

I. Urée

1 Qu'est-ce que l'urée ?

L'urée est un déchet azoté provenant de la dégradation des protéines par le foie, filtré par reins et éliminé par les urines. L'urée représente environ 90 % de l'azote urinaire total chez l'adulte. Elle est produite en grande partie par le foie et une faible partie par les reins. Le taux d'urée dépend à la fois de la fonction rénale, des apports alimentaires protéiques, de la destruction des protéines de l'organisme, de l'âge et de l'état d'hydratation de la personne.

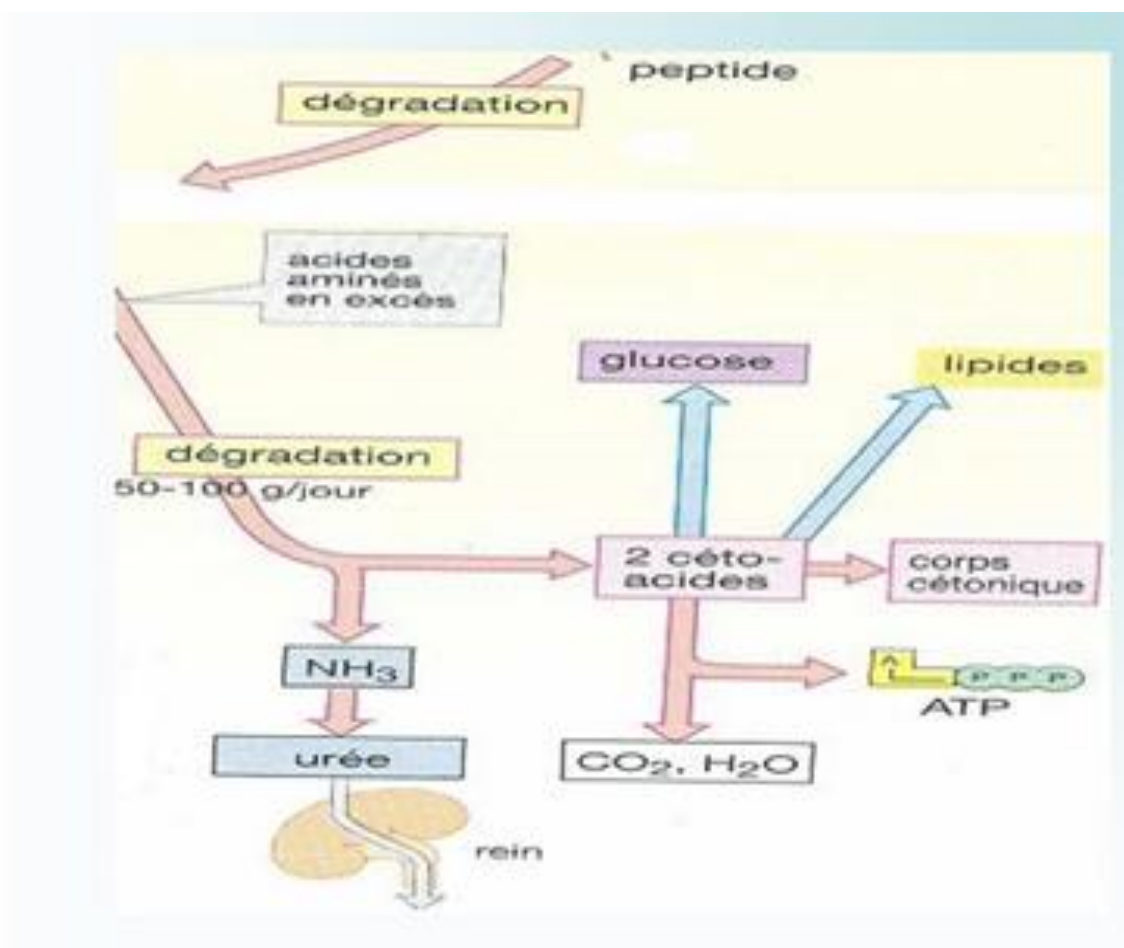


Figure1 : Origine de l'urée

2 Structure :

- C'est un composé organique de formule chimique $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$: 2 fonctions amines et une fonction cétone.
- Les deux atomes d'azotes qui seront éliminés viennent pour l'un de l'ammoniac dérivé du glutamate, activé sous forme de carbamyl phosphate et pour l'autre de l'aspartate, alors que l'atome de carbone provient de HCO-3.
- Les deux atomes d'azote et l'atome d'oxygène du groupe carbonyle de l'urée ont des doublets d'électrons non partagés.

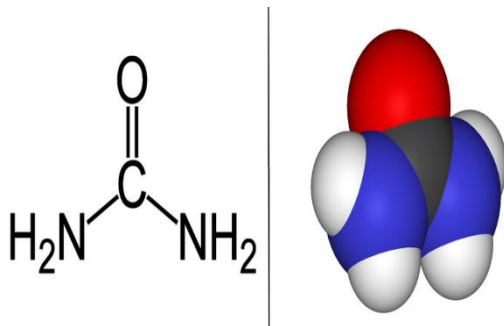


Figure 2 : Structure de l'urée

3. Caractéristique :

- Une petite molécule polaire riche en azote, la plus abondante de l'urine humaine mais elle se trouve en petite quantité, dans le sang, le chyle, la lymphe, etc....
- Sa masse moléculaire est de 60 DA ce qui le rend très diffusible.
- Circule librement dans le sang.
- Elle est solide,
- Neutre
- inodore (sauf en milieu humide, lorsque son hydrolyse produit de l'ammoniaque),
- blanc cristallin,
- non toxique,
- hydrophile = L'urée est soluble dans l'eau, le benzène et l'alcool, légèrement soluble dans l'éther.

4. L'uréogénèse

L'uréogénèse est l'ensemble des réactions enzymatiques catalysées par les enzymes qui fixent l'Azote sous forme d'urée. La voie est exclusivement **hépatocytaire (foie)** car les

hépatocytes sont les seules cellules à exprimer le gène de l'ornithine-carbamylyl transférase, enzyme de l'uréogénèse.

Les atomes d'Azote utilisés par les hépatocytes proviennent de toutes les cellules de l'organisme sous forme de :

- glutamine, qui transporte l'ammoniac sous une forme très peu toxique
- ions ammonium, en très petites quantités, provenant surtout des désaminations intestinales.

Le Carbone de l'urée provient des bicarbonates.

L'uréogénèse utilise la malate déshydrogénase cytoplasmique dans le sens de l'oxydation du malate en oxaloacétate, réaction commune à l'uréogénèse, à la néoglucogénèse et à la sortie du malate hors des mitochondries.

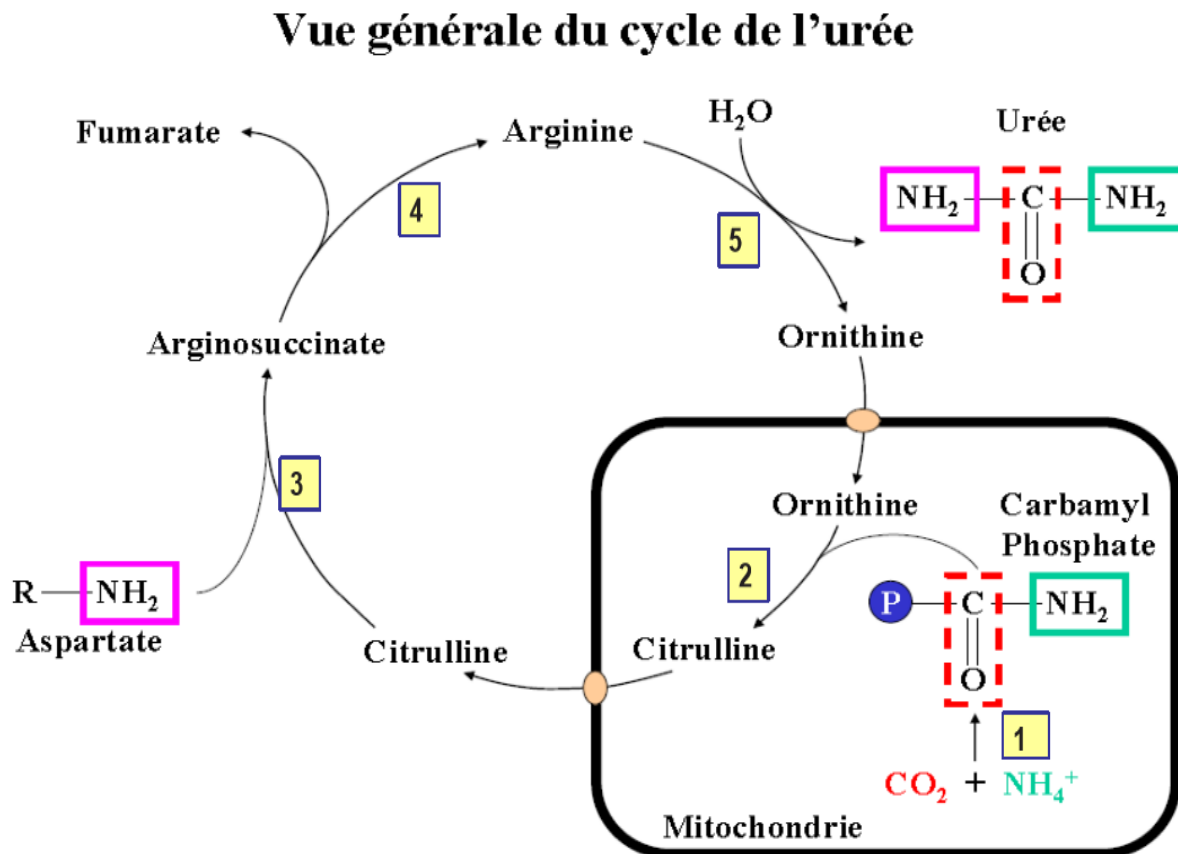


Figure 3 : Uréogénèse

5. Elimination

Le système urinaire comprend les organes urinaires, et est souvent étudié en combinaison avec le système reproducteur, qui comprend les organes génitaux. Ces organes sont souvent étudiés ensemble du fait qu'ils sont situés dans la même région du corps et qu'ils partagent un certain nombre de fonctions. L'appareil urinaire est pratiquement le même chez l'homme et chez la femme.

Le système urinaire comprend des organes (les reins), différentes structures (la vessie, l'urètre, l'uretère) et de nombreux vaisseaux sanguins permettant d'éliminer les déchets azotés produit par le métabolisme cellulaire. Lors de l'utilisation de molécules, comme les protéines, par les cellules, ces dernières rejettent de l'azote, une substance toxique pour le corps si elle est très concentrée. On se doit donc de l'éliminer, sous forme d'urée. L'urée voyage dans le système circulatoire jusqu'au rein, où le sang est filtré. L'urée ainsi qu'un peu d'eau se retrouve dans le rein lui-même, puis descend l'uretère jusqu'à la vessie, où l'urine est stockée. Lorsqu'accumulée en grande quantité, l'urine descend l'urètre vers l'extérieur du corps. Les glandes surrénales, situées juste au dessus des reins, ne font pas directement partie du système urinaire, bien qu'elles aient un effet indirect sur lui, comme sur le reste du corps.

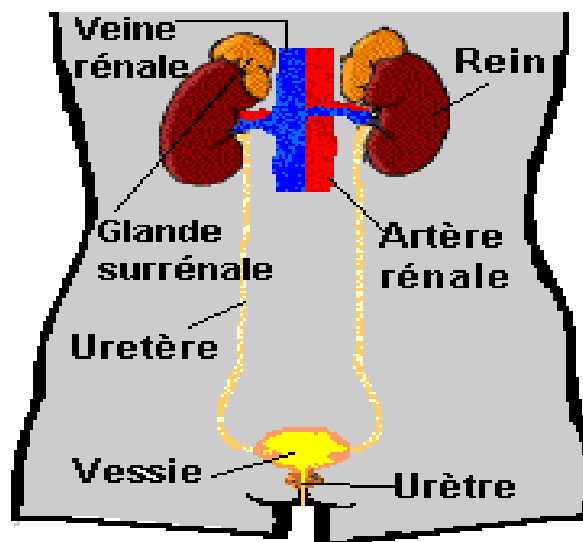


Figure 4: Système urinaire

6. Dosage

Il existe différentes méthodes pour le dosage de l'urée, qui peuvent être classés en deux grands groupes :

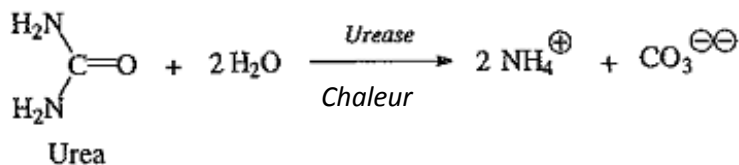
A/ Techniques enzymatiques:

L'urée est principalement dosée par des méthodes basées sur l'action préliminaire de l'uréase suivies de réactions auxiliaires différentes. Les techniques enzymatiques utilisés par moins de 20% des laboratoires il y a 30 ans sont aujourd'hui très largement majoritaires.

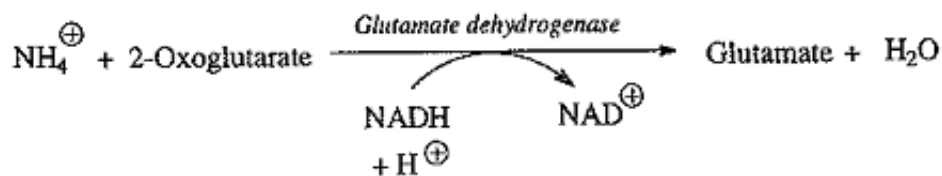
1. Méthode de l'Uréase/ Glutamate Déshydrogénase :

Cette technique est basée sur la réaction décrite par Talke et Schubert et optimisée par Tiffany.

L'uréase (urée-aminohydrolase) hydrolyse l'urée en carbonate d'ammonium qui se décompose spontanément en libérant une molécule de gaz carbonique et deux molécules d'ammoniaque.



L'ammoniaque en présence de α -cétoglutarate et de la nicotinamide adénine dinucléotide hydrogénase (NADH) libère le glutamate sous l'action de glutamate déshydrogénase. Elles exploitent le schéma réactionnel suivant :



1. Technique électrochimique :

Les méthodes électrochimiques sont basées sur des réactions d'oxydoréductions qui sont le siège d'un échange d'électrons entre l'oxydant et le réducteur.

L'uréase dégrade l'urée en NH_4^+ qui fait varier la conductivité. On mesure la cinétique de la variation de la conductivité (conductimétrie) avec une électrode sélective de conductivité sur les systèmes Synchron/ DxC (Beckman Coulter).

2. Technique reflectometrique:

Les plaques sont constituées de plusieurs couches réactionnels sur un support en polyester. La méthode analytique est basée sur l'hydrolyse de l'urée en présence d'uréase pour donner de l'ammoniac et du gaz carbonique. Une réaction colorimétrique permet de déterminer par réflectométrie la concentration en ammoniac produit.

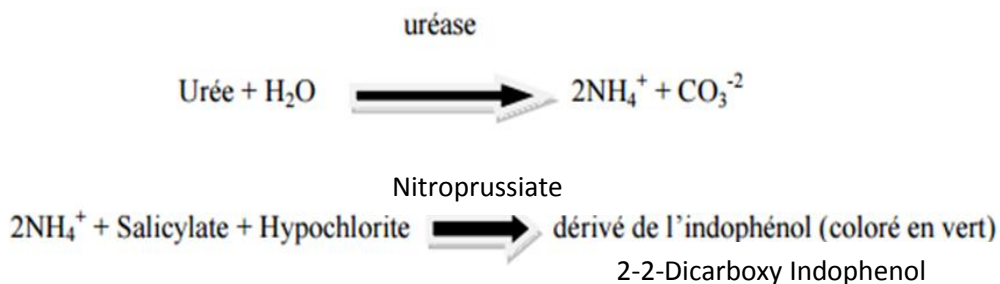
Cette méthode d'analyse a l'avantage d'être spécifique, rapide et d'éviter l'utilisation de produits corrosifs ainsi que la déprotéinisation.

3. Méthode colorimétrique de Berthelot :

Il s'agit d'une technique enzymatique et colorimétrique ancienne basé sur l'action spécifique de l'uréase qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate. Les ions ammonium réagissent en milieu alcalin avec l'hypochlorite et le salicylate en présence de nitroprussiate (qui catalyse la réaction), pour former une monochloramine qui dans un 2ème temps réagit avec deux phénols pour former un indophénol vert mesuré par spectrophotométrie à $\bar{\nu}$ 600 nm.

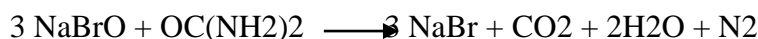
L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration d'urée ainsi qu'à la diminution de la concentration de NAD⁺ dans l'échantillon (spécimen).

La réaction est présentée dans cette figure:



B/ Méthodes chimiques :

- la méthode gazométrique consiste à mesurer le volume de diazote dégagé lors de la décomposition de l'urée par l'hypobromite de sodium :



- les méthodes colorimétriques directes s'appuient sur le fait que l'urée donne des dérivés colorés avec des réactifs tels que le diacétyle $\text{CH}_3\text{COCOCH}_3$ ou le diacétylmonoxime $\text{CH}_3\text{COCNOHCH}_3$.

7. Variation physiopathologique

- Variation physiologique :

- . L'âge : plus bas chez le NNé et l'enfant que chez l'adulte.
- . Plus élevée chez le sujet âgé.
- . L'apport azoté alimentaire (\uparrow régime hyper protidique).
- . Grossesse \rightarrow diminution par augmentation de la filtration glomérulaire.

Ainsi l'interprétation doit se faire en fonction de l'âge ; du métabolisme protidique et de l'état d'hydratation.

- Variations pathologiques :

- . Défaut d'élimination de NH_3 sous forme d'urée par le foie \implies accumulation dans le sang NH_3 (toxique).
- . Défaut de transporteurs.
- . Insuffisance hépatique sévère.....etc

II- Créatinine

1/Définition

La créatinine est une molécule d'origine musculaire synthétisée à partir de la créatine phosphate qui est d'une part contenue dans l'alimentation et d'autre part produite par l'organisme, est une source importante d'énergie, rapidement mobilisée par le muscle lors d'un exercice musculaire. Au cours de son utilisation par le muscle, la créatine va se déshydrater spontanément en créatinine qui passe dans le plasma puis sera éliminée par le rein. Sa concentration sérique dépend de la capacité d'élimination rénale et de la masse musculaire.



Figure1 : Structure de la créatinine

Masse molaire : 113,12 g/mol

Formule : $C_4 H_7 N_3 O = HN(C-NH-CO-CH_2-NCH_3)$.

2/Origine :

L'origine de la créatinine est double : la Créatinine Endogène prend naissance dans le muscle et dépend du phosphagène, puis elle est éliminée par les reins en quantité constante, et la Créatinine Exogène (Alimentaire) qui se trouve dans les aliments et est absorbée au niveau de l'intestin et éliminée au niveau rénal.

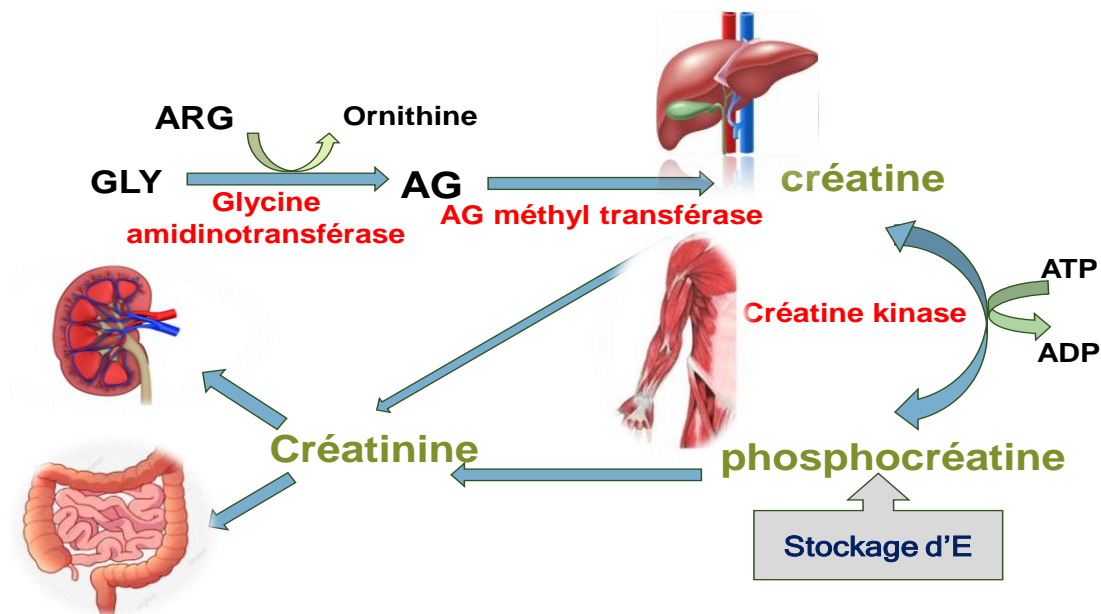
3/Métabolisme :

Dans les reins, la glycine est transformée par la glycine amidino transférase en acide guanidine-acétique et l'arginine en ornithine ; puis l'acide guanidine-acétique formé est transporté dans le foie par l'acide guanidine méthyl transférase en créatine.

Dans les muscles, une fraction de la créatine totale se lie au phosphate, la réaction est catalysée par la créatine kinase et résulte en phosphocréatine (réaction réversible).

La phosphocréatine se lie à ADP pour le reconvertir en ATP, une importante source d'énergie cellulaire. En perdant une molécule d'eau et en libérant de l'ATP, la phosphocréatine se transforme en créatinine (réaction non enzymatique irréversible).

La créatinine provient de la créatine et de la phosphocréatine. La créatinine libérée par le muscle est éliminée en grande partie par le rein. Bien qu'une partie non négligeable soit éliminée par les selles.



GLY: glycine, ARG: arginine, AG: acide Guanidine-acétique

Figure 2 : Métabolisme de la créatinine

4/ Elimination :

La créatinine est un produit de dégradation de la créatine formé lors de la contraction des muscles. Sa concentration dans le sang est plutôt constante et proportionnelle à la masse musculaire. Le rein étant la seule voie d'élimination de la créatinine, sa mesure permet d'évaluer l'efficacité du travail du rein. (L'élévation de la créatinine plasmatique est un signe de dysfonctionnement de la filtration glomérulaire)

Par la mesure de sa concentration dans le sang ou dans l'urine et à l'aide d'équations mathématiques, il est possible de calculer l'élimination de la créatinine, appelée clairance à la créatinine. La valeur obtenue indique le volume de sang que le rein est capable d'épurer en une minute.

4/ Dosage :

La créatinine représente un paramètre biologique remarquable fixe qui possède une signification fondamentale principalement lors de l'évaluation de la fonction néphrologique. Son dosage est réalisé sur le plasma comme sur les urines, l'échantillon doit être conservé à l'abri de l'évaporation. Différentes méthodes de dosage de la créatinine coexistent (colorimétriques, enzymatiques, chromatographiques, ...). En pratique, deux méthodes sont actuellement réalisées dans les laboratoires de biologie médicale :

- les méthodes colorimétriques avec la réaction de Jaffé (80 %)
- les méthodes enzymatiques (20 %).

a/ Méthodes colorimétriques

La méthode de Jaffé est une réaction colorimétrique. En milieu alcalin, la créatinine forme avec le picrate un complexe jaune orangé. La vitesse de formation de la coloration est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon. Toutefois, des substances « pseudochromogènes » (telles que protéines, glucose, ...) peuvent perturber les résultats en donnant des concentrations de créatinine plus élevées que la réalité. Selon leur concentration, ces composés peuvent provoquer une surestimation de 18 à 20 $\mu\text{mol/L}$ de la concentration de créatinine dosée, soit un biais de l'ordre de 20 à 40 %. A l'inverse, l'augmentation de la bilirubine masque le développement de la coloration et donne des résultats faussement bas. Les méthodes de Jaffé dites « compensées » sont apparues par la suite sur le marché et tiennent compte de l'impact de ces substances sur le résultat du dosage en effectuant une compensation des chromogènes non spécifiques (correction de -18 à -26 $\mu\text{mol/L}$).

b/ Méthodes enzymatiques

Ces approches plus récentes permettent de s'affranchir de certaines de ces interférences. La méthode la plus répandue consiste en la dégradation enzymatique de la créatinine qui

aboutit en fin de chaîne à la production d'eau oxygénée. Cette production d'eau oxygénée est ensuite quantifiée par une dernière réaction enzymatique.

5/Variations pathologiques :

a/ Cas d'hypo-créatinine :

- Hypo créatininémie :

Faibles niveaux de créatinine peuvent être causés par :

- Hémodilution.
- Dénutrition sévère.
- D'une faible masse musculaire causée par une dystrophie musculaire ou simplement liée à l'âge.
- D'une atteinte du foie (lésion hépatique).
- Une grossesse.
- Les anti-inflammatoires.
- Myopathie (atrophie musculaire sévère)
- Les antiépileptiques

- Hypo créatininurie :

- Chez les personnes âgées.
- Chez les personnes souffrant d'insuffisance rénale.
- Chez les personnes souffrant de glomérulonéphrite (infection au niveau du rein) aiguë ou chronique.
- Chez les personnes souffrant d'hyperthyroïdie.
- En cas d'obstruction du tractus urinaire (adénome prostatique, colique néphrotique).

b/ Cas d'hyper-créatinine :

Les taux de créatinine urinaire (créatinurie) et sanguine (créatininémie) sont influencés par de nombreux facteurs.

- Hyper créatinurie :

Un taux de créatinine élevé dans les urines peut simplement être lié au : mode de vie

- Activité physique :

Créatinine plus élevée en cas d'une activité physique intense

- Alimentation :

- La créatinine s'élève dans une alimentation riche en protéines animales.

Dans d'autres cas, ce taux de créatinine élevé peut être lié à :

- L'hypothyroïdie,
- Diabète sucré
- L'acromégalie (production excessive d'HC).

- Hyper créatininémie :

Un taux élevé de créatinine dans le sang voici ce qui a tendance à la faire augmenter

Des problèmes de fonction rénale comme la présence :

- Un calcul rénal
- Une infection des reins
- Insuffisance rénale
- Un cancer du rein (dans les cas plus graves)

▪ L'insuffisance rénale peut être une conséquence d'une autre maladie comme :

- Le diabète
- L'hypertension
- La leucémie
- Les problèmes thyroïdiens
- Une lyse des cellules musculaire

En dehors de problèmes de reins, la créatinine peut augmenter à cause de :

- **Une insuffisance cardiaque**
- **Un épuisement physique ou d'une blessure musculaire**
- **Une déshydratation.**
- **Chez les prématurés**
- **Chez les femmes enceintes souffrant de pré éclampsie**

- **Elévation causée par les Médicaments :** Les contraceptifs oraux

III. Ammoniac

1/ Définition :

L'ammoniac est une substance naturelle qui peut également être produite en grandes quantités par synthèse chimique. En raison de ses bonnes propriétés thermodynamiques, l'ammoniac est couramment utilisé dans la réfrigération industrielle. L'ammoniac est un composé de formule chimique NH_3 . À température ambiante, il se présente sous la forme d'un gaz incolore mais très irritant et à l'odeur piquante. Le gaz ammoniac est corrosif pour les yeux et les muqueuses des voies respiratoires et des poumons. Il est mortel à des concentrations élevées.

2/ Ne pas confondre ammoniac et ammoniacque :

Lorsqu'on dissout du gaz ammoniac dans de l'eau, on obtient de l'hydroxyde d'ammonium, également appelé ammoniacque (se souvenir de la terminaison évoquant « aqueux »). La formule chimique de l'ammoniac est NH_3 , celle de l'ammoniacque est NH_4OH .

3/ Rôle de l'ammoniac :

- Biologiquement, l'ammoniac joue un rôle important en tant qu'intermédiaire dans la construction et la dégradation des acides aminés.
- En raison de la toxicité de grandes quantités d'ammoniac, celui est transformé en urée dans le corps pour être excrété dans l'urée non toxique.

4/ Produire de l'ammoniac

Dans l'industrie, l'ammoniac est produit à partir de diazote (N_2) et de dihydrogène (H_2). Dans la nature, la décomposition de matières organiques produit également de l'ammoniac. Et peut-être la biochimie fera-t-elle bientôt appel à des enzymes nitrogénases, synthétisée par des bactéries pour catalyser qui servent pour réduire (au sens chimique du terme) le diazote en ammoniac.

5/ Les dangers de l'exposition à l'ammoniac

L'ammoniac est très corrosif. Il peut provoquer des irritations, voire des brûlures.

Une exposition à l'ammoniac, que ce soit par inhalation, par ingestion ou par contact, peut, quant à elle, entraîner des difficultés à respirer, des brûlures dans les yeux ou le nez, l'apparition de sang dans les selles, des évanouissements, une nécrose de la peau, etc. Les deux produits doivent donc être manipuler avec la plus grande précaution.

6/ Utilisations d'ammoniac

- *L'Engrais :*

-Le NH₃ est principalement utilisé dans la production d'engrais

- De l'ammoniac (contenant 82 % d'azote) sert parfois aussi d'engrais azoté gazeux ; il est alors injecté directement dans le sol sous forme d'ammoniac liquéfié sous pression.

-Étant très soluble dans l'eau, une grande partie du gaz se dissous dans l'eau du sol



Exemple : *l'engrais Ci/IROM+*

- *Explosif :*

-Sous forme gazeuse, l'ammoniac est aussi utilisé par l'industrie pour la fabrication d'explosifs.

Exemple: *explosives Hooks (ANTI-BOTTOM)*.



- Carburant

- Le tabac :

-On le trouve aussi dans la cigarette ou le tabac de pipe.

-l'ammoniac produit un composé nicotinique basique libre, encore plus assimilable par l'organisme que sous sa forme acide. Ceci multipliant très fortement l'effet addictif de la nicotine sur le cerveau.



Exemple : *MALBORO*

- Polymères :

-ingrédient indispensable dans la synthèse de divers polymères (plastiques, fibres synthétiques).

Exemple : *les canettes en plastique*



- Produits de ménage :

-L'ammoniaque ou alcali, à base d'hydrogène de l'azote est un excellent nettoyeur et désinfectant, idéal pour nettoyer les tapis, le matelas ou le canapé, mais aussi pour enlever les taches de gras, les taches de sang, mais aussi pour raviver les couleurs de certains tissus.

-L'ammoniaque est un excellent dégraissant, détartrant, détachant.

Exemple : *spray dégraissant.*



- Réfrigération :

-L'ammoniac est un fluide frigorigène aux capacités thermodynamiques et thermiques excellentes, malgré les contraintes qu'il implique ; alors désigné par la référence R717.

-L'ammoniac est très utilisé dans le secteur du froid industriel dans les installations à puissance importante (plusieurs centaines de kW). En raison de sa toxicité, il doit être confiné en salle des machines.

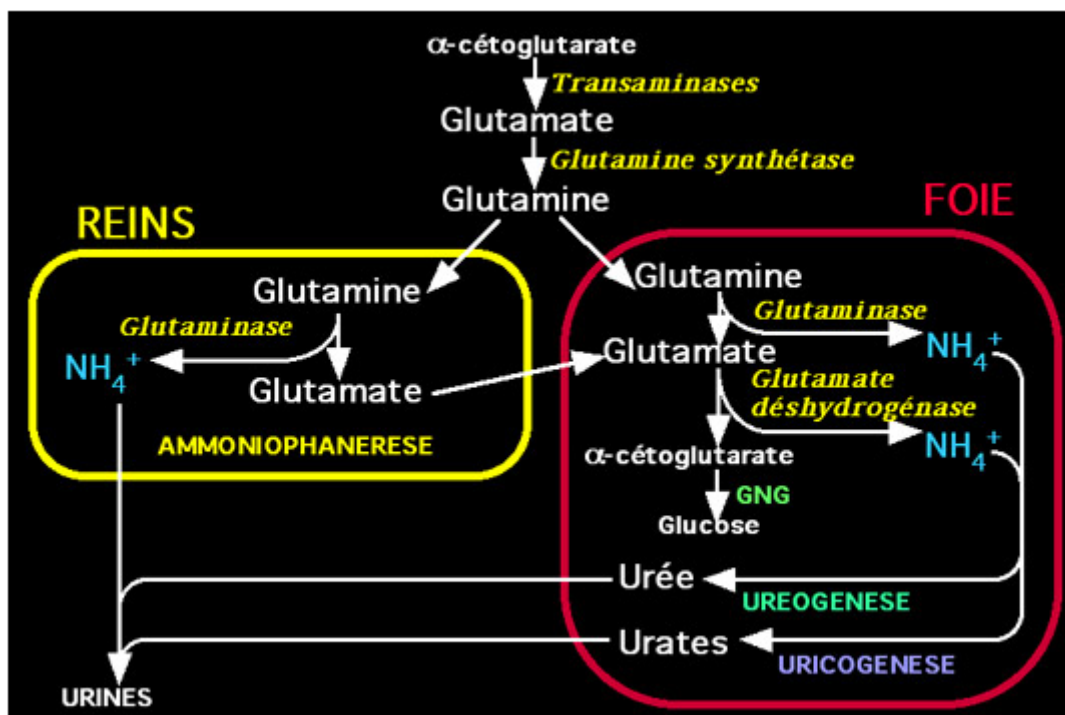
Exemple : radiateur en aluminium.



6/ Métabolisme et élimination de l'ammoniac

- Les ions ammonium produits par le catabolisme des acides aminés dans toutes les cellules sont fixés par transamination sur l' α -cétoglutarate, puis par la glutamine synthétase. La glutamine ainsi produite porte donc deux atomes d'Azote. Elle diffuse dans la circulation d'où elle est captée par les reins ou par le foie.

- Dans les muscles, l'Azote des acides aminés provenant du catabolisme des protéines lors du jeûne prolongé, est fixé sur le pyruvate produit par la glycolyse cytoplasmique et excrété sous forme d'alanine. L'alanine est ensuite captée par le foie qui récupère le pyruvate pour la gluconéogénèse.
- Dans les reins, la glutaminase libère des ions ammonium qui sont excrétés dans l'urine comme les autres cations. Le glutamate restant, repart dans la circulation pour être recapté par le foie.
- Dans le foie, la glutaminase, puis la glutamate déshydrogénase reprennent les deux atomes d'Azote portés par la glutamine pour les incorporer dans l'arginine. L'arginine est enfin hydrolysée pour libérer l'urée.
- L'urée est sécrétée à nouveau dans le sang pour être excrétée par les reins dans l'urine.
- Le foie peut encore éliminer ces Azotes par l'uricogénèse, mais chez l'Homme cette voie reste tout à fait accessoire pour l'élimination de l'Azote. Le rôle de l'uricogénèse est avant tout structural pour la synthèse des bases puriques des acides nucléiques.



7/ Dosage et pathologie de l'ammoniac

- **Méthode de Berthelot :**

Le réactif de Berthelot est une solution basique de phénol et d'hypochlorite de sodium.

- ✓ **Principe :**

Ions ammonium + réactif de Berthelot → un composé bleu

- Les ions ammonium réagissent avec le réactif de Berthelot pour donner une coloration bleue à bleu qui est mesuré par spectrophotométrie à $\lambda = 580\text{nm}$.
- Le nitroprussiate de sodium catalyse cette réaction.

- **Méthode colorimétrique enzymatique cinétique :**

La glutamate déshydrogénase est une enzyme mitochondriale que l'on trouve principalement dans le foie ; le muscle cardiaque et les reins.

- ✓ **Principe :**



- La glutamate déshydrogénase (GLDH) catalyse l'amination réductrice de l' α -cétoglutarate en présence de NH_4^+ et de NADPH, H^+ , pour former le glutamate et le NADP^+ .
- La diminution de la concentration de NADPH, H^+ , directement proportionnelle à la concentration d'ammoniac, est évaluée à 340 nm.

- **Méthode de conductimétrie sur les systèmes synchron :**

Pour mesurer la conductivité d'une solution, on utilise un conductimètre équipé d'une sonde que l'on plonge dans la solution à étudier.

- ✓ **Principe :**

La réaction de dosage est une réaction totale entre les ions H_3O^+ de l'acide chlorhydrique et l'ammoniac NH_3 modélisée par la réaction : $\text{H}_3\text{O}^+ + \text{NH}_3 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_4^+$

- **Méthode des plaques de chimie sèche :**

La méthode de dosage sur plaque de chimie sèche VITROS est réalisée à l'aide des plaques VITROS :



✓ **Principe :**

La plaque sèche VITROS est constituée d'un support en polypropylène transparent recouvert d'un film multicouche de **Bleu de bromophenol**

Une goutte d'échantillon de patient est déposée sur la plaque, puis répartie uniformément par la couche d'étalement dans les couches sous-jacentes, la densité de coloration formée est proportionnelle à la concentration en ammoniac présent dans l'échantillon et elle est mesurée par spectrophotométrie de réflectance.

- La détermination colorimétrique traditionnelle, utilisable dans de nombreux automates, repose sur la classique réaction de Berthelot, dans laquelle l'ammoniac développe, en milieu alcalin, une coloration bleu en présence de phénol et d'hypochlorite de sodium

- **Les interférents sur le dosage :**

- Le tabac.
- Lors d'un mauvais prélèvement, ex : entrée d'air dans le tube.
- Transfert tardif et mauvaise conservation du prélèvement.

8/ VARIATIONS PATHOLOGIQUES :

Si votre corps ne peut pas traiter (n'est pas capable de le dégrader suffisamment) ou éliminer l'ammoniac. Il s'accumule dans la circulation sanguine qui appelé **L'hyperammoniémie**

a. En cas d'hyperammoniémie :

Définition :

L'hyperammoniémie est une perturbation métabolique, Il s'agit d'une condition dangereuse qui peut entraîner des **lésions cérébrales, le coma** et même **la mort**.

L'hyperammoniémie provoque des dommages **irréversibles au système nerveux central**

Peut être causée par divers troubles acquis ou héréditaires.

Les causes d'hyperammoniémie :

- **L'insuffisance hépatique** (hépatites, cirrhoses, comas hépatiques) : Les patients souffrant d'un foie malade ne peuvent pas gérer l'ammoniac.
- **Un trouble du cycle de l'urée** (qui limite la transformation d'ammoniaque en urée),
- **Une insuffisance rénale** (les reins ne sont plus capables d'éliminer l'urée)
- Des saignements gastro-intestinaux
- Des saignements digestifs
- Un effort musculaire sévère
- un régime hyper protéique
- Une insuffisance cardiaque
- Une maladie génétique affectant certains composants du cycle de l'uré
- Une acidose : elle déséquilibre la transformation de NH_4^+ en NH_3 (c'est-à-dire augmentation de la forme NH_4^+) et ralentit donc son excrétion.
- Certains traitements médicamenteux à base d'acides organiques, comme l'acide valproïque

b. En cas d'hypoammoniémie :

Une ammoniémie abaissée peut être observée lors d'**hypertension** ou avec **l'usage de certains antibiotiques** (tels que les **aminosides**).

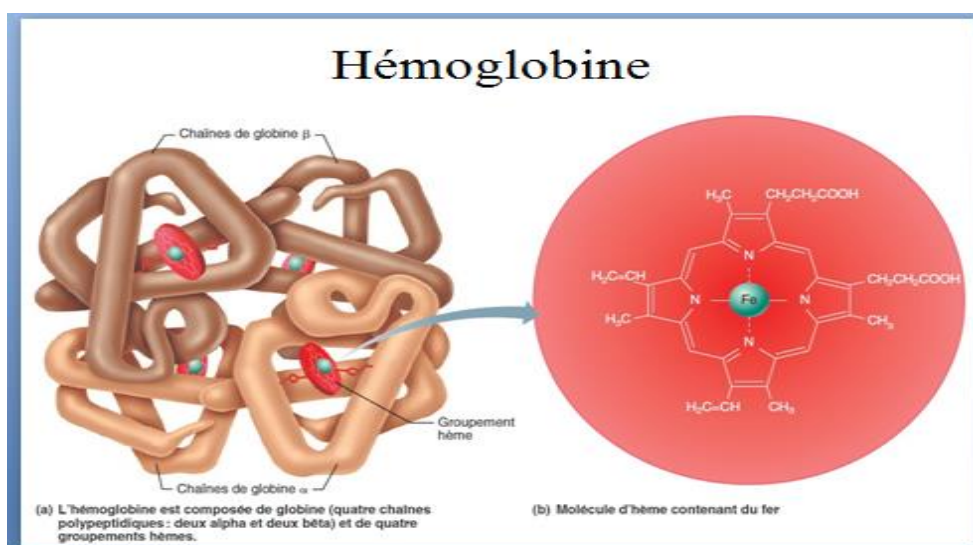
IV Bilirubine

1- Définition et origine

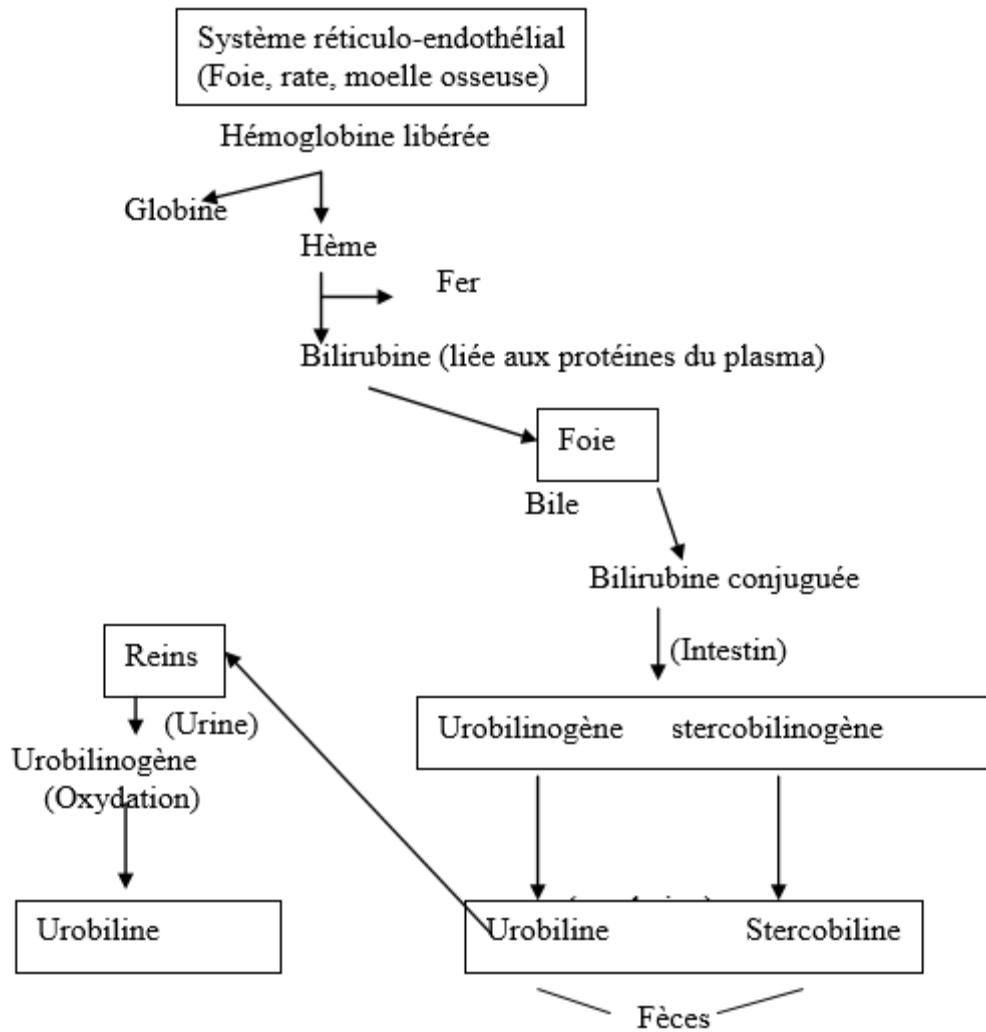
La bilirubine provient de la dégradation de l'hémoglobine des globules rouges sénescents au niveau de la rate. C'est un pigment jaune à l'origine de la coloration des urines. Elle circule dans le sang lié à une protéine, l'albumine, puis est captée au niveau du foie et est excrétée dans la bile. L'ictère, ou jaunisse, donne à la peau une couleur jaunâtre, et est causé par une accumulation de bilirubine dans le sang. Un taux trop élevé ou une augmentation brutale de bilirubine dans le sang peut laisser supposer une destruction anormale des globules rouges, une hépatite ou une cirrhose du foie. La bilirubine existe principalement sous 2 formes : la bilirubine dite libre (dite indirecte ou non conjuguée) qui est toxique et est transformée par le foie en bilirubine directe dite conjuguée qui sera ensuite éliminée dans les matières fécales et urinaires : excrétée dans la bile, elle colore les selles en brun.

2- Production de la bilirubine

L'hémoglobine est une hétéroprotéine du groupe des métallo porphyrines localisée dans les hématies où elle se trouve à l'état dissout et sous une concentration maximale. Les hématies sont des cellules sanguines anucléées, qui grâce à l'hémoglobine qu'elles contiennent, assurent les échanges respiratoires entre le sang et les tissus.



Structure d'Hémoglobine



Catabolisme de l'hémoglobine

3. Métabolisme de la bilirubine

Le métabolisme de la bilirubine se déroule en trois temps :

- un transport plasmatique
- un temps hépatique
- une dégradation de la bilirubine dans l'intestin.

3.1. Transport plasmatique

3.1.1. Dans le système réticulo-endothélial

L'hème provient de la dégradation des globules rouges (80 %), mais aussi des cytochromes (20 %). Elle est ensuite transformée en biliverdine grâce à l'hème oxygénase

(microsomale), puis en bilirubine grâce à la biliverdine réductase (cytosolique), ensuite la bilirubine est déversée dans le secteur vasculaire.

3.1.2. Dans le sang

La bilirubine est déversée par les macrophages dans le sang circulant. La molécule de ce pigment jaune rougeâtre qui apparaît dans le sang de la veine splénique est la bilirubine libre, non conjuguée, insoluble dans l'eau et donc prise en charge par le transporteur non spécifique du plasma la sérum albumine.

3.2. Temps hépatique

La bilirubine libre transportée par le plasma parvient jusqu'au foie, où elle est alors éliminée après transformation dans les voies biliaires : c'est le temps hépatique qui constitue le temps essentiel du métabolisme des pigments biliaires. La bilirubine liée de manière réversible au sérum albumine est captée par une protéine de transport membranaire et déversée dans le cytoplasme, elle est liée alors à une protéine cytoplasmique, la ligandine qui semble jouer un double rôle essentiel.

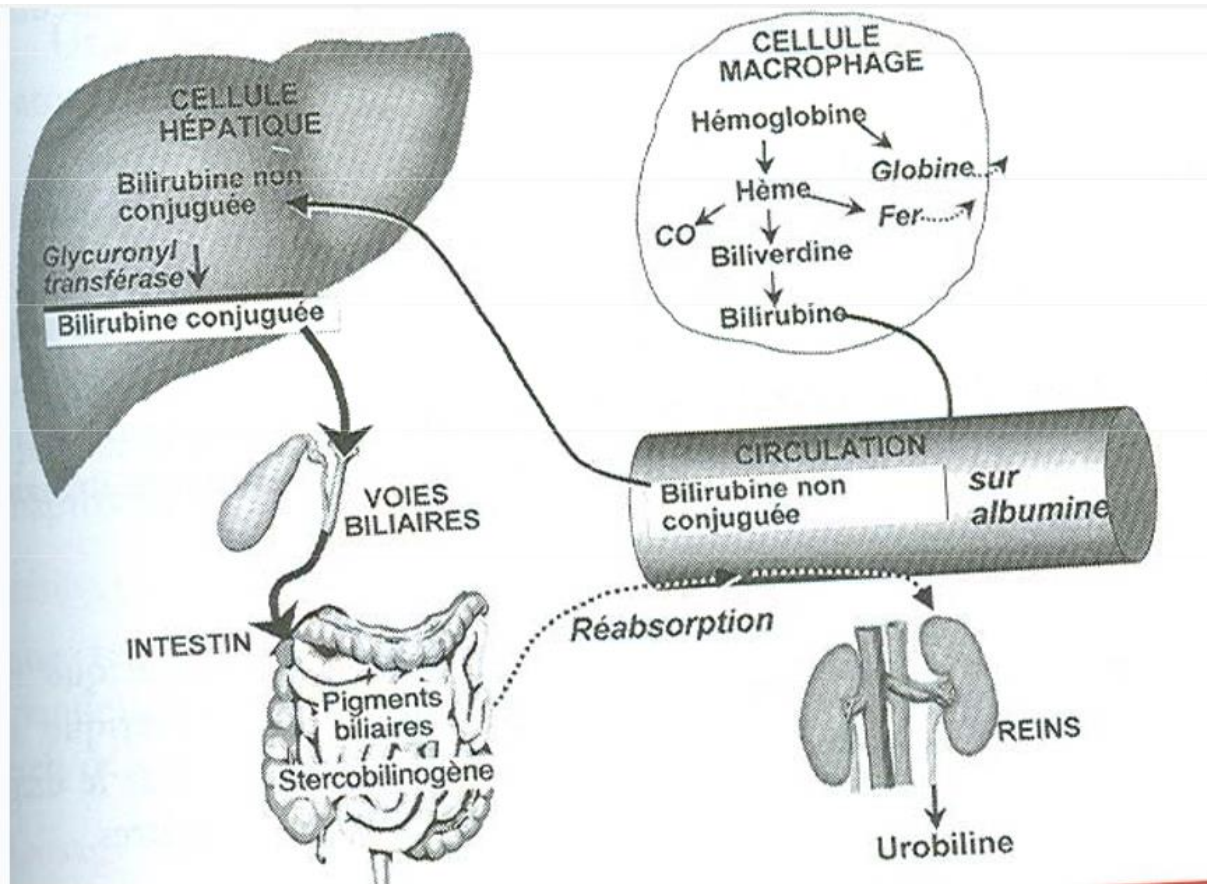
- Un rôle de protection de l'hépatocyte vis-à-vis de l'action toxique de la bilirubine, en l'excluant des sites cellulaires vulnérables.
- La facilitation de l'action de l'enzyme de conjugaison la glycuronyl transférase située dans le réticulum endoplasmique lisse de l'hépatocyte.

La conjugaison a pour effet de rendre la bilirubine hydrosoluble. Enfin, sécrétion dans les canalicules biliaires : la bilirubine conjuguée est alors devenue un pigment biliaire qui sera déversé dans l'intestin grêle comme tout les éléments de la bile, mais dans l'hépatocyte, une fraction de la bilirubine peut également provenir de la dégradation d'hémoprotéines telles que les cytochromes de la chaîne respiratoire. A l'état normal, ce métabolisme est responsable de la formation de 10 % de l'ensemble de la bilirubine et chez l'homme une perturbation de ce catabolisme entraînant une hyper bilirubinémie a été décrite plusieurs fois.

3.3. Dégradation de la bilirubine dans l'intestin

Arrivée au niveau intestinal, la bilirubine est déconjugée et réduite, par des bactéries de la flore intestinale en deux molécules chromogènes de structure voisine, l'urobilinogène et le stercobilinogène. Secondairement, celles-ci sont transformées en urobiline et stercobiline,

pigments brun verdâtre éliminés dans les selles. Une partie de la bilirubine non conjuguée peut être réabsorbée par la muqueuse intestinale.



Métabolisme de la bilirubine

3. Dosage de la bilirubine

Un dosage sanguin de bilirubine peut être prescrit si le médecin constate un jaunissement de la peau ou soupçonne un dysfonctionnement du foie ou de la vésicule biliaire.

a- Méthode à l'acide diazoté (Diazo réaction) :

La plupart des méthodes utilisées actuellement pour doser la bilirubine sont basées sur la réaction entre la bilirubine et les solutions d'acide sulfanilique diazoté.

b- Mesure spectrophotométrique directe :

Cette technique basée sur des mesures directes de sérum à la longueur d'onde de 445 nm qui est l'absorption maximum de bilirubine. L'oxyhémoglobine absorbe la lumière à la longueur d'onde de 445 nm.

c- Méthode enzymatique :

L'origine de l'enzyme bilirubine oxydase est l'espèce fongique : « *Myrothecium verrucania* » Cette dernière a un PM 52KD a attaché à un ion de cuivre avec une activité maximal a un PH= 8. En présence du sodium cholate et le sodium dodecyl sulphate les 4 fractions sont oxydés en biliverdine qui donne une couleur violette et à la fin des produits sans couleur L'absorbance est proportionnelle à la concentration de la bilirubine totale a la longueur d'onde 425- 460 nm

4/ Variation pathologique

- Bilirubine élevée

Chez les adultes, le taux de bilirubine peut augmenter (hyperbilirubinémie). Elle peut être causée par une hémolyse (augmentation de la destruction des globules rouges), le syndrome de Gilbert, maladie génétique associé à la hausse du taux de bilirubine, une hépatite ou une constriction biliaire. Au-dessus de 30mg/l, la peau et les yeux jaunissent du fait d'une trop forte concentration de bilirubine.

- Bilirubine augmentée

Une bilirubine augmentée peut être observée chez les nouveau-nés à cause du caractère immature du foie. On parlera alors d'ictère néo-natal. Cet ictère néo-natal disparaît en 5 jours. Ce taux excessif doit retrouver des valeurs normales cinq jours après la naissance. La présence de pathologies affectant le foie telles que la cirrhose, une hépatite ou le syndrome de Gilbert, peut également se manifester par une bilirubine augmentée.

- Bilirubine basse

A l'inverse, le taux de bilirubine peut diminuer dans certains cas exceptionnels comme lors des deux premiers trimestres d'une grossesse.

V-Acide urique

1- Définition :

Chez l'Homme, l'acide urique est une molécule physiologique. Elle est le produit final du métabolisme des purines : les bases puriques (l'adénine et la guanine), les nucléosides et les nucléotides.

2- Propriétés physico-chimiques de l'acide urique

2.1 Structure chimique

L'acide urique ou 2-6-8 trihydroxypurine est formé d'un noyau pyrimidique et d'un noyau imidazole. Selon les conditions du milieu, l'acide urique peut être sous deux formes: la forme moléculaire ou la forme ionisée plus communément appelée urate.

2.2 Propriétés chimiques

L'acide urique est un composé chimique de formule brute $C_5H_4N_4O_3$ et dont la masse molaire est de $168,1103 \pm 0,006$ g/mol. C'est un acide faible de pK_a 5,7. Selon le pH du milieu dans lequel se trouve l'acide urique, l'équilibre sera déplacé vers la formation de la forme moléculaire pour un $pH < pK_a$ ou vers la forme ionisée pour un $pH > pK_a$.

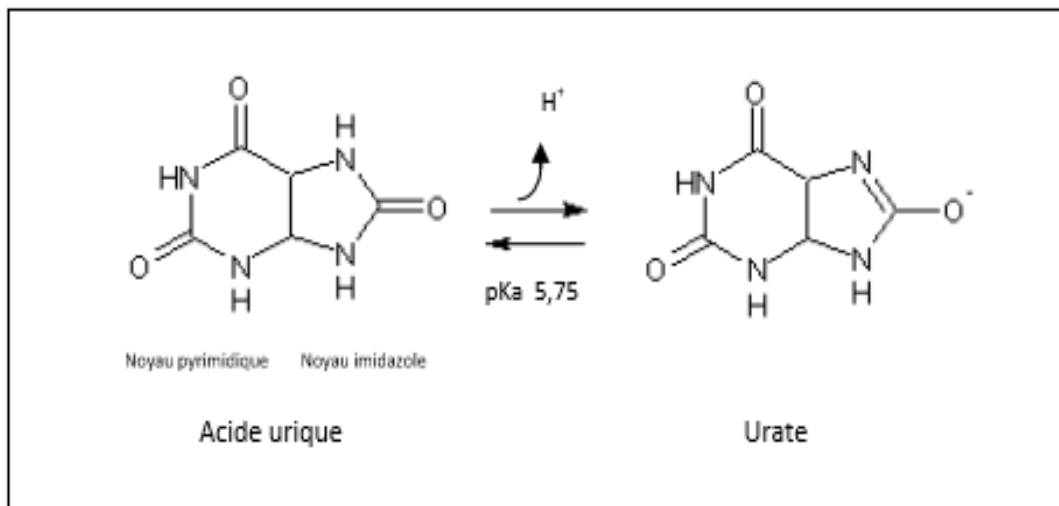


Figure1 : L'acide urique en équilibre avec l'urate

2.3 Propriétés physiques

Au pH physiologique (7,35-7,45), l'acide urique est à 98% sous forme ionisée. Il est présent à 37°C dans le plasma sous forme d'urate de sodium à une concentration d'environ 420 µmol/L. En se fixant en partie sur les protéines plasmatiques, l'urate peut même atteindre des concentrations de sursaturation d'environ 450 µmol/L sans précipiter.

L'acide urique et l'urate sont des molécules relativement insolubles qui précipitent facilement dans des solutions aqueuses telles que l'urine ou le liquide synovial, pouvant provoquer des lithiases ou des arthrites.

3- Origine

L'acide constitue le produit final du métabolisme des bases puriques qui peut être d'origine endogène ou exogène. Le métabolisme des bases puriques endogènes constitue environ les deux tiers du pool d'acide urique circulant, provenant soit d'une purinosynthèse de novo, soit du catabolisme des acides nucléiques cellulaires. Le métabolisme des bases puriques d'origine exogène, issues de l'alimentation, constitue environ le tiers restant.

Les bases puriques d'origine exogène sont issues du catabolisme des acides nucléiques alimentaires. La plus grande partie est ingérée sous forme de nucléoprotéines dont les acides nucléiques sont libérés dans le tractus intestinal par l'action d'enzymes protéolytiques. Les nucléosides ainsi produits sont soit réabsorbés et incorporés dans les acides nucléiques, soit dans leur grande majorité, dégradés en bases puriques et éliminés sous forme d'acide urique.

L'alimentation peut constituer un apport journalier en purines non négligeable selon le régime alimentaire de chaque individu. Parmi les aliments très riches en purines on retrouve notamment les aliments carnés, les abats, les poissons, les volailles, les tomates et les boissons alcoolisées avec notamment la bière qui contient de grande quantité de guanosine. L'alimentation joue ainsi un rôle non négligeable sur le métabolisme des bases puriques et sur l'élimination de l'acide urique.

4-Catabolisme

La guanine qui provient soit de la dégradation du GMP, soit de la digestion des acides nucléiques alimentaires est transformée en xanthine, carrefour métabolique des bases puriques, par la guanine désaminase. De même, l'hypoxanthine est transformée en xanthine,

puis en acide urique sous l'action d'une seule enzyme: la xanthine oxydase. C'est le premier substrat qui s'engage réellement dans l'élimination des bases puriques.

L'adénine quant à elle, provient soit de la dégradation de l'AMP dans les cellules, soit de la digestion des acides nucléiques alimentaires, elle est métabolisée en hypoxanthine sous l'action de l'adénine désaminase, afin de poursuivre sa dégradation vers la synthèse d'acide urique.

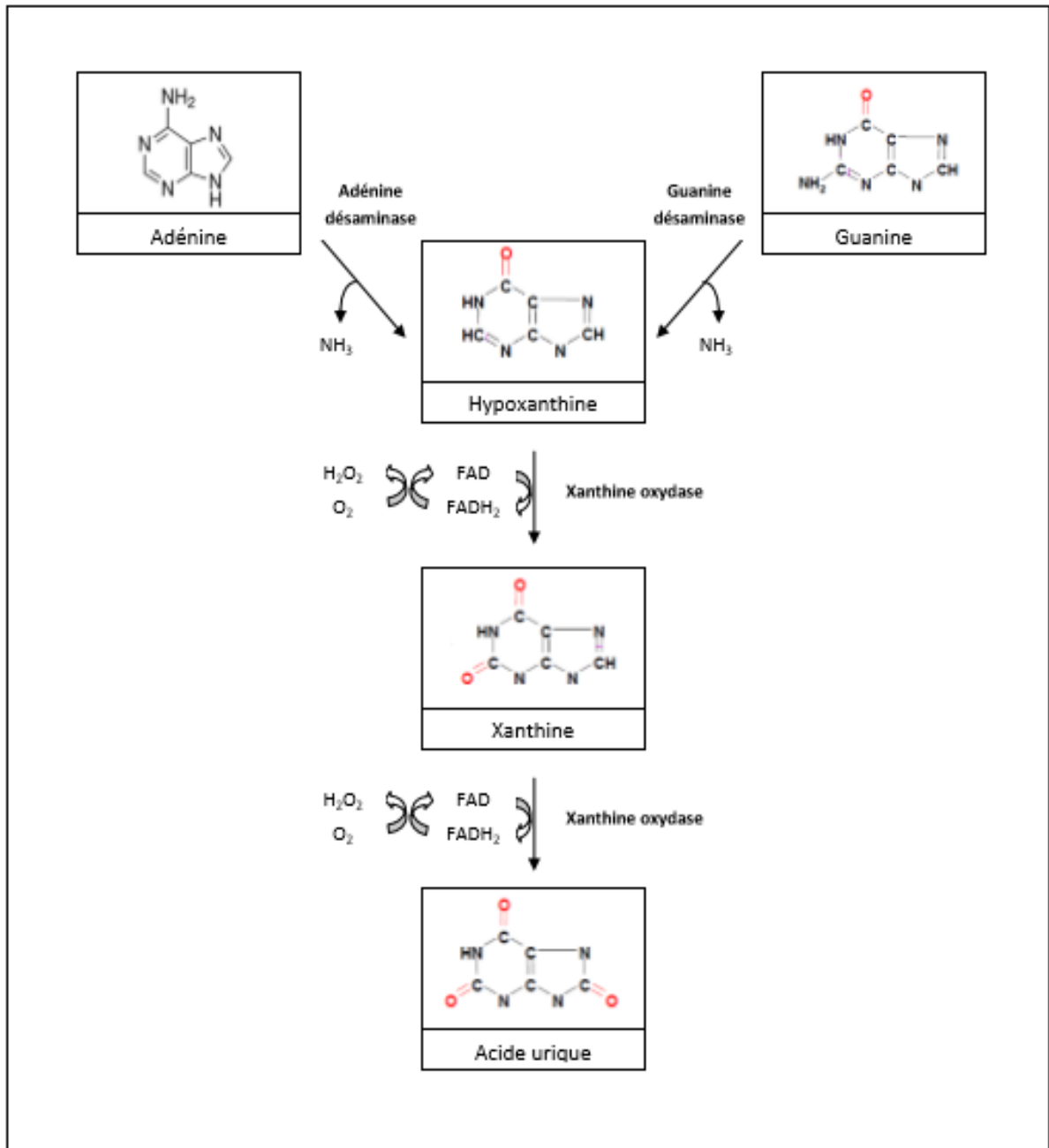


Figure 2 : Catabolisme des purines en acide uriques

La xanthine oxydase est la principale enzyme de la dégradation des bases puriques. Elle se présente sous deux isoformes: la forme réduite ou la forme oxydée. La forme réduite (xanthine déshydrogénase : EC 1.1.1.204) catalyse la déhydrogénation avec le NAD⁺ comme coenzyme. La forme oxydée, dimérisée (xanthine oxydase : EC 1.1.3.22) fonctionne avec l'oxygène et produit des peroxydes. *In vivo*, la forme réduite prédomine dans le foie alors que la forme oxydée prédomine dans les vaisseaux.

5-Métabolisme et Elimination

Dans le plasma, l'acide urique est plus largement présent à l'état libre, sous forme d'urate en raison du pH sanguin d'environ 7,40, très supérieur à la valeur du pKa de l'acide urique qui est de 5,75. Seule une faible proportion de l'acide urique est liée aux protéines plasmatiques telles que l'albumine, les LDL, les β 2-globulines, ...

Chez la majorité des mammifères, l'acide urique est transformé par une enzyme hépatique, l'uricase, en allantoïne qui est excrétée librement par le rein. Toutefois, deux mutations du gène de l'uricase sont survenues au cours de l'évolution et ont empêché que cette enzyme soit fonctionnelle chez l'Homme. Ainsi, les êtres humains et les autres primates ne peuvent pas métaboliser l'acide urique, stade terminal du catabolisme des purines.

Les êtres humains, déficients en uricase, ne peuvent pas métaboliser les urates, qui sont ainsi éliminés pour environ 70% par voie rénale et pour 30% par voie digestive via l'uricolyse intestinale réalisée par les bactéries intestinales.

5.1 Élimination urinaire

L'excrétion rénale constitue la principale voie d'élimination de l'acide urique. Dans les urines, l'acide urique existe sous deux formes, en proportions variables suivant le pH du milieu :

Ionisation de l'acide urique urinaire en fonction du pH

pH urinaire	Acide urique (%)	Urates (%)
7,4	5	95
6,0	20	80

La solubilité des urates dans les urines est supérieure à celle observée dans l'eau. Il existe donc dans les urines des substances qui favorisent cette solubilisation. La détermination

précise du taux d'urate dans les urines (uraturie) nécessite une alcalinisation des urines pour dissoudre d'éventuels cristaux d'acide urique formés au cours de la conservation des urines. Les urates sont soumis à une régulation rénale complexe qui fait intervenir quatre mécanismes: la filtration glomérulaire, la réabsorption tubulaire, la sécrétion tubulaire et la réabsorption tubulaire post sécrétoire. Les trois dernières étapes ont lieu dans le tube contourné proximal.

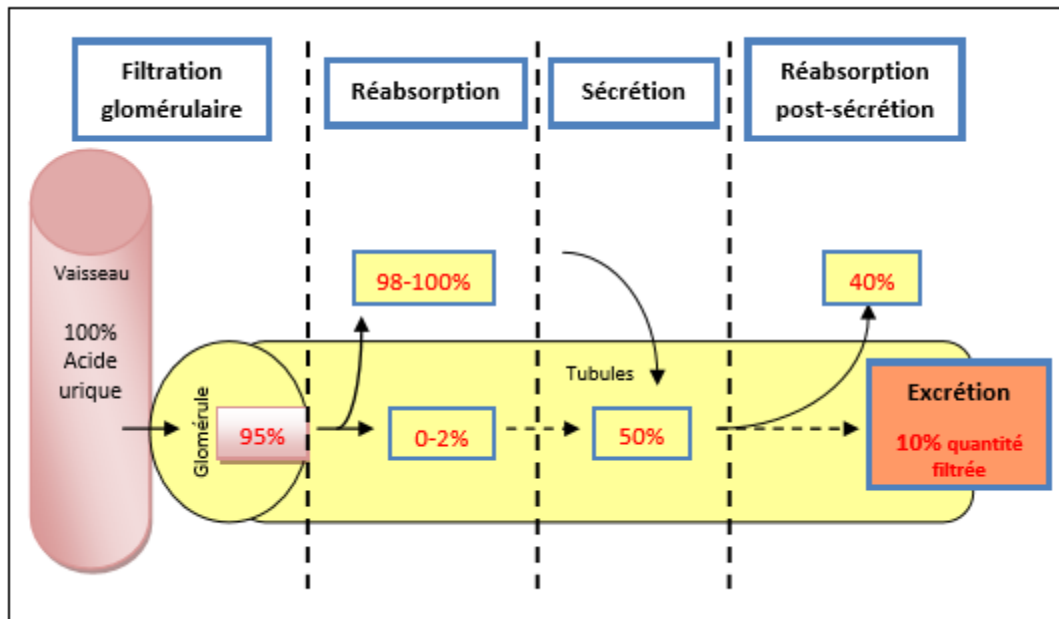
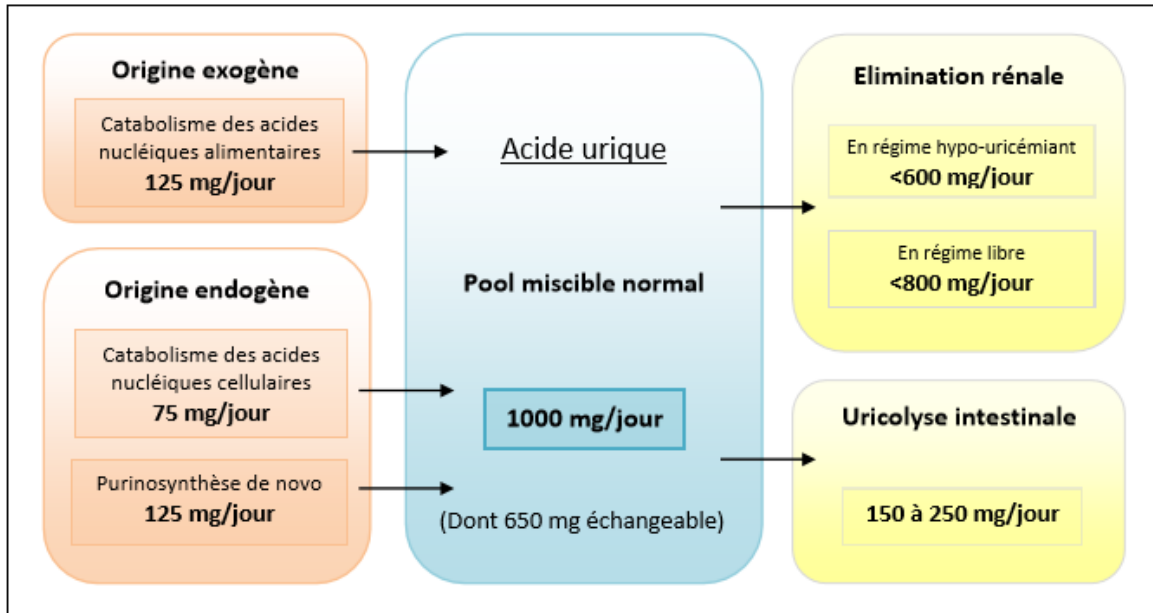


Figure3 : Elimination rénale de l'acide urique

5.2 Uricolyse

Hormis l'élimination par voie rénale, une partie de l'acide urique (20 à 25%) est catabolisée et éliminée par voie extra-rénale. L'uricolyse a lieu essentiellement au niveau intestinal. Elle est active sur l'acide urique déversé dans l'intestin par voie passive, par l'intermédiaire des sécrétions digestives (salivaires, biliaires, pancréatiques et intestinales). Dans des conditions normales, les bactéries intestinales, pourvues d'uricases, dégradent totalement l'acide urique en allantoiné, et même au-delà, en dioxyde de carbone et en ammoniac, éliminés ensuite dans les selles ou consommés pour leur propre métabolisme.

Une petite quantité d'allantoïne, provenant de la dégradation de l'acide urique par les uricases, peut être réabsorbée par la muqueuse intestinale expliquant l'allantoïnémie et l'allantoïnurie physiologique.



Les mouvements de l'acide urique dans l'organisme

6-Méthodes de dosage et de diagnostic

Actuellement, pour doser les urates il existe différentes méthodes de dosage, mais parmi elles, une méthode dite « définitive » par dilution isotopique spectrométrie de masse a été proposée. La Société Française de Biologie Clinique (SFBC) et l'American Association of Clinical Chemistry (AACC) ont recommandé deux autres techniques de dosages. Elles sont toutes les deux basées sur la diminution d'absorbance mesurée entre 280 et 290 nm après transformation des urates en allantoïne par l'uricase. Il existe aussi d'autres méthodes dites « usuelles », regroupant sous ce nom les méthodes chimiques, plus anciennes, et les méthodes enzymatiques, encore couramment utilisées. Chez le sujet normal, il y a assez peu de différences entre les résultats obtenus par les méthodes chimiques et les méthodes enzymatiques, contrairement au sujet insuffisant rénal.

7- Physiopathologie de l'acide urique

7.1- L'hypo-uricémie

Des mesures répétées permettent de différencier une hypo uricémie provisoire, survenant en général dans un contexte particulier, d'une hypo-uricémie chronique. Peu fréquente, l'hypo-uricémie est découverte en général de façon fortuite au cours d'un bilan biologique. Des manifestations cliniques peuvent être exceptionnellement présentes comme des lithiases urinaires ou des insuffisances rénales aiguës secondaires à la conjonction de l'hypo-uricémie profonde et d'un stress oxydatif.

Les hypo-uricémies relèvent de deux mécanismes physiopathologiques distincts mais non exclusifs :

- une diminution de formation de l'acide urique due à un défaut primaire ou secondaire de l'activité de la xanthine oxydase ;
- une augmentation de la clairance rénale de l'acide urique.

7.2- L'hyper-uricémie

Les hyperuricémies découlent soit d'un excès de production, soit d'un défaut d'élimination rénale, soit de l'association de ces deux phénomènes. Elles sont d'origine primaire (atteintes primaires du métabolisme des purines ou de l'élimination urinaire de l'acide urique) ou d'origine secondaire (suite l'alimentation, à l'administration de xénobiotiques ou suite à des pathologies ayant des conséquences sur le métabolisme de l'acide urique).

- La goutte

La goutte est une maladie rhumatismale inflammatoire résultant d'un dépôt d'acide urique dans les articulations et les tissus environnants. Des taux durablement élevés d'acide urique dans le sang provoquent la goutte. Une crise de goutte arrive généralement de façon soudaine et inattendue – souvent durant le sommeil – et se caractérise par de fortes douleurs et une inflammation des articulations atteintes (fréquemment la base du gros orteil). Des cristaux peuvent aussi se former dans les tissus à l'extérieur des articulations, ce qui engendre également une inflammation douloureuse.