Cholestérol : 2,50-3,00 g/l</p> <p>Triglycérides : &lt; 2,00 g/l</p>	<p>Atteste un risque élevé de maladie coronarienne, en particulier si : C-HDL &lt; 0,35 g/l</p> <p>apo A1 &lt; 1,20 g/l apo B &gt; 1,30 g/l</p>	<p>Prescrire un régime hypolipidémiant et en surveiller les effets. Si le cholestérol reste élevé, envisager l'utilisation d'un médicament nor-molipidémiant.</p>
<p><b>- C -</b> Cholestérol : &lt; 2,00 g/l</p> <p>Triglycérides : 2,00-5,00 g/l</p>	<p>rechercher les causes sous-jacentes de l'hypertriglycéridémie, par exemple : obésité, abus d'alcool, diurétiques, bêta-bloquants, oestrogènes exogènes, diabète.</p>	<p>En cas d'excès de poids, réduire les apports ou accroître les dépenses caloriques. Traiter ou supprimer les causes sous-jacentes éventuelles. Prescrire et surveiller un régime normolipidémiant.</p>
<p><b>- D -</b> Cholestérol : 2,00-3,00g/l</p> <p>Triglycérides : 2,00-5,00 g/l</p>	<p>atteste un risque général de maladie coronarienne comme A et B. Rechercher les causes sous-jacentes d'hypertriglycéridémie comme en C.</p>	<p>En cas d'excès de poids, réduire les apports ou accroître les dépenses caloriques. Traiter les causes sous-jacentes de l'hypertriglycéridémies, si elles existent, et procéder suivant A et B. Prescrire et surveiller un régime normolipidémiant. Si l'effet sur les lipides sériques est insuffisant et que le risque global est élevé, envisager l'utilisation d'un médicament normolipidémiant.</p>
<p><b>- E -</b> Cholestérol : &gt; 3,00 g/l et/ou Triglycérides : &gt; 5,00 g/l</p>	<p>Attestent un risque élevé de maladie cardio-vasculaire et/ou de pancréatite aiguë</p>	<p>Envisager le recours à un service spécialisé dans les lipides, ou à un spécialiste, pour de plus amples recherches et la mise en route d'un régime et, si nécessaire, d'un traitement médicamenteux.</p>

FIG 23: SCHEMA D'INTERVENTION PROPOSE PAR LES EXPERTS FRANCAIS ET CONFORME AUX RECOMMANDATIONS DE LA SOCIETE EUROPEENNE D'ATHEROSCLEROSE (65)

L'intérêt de la détermination du cholestérol HDL outre l'appréciation de la fraction lipoprotéinique assurant le retour du cholestérol des tissus périphériques vers

le foie (lipoprotéines anti-athérogènes) est de permettre une application du cholestérol LDL directement impliqué dans le risque athérogène.

En moyenne le HDL cholestérol est de 1,45 mmol/l ( 0,55 g/l ) chez la femme et 1,17 mmol/l (0,45 g/l ) chez l'homme . Pour le cholestérol LDL on admettra comme valeur usuelle ou valeur souhaitable des taux compris entre 3 et 4 mmol/l ( 1,15 g/l et 1,55 g/l) .

La prise en charge thérapeutique d'une hyperlipoprotéïnémie primaire doit toujours débiter par un régime adapté au type d'hyperlipidémie . Le traitement médicamenteux normolipémiant n'est envisagé que lorsque les mesures diététiques n'ont pas permis d'atteindre les objectifs souhaités au niveau des paramètres lipidiques . Mais une fois ce traitement hypolipémiant institué , une surveillance impérative doit alors être instaurée nécessitant une étroite collaboration entre le patient le médecin et le laboratoire . La surveillance au long cours doit comporter deux aspects ; la surveillance de l'efficacité et de la tolérance du traitement utilisé . La réponse thérapeutique doit être jugée sur quatre à six mois par deux dosages espacés par deux à trois mois . La surveillance de l'efficacité du traitement repose essentiellement sur les dosages du cholestérol total , des triglycérides et de l'HDL cholestérol , ce dernier examen étant demandé dans le but de calculer le taux de LDL cholestérol par la formule de Friedewald.

Ces éléments cliniques étant précisés , il est maintenant nécessaire de faire le point sur les mesures économiques prises dans ce domaine pour limiter le déficit de la Sécurité Sociale . Entre 1990 et 1991 une modification de la nomenclature des actes de biologie a entraînée les révisions suivantes :

- la cotation du cholestérol total est passé de B10 à B5
- la cotation des triglycérides est passé de B20 à B10
- la cotation du lipidogramme est passée de B60 à B40
- la cotation des apolipoprotéines a été instaurée à B30 pour une détermination et à B40 pour deux déterminations ou plus .

Ces mesures ont bien évidemment affecté directement les laboratoires mais d'autres réformes se sont ajoutées en 1993 qui ont concerné directement les patients . La part prise en charge par la Sécurité Sociale pour le remboursement des examens de laboratoire a été diminuée de 5 points.

Dans le même temps les médecins se sont vu adresser par le Ministère de la Santé les recommandations suivantes (66) :

**Il est inutile d'une manière générale , et sauf indications précises au cas par cas :**

**\*chez les patients sans facteurs de risque :**

- de doser en première intention autre chose que le cholestérol total et les triglycérides.
- de répéter , si les résultats sont normaux , les dosages avant 5 ans chez le sujet jeune , avant 3 ans chez le sujet de moins de 50 ans et chez la femme après 60 ans.
- de refaire un dosage avant 6 mois d'essais hygiéno - diététiques , s'il existe une anomalie modérée ;

**\*chez les patients avec facteurs de risque :**

- de répéter , s'il existe une anomalie confirmée et jusqu'à l'obtention des chiffres fixés comme objectif , plus d'une fois tous les 3 mois un dosage du cholestérol et des triglycérides.
- de répéter ensuite , une fois les chiffres obtenus comme objectifs fixés , le dosage plus d'une fois par an.
- de surveiller les effets d'un traitement hypolipémiant médicamenteux , une fois les chiffres obtenus comme objectifs fixés , plus d'une fois tous les 6 mois.

Les autres recommandations concernant plus particulièrement le choix du traitement ne seront pas reprises ici.

On peut donc constater que l'orientation vers la détermination du risque potentiel de développer une hyperlipidémie ou vers la surveillance des sujets à risque reste une voie d'évolution capitale pour les patients . L'amélioration des connaissances en biologie moléculaire et en génétique devraient permettre des progrès dans ce domaine.

**VI. BIBLIOGRAPHIE**

(1) Fruchart J.C. - Analyse moléculaire des lipoprotéines athérogènes et protectrices : Applications cliniques . Le Biologiste (1987) Tome XXI - N° 168 ,187 .

(2) Duff J.L. , Mc Millian G.C. - Pathology of atherosclerosis . Am.J.Med. (1951) 11 - 92 .

(3) World Health Organization - Classification atherosclerotic lesions . W.H.O. technical report series N° 143 . Geneva (1958) .

(4) Ducimetiere P. , Richard J.L. , Claude J.R. , Warner J.M. - Les cardiopathies ischémiques : incidences et facteurs de risque . In : L'étude prospective parisienne , Paris : Inserm (1981) .

(5) d'après Sezille G. , Fruchart J.C. , Jaillard J. - Lipides et lipoprotéines . Métabolisme et méthodes d'exploration : applications au diagnostic et à la physiopathologie des hyperlipidémies . Crouan et Roques Eds. Lille (1976) .

(6) Fruchart J.C. - Lipides ou lipoprotéines : quels paramètres choisir pour évaluer le risque cardiovasculaire ? Feuilles de biologie (1987) Vol. XXVIII N° 158 , 39 .

(7) Kannel W.B. , Castelli W.P. , Gordon T. , Mc Namara P.M. - Serum cholesterol , lipoproteins and the risk of coronary heart disease . Ann. Intern. Med. (1971) 74 - 1.

(8) Sezille G. , Fruchart J.C. , Jaillard J. - Crouan et Roques Eds. Lille (1976) .

(9) Zak B. - Cholesterol methodologies : a review . Clin. Chem. (1977) 23 - 1201 .

(10) Girard M.L. , Rousselet F. - Problèmes de biochimie appliquée : 8 ème série lipides , lipoprotéines et athérosclérose - Masson Ed. (1976) Paris .

(11) d'après Fruchart J.C. - Exploration biochimique classique des lipides et des lipoprotéines . Crouan et Roques Eds. Lille (1976) .

(12) Cobbs S.A. , Sander J.L. - Enzymatic determination of cholesterol in serum lipoproteins separated by electrophoresis . Clin. Chem. (1978) 24 - 1116 .

(13) d'après Fruchart J.C. - Valeurs sémiologiques des apolipoprotéines .Rev. Med. Int. (1985) 6 - 41 , 48 .

(14) d'après la conférence du Consensus du N.I.H. Lippel K. - Proceeding of the workshop on apolipoprotein quantification . N.I.H. publication N° 83 (1985) - 1266 .

- (15) Parra H. , Fievet C. , Boniface B. , Fruchart J.C. - Lipoproteins , apolipoproteins and coronary artery disease assessed by coronary arteriography . De Gennes J.L. et col. Eds Raven Press (1984) 187 , 197 .
- (16) Conseil d'administration d'ARCOL - Consensus français sur le cholestérol et les dyslipoprotéïnémies . La revue du Praticien N° 11 , 13 Avril 1989 .
- (17) d'après Boulanger P. , Jayle M.F. , Roche J. - Exposés annuels de biochimie médicale 31 èmes séries , colloque sur les lipoprotéines . Paris , Masson et Cie (1972) .
- (18) Seidel D. - Human plasma lipoproteins : biochemical and clinical aspects . Ann. Clin. Biochem. (1982) 19 - 278 , 283 .
- (19) Schlienger J.L. , Grunenberger F. - La lipoprotéine Lp (a) nouveau facteur de risque cardiovasculaire . Le concours médical (1992) 114 , 119 .
- (20) d'après Puchois P. , Alaupovic A. , Fruchart J.C. - Mise au point sur les classifications des lipoprotéines plasmatiques . Ann. Biol. Clin. (1985) 43 - 831 , 840 .
- (21) d'après Assmann G. - Lipid metabolism and atherosclerosis (1982) Schattauer Verlag , Stuttgart .
- (22) Beucler I. - Métabolisme des lipoprotéines . XXXII èmes dimanches biologiques (1992) 17 , 27 .
- (23) Alaupovic P. - The role of apolipoproteins in lipid transport processes . Ric. Clin.Lab. (1982) 12 - 3 , 21 .
- (24) Schonfeld G. , Pflieger B. - The structure of human high density lipoprotein and the levels of apolipoprotein A1 in plasma as determined by radioimmunoassay . J. Clin. Invest. (1984) 54 - 236 .
- (25) d'après Lambert M. , Pignon J.M. , Rodde J.L. - Dyslipidémies : étude biologique , clinique et thérapeutique . Gazette médicale (1984) 91 N° 10 - 89 , 109 .
- (26) Durrington P.N. , Whicher J.T. , Warren C. - A comparison of methods for the electrophoresis assay of serum apolipoprotein in man - Clin. Chem . (1976) 71 - 95 .
- (27) Moulin S. , Dewailly P. , Sezille G. , Fruchart J.C. - Electrophorèse des lipoprotéines sur plaque de gel d'acrylamide en gradient discontinu d'acrylamide . Clin Chim. Acta (1979) 91 - 159 .
- (28) Fruchart J.C. , Puchois P. - Méthodes d'analyse des lipoprotéines . Ann. Biol. Clin. (1986) 44 - 551 , 555 .

- (29) Osborne J.C. , Brewer H.B. - The plasma lipoproteins . Adv.protein Chem. (1977) 31 - 253 .
- (30) Albers J.J. and al. - Multilaboratory comparison of three heparin Mn 2+ precipitation procedures for estimating cholesterol in high density lipoprotein . Clin. Chem. (1978) 24 - 853 .
- (31) Warnick G.R. , Albers J.J. - Heparin Mn 2+ quantitation of high density lipoprotein cholesterol . An ultrafiltration procedure for lipemic samples . Clin. Chem. (1978) 24 - 900 .
- (32) Delalla O.F. , Gofman J.W. - Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins .Methods Biochem Anal. (1964) 459 .
- (33) d'après Gordon T. , Castelli W.P. , Hjortland M.C. , Kannel W.B. - High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease . The Framingham study . Amer. J. Med. (1977) 62 - 707 .
- (34) Miller N.E. , Thelle D.S. , Forde O.H. - High density lipoprotein and coronar heart disease : a prospective case control study . The Lancet (1977) .
- (35) d'après Rhoads G.G. , Gulbransen C.L. , kagan A. - Serum lipoproteins and coronary heart disease in a population study of Hawaii Japanese men . New Engl. J. Med. (1976) 293 , 294 .
- (36) Riese .F. , Mordasini R. , Salzmann C. - Apoproteins and lipids as dicriminators of severity of coronary heart disease .Atherosclerosis (1980) 37 - 157 , 162 .
- (37) Albers J.J. , Cabana V.G. , Warnick G.R. - Lp (a) lipoprotein : relationship to sinking pre - beta lipoprotein , hyperlipoproteinemia and apolipoprotein B . Metabolism (1975) 24 - 1047 .
- (38) d'après Desreumaux C. , Fruchart J.C. , Dewailly P. - Purification et caractérisation partielle de la lipoprotéine Lp (a) . Biochimie (1977) 59 - 543 .
- (39) Seidel D. - A new immunochemical technique for a rapid semi - quantitative determination of the abnormal lipoprotein (Lp X) caracterizing cholestatis . Clin. Chim. Acta (1971) 31 - 225 .
- (40) Ritland S. - Quantitivedetermination of the abnormal lipoprotein of cholestatis , Lp X in liver disease . Scand. J. Gastroenterol. (1975) 10 - 5 .
- (41) Fruchart J.C. - Valeurs sémiologiques des apolipoprotéines . Rev. Med. Interne (1985) 41 , 48 .
- (42) Brewer H.B. , Fairwell J.T. , Kay L. - Human sequence pro - Apo A1 : isolation and aminoterminal sequence . Biochem. Biophys. Res. Commun (1983) 113 / 2 - 626 , 632 .

- (43) Fruchart J.C. , Luyeye I. , Parra H. - Les lipoprotéines athérogènes et leur détection immunologique . Bull. Acad. Natle Med. (1985) 6 - 719 , 728 .
- (44) d'après Bruckert E. , Turpin G. - Les apolipoprotéines . Le concours médical (1989) 111 - 04 .
- (45) Kwiterovitch P. , Sniderman A. - Clinical and biochemical characteristics of dyslipoproteinemias associated with an excess of apoprotein B or A1 : proceeding of the workshop on apolipoprotein quantification . N.I.H. publication N° 83 (1983) 1266 - 71 , 100 .
- (46) Utermann G. , Hees M. , Steinmetz A. - Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinemia in man . Nature (1977) 269 - 604 , 607 .
- (47) Catapano A.L. - Apo C II and lipoprotein lipase activity .Ric. Clin. Lab. (1982) 12 - 35 , 40 .
- (48) d'après Fruchart J.C. - Classification des dyslipoprotéinémies . Mouvement biologique ; La médecine infantile (1986) N° 4 - 430 , 445 .
- (49) Tolleshang H. , Goldstein J.L. , Sneider W.J. - Post - translational processing of the LDL receptor and its genetic disruption in familial hypercholesterolemia . Cell (1982) 30 - 715 .
- (50) Beisiegel U. , Schneider W.J. , Brown M.S. , Goldstein J.L. - Immunoblot analysis of low density lipoprotein receptors in fibroblasts from subjects with familial hypercholesterolemia . J. Biol. Chem. (1982) 257 - 13150 .
- (51) Tolleshang H. , Hobgood K.K. , Goldstein J.L. - The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia : multiple mutations disrupt transport and processing of a membrane receptor . Cell (1983) 32 - 941 .
- (52) Brunzell J.D. , Chait A. , Nikkila E.A. , Ehnholm G. - Heterogeneity of primary lipoprotein lipase deficiency .Metabolism (1980) 29 - 624 .
- (53) Nikkila E.A. - Familial lipoprotein lipase deficiency and related disorders of chylomicron metabolism .In : The metabolic basis of inherited disease 5 th Eds. Mc Graw - Hill , New York (1982) 622 , 642 .
- (54) Rall S.C. , Weisgraver K.H. , Malhey R.W. - Structural basis for receptor binding heterogeneity of apolipoprotein E from type III hyperlipoproteinemic subjects .Proc.Natl.Acad. Sci. USA (1982) 79 - 4696 .
- (55) Grundy S.M. - Pathogenesis of hyperlipoproteinemia . J. Lipid Res. (1984) 25 - 1611 .
- (56) d'après Legrand A. - Les méthodes d'exploration des lipoprotéines et les problèmes rencontrés dans leur utilisation . XXXII èmes Dimanches biologiques (1992) Dyslipoprotéinémies et athérogénèse .

(57) Siest G. , Henny J. , Schiele E. - Références en biologie clinique .Elsevier Ed. Paris (1990).

(58) Beucler I. , Caces E. , Camare R. et col. - Utilisation de 6 calibrants sériques pour standardiser les dosages des apolipoprotéines A1 et B dans le sérum humain . Ann. Biol. Clin. (1990) 48 - 443 , 447 .

(59) d'après Fievet C. , Desreumaux C. - Lipides , lipoprotéines , apoprotéines : évolution des méthodes d'exploration depuis 10 ans . Ann. Biol. Clin.(1990) 44 - 335 ,341 .

(60) Berg K. - A new serum type system in man : the Lp system . Acta Pathol. Microbiol. Scand. 59 - 369 , 382 .

(61) Mac Lean J. , Tomlinson J. , Kuang W.J. - C DNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen . Nature (1987) 330 - 132 ,137 .

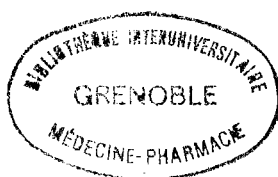
(62) Koster G. - The physiological role of Lp(a) .In : Lipoprotein (a) . Scann A. Ed. Academic Press Inc. San Diego (1990) 183 , 204 .

(63) d'après Mezdour H. , Parra H.J. , Aguié - Aguié G. - La lipoprotéine (a) .Ann. Biol. Clin. (1990) 48 - 139 , 153 .

(64) Albers J.J. , Marcovina S. , Lodge M. - The unique lipoprotein (a) : properties and immunochemical measurement . Clin. Chem. (1990) 36 - 2019 , 2026 .

(65) d'après Legrand A. - Lipides et lipoprotéines : éléments de l'exploration et leurs limites . Feuilles de biologie (1990) 177 - 53 , 58 .

(66) Références médicales : le texte des douze premières . Impact Medecin Quotidien (1993) N° 459 .



A U T O R I S A T I O N    D ' I M P R E S S I O N

---

De la Thèse dont l'intitulé est : *Des marqueurs biologiques  
de l'athérosclérose*

CANDIDAT : M<sup>ème</sup> *A. S. Fourchtein née Vienne*

VU

Le Président du Jury

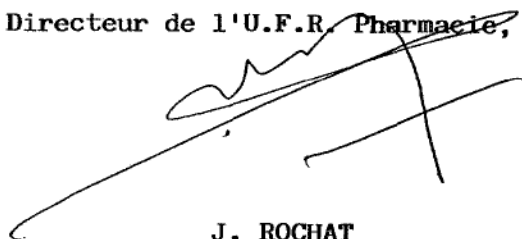
GRENOBLE, le *8/02/94*



VU

P/ Le Président de l'Université  
Joseph FOURIER GRENOBLE I  
Sciences. Technologie. Médecine  
Le Directeur de l'U.F.R. Pharmacie,

GRENOBLE, le 01 mars 1994



J. ROCHAT

