

Association des enseignants de biochimie et
biologie moléculaire des facultés de pharmacie

EXPLORATIONS EN BIOCHIMIE MÉDICALE : CAS CLINIQUES

Interprétations et orientations diagnostiques

Tome 2

Coordonné par

Dominique Bonnefont-Rousselot
Laurent Bermont
Édith Bigot-Corbel

L*avoisier*
Médecine
SCIENCES

Stéatose hépatique non alcoolique (NASH-NAFLD)

Mehdi Sakka, Dominique Bonnefont-Rousselot

Monsieur T.G., 62 ans, consulte son médecin traitant dans le cadre de son suivi de maladie coronaire. L'examen clinique retrouve un poids de 127 kg pour 1,73 m soit un IMC à 42,4 kg/m². Ses antécédents médicaux sont une bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), une hypertension artérielle, une hypercholestérolémie et une angioplastie sur coronaropathie ischémique à 60 ans. Il ne consomme pas d'alcool et fume 2 paquets de cigarettes par jour.

Question 1 Quels sont les facteurs de risque cardiovasculaire (CV) chez ce patient ? Quels autres facteurs de risque CV doivent être recherchés ?

Ce patient présente comme facteurs de risque cardiovasculaire, l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie, l'obésité (IMC > 30 kg/m²) et le tabagisme actif. L'interrogatoire doit s'efforcer de connaître les antécédents familiaux de maladies cardiovasculaires.

Il faut rechercher un diabète par le dosage de la glycémie à jeun. Au moins deux dosages distincts de glycémie (après jeûne de huit heures) doivent être supérieurs à 1,26 g/L (7,0 mmol/L) pour le diagnostic de diabète. L'hyperglycémie modérée à jeun, ou état de pré-diabète, est évoquée en cas de glycémie à jeun comprise entre 1,10 g/L (6,0 mmol/L) et 1,26 g/L (7,0 mmol/L).

L'hypercholestérolémie doit être documentée, avec une exploration d'une anomalie lipidique (EAL) qui doit être réalisée sur un prélèvement après douze heures de jeûne et qui comprend l'aspect du sérum, le dosage du cholestérol, des triglycérides, du cholestérol-HDL et le calcul ou la mesure du cholestérol-LDL.

L'index *Systematic Coronary Risk Estimation* (SCORE) peut être utilisé pour calculer le risque à 10 ans de décès par maladie cardiovasculaire (Société européenne de

Cardiologie, 2019). Il est basé sur la cholestérolémie, la pression artérielle systolique, le tabagisme et le sexe. Il ne s'applique pas si le patient est diabétique, cas où le patient est d'emblée considéré comme à risque élevé.

Question 2 Deux glycémies à jeun et un bilan lipidique (réalisé après 12 h de jeûne) sont effectués, dont les résultats figurent ci-dessous. Le patient présente-t-il un syndrome métabolique ?

PI- 1 ^{re} glycémie	6,4 mmol/L
PI- 2 ^e glycémie	6,7 mmol/L
Aspect du sérum	Opalescent
Se- Triglycérides	2,25 mmol/L
Se- Cholestérol total	6,73 mmol/L
Se- Cholestérol- HDL	1,11 mmol/L
Se- Cholestérol LDL	4,59 mmol/L

Le syndrome métabolique se définit par la présence d'au moins trois critères parmi : une obésité abdominale avec un tour de taille élevée (> 94 cm pour les hommes, et > 80 cm pour les femmes), une hypertension artérielle, une glycémie à jeun élevée (pré-diabète > 6,0 mmol/L ou diabète > 7,0 mmol/L), une augmentation de la triglycéridémie à jeun au-dessus de 1,7 mmol/L, une concentration basse de cholestérol-HDL < 1,0 mmol/L.

Dans le cas présent, le patient présente une obésité, une hypertension artérielle, une hyperglycémie, une hypertriglycéridémie associée à une valeur subnormale de cholestérol-HDL, confirmant la présence d'un syndrome métabolique.

Question 3 Le bilan biologique est complété par un bilan hépatique. Les résultats sont présentés dans le tableau I, associés aux résultats antérieurs. Que penser de ces résultats ?

Le bilan hépatique est perturbé avec une élévation modérée des transaminases traduisant une cytolysé hépatique modérée (de 2 à 3N) prédominant sur l'activité ALAT, en augmentation par rapport au bilan antérieur. Les activités γ GT et PAL sont également augmentées, pouvant traduire une cholestase. La bilirubine totale augmente aussi mais reste dans les valeurs usuelles.

Il faut donc rechercher une maladie chronique du foie. L'échographie est l'examen à réaliser en première intention, l'IRM hépatique est l'examen de référence mais plus coûteux et moins facilement disponible.

Tableau I. Résultat des bilans hépatiques de Monsieur T.G.

	Résultats du jour	Résultats antérieurs de 6 mois
PI- Bilirubine totale	13 μ mol/L	6 μ mol/L
PI- ASAT	80 UI/L	40 UI/L
PI- ALAT	123 UI/L	79 UI/L
PI- γ GT	128 UI/L	56 UI/L
PI-PAL	116 UI/L	88 UI/L

Question 4 Une échographie hépatique est réalisée, elle montre une stéatose hépatique. Quels examens complémentaires à visée étiologique peuvent être demandés ?

Le diagnostic suspecté est celui de stéatopathie hépatique, aussi appelée *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD). Les arguments en faveur de ce diagnostic sont : l'aspect de stéatose à l'imagerie, l'élévation des transaminases qui prédomine sur l'ALAT et la présence d'un syndrome métabolique. Une hyperferritinémie peut être aussi recherchée.

Cependant, la cholestase dans le cas de Monsieur T.G. n'est pas en faveur de la stéatopathie métabolique. Il est donc important d'éliminer toutes les autres causes d'hépatopathies chroniques provoquant une stéatose secondaire (Tableau II).

Tableau II. Étiologies de stéatoses hépatiques secondaires (d'après l'Association Française pour l'Étude du Foie [AFEF]).

Médicamenteuses	Corticostéroïdes, tamoxifène, inhibiteurs calciques, amiodarone, œstrogènes, tétracyclines, antirétroviraux VIH
Chirurgicales	By-pass
Nutritionnelles	Nutrition parentérale, jeûne prolongée, malnutrition protéique
Maladies génétiques ou métaboliques	Maladie de Wilson, hypo-bêta-lipoprotéïnémie, syndrome lipodystrophique, maladie de Weber-Christian, maladie de Wolman et maladie de stockage des esters de cholestérol (liées à un déficit en lipase acide lysosomale)

Question 5 Devant la stéatose hépatique, comment explorer la fibrose hépatique de manière invasive ? Faut-il réaliser cet examen dans ce cas ?

Le diagnostic de certitude de fibrose repose sur la ponction biopsie hépatique (PBH). Elle déterminera le degré de fibrose (F0 = absence de fibrose à F4 = cirrhose) qui est le facteur pronostique le plus important dans les maladies chroniques du foie. L'histologie confirmera aussi la stéatose hépatique, avec la présence de stéatose supérieure à 5 % dans les hépatocytes.

Cependant, le diagnostic de NAFLD peut être évoqué même en l'absence de ponction biopsie hépatique. La NAFLD touche 25 % de la population générale, elle est devenue la première cause de maladie chronique du foie. Elle se définit par une stéatose hépatique avec une absence de prise excessive d'alcool (< 30 g/jour chez l'homme et 20 g/jour chez la femme).

La *Non-Alcoholic SteatoHepatitis* (NASH) correspond à une NAFLD avec la présence d'inflammation et d'une ballonnisation des hépatocytes, lésion histologique spécifique. La ponction biopsie hépatique est un acte invasif avec un risque d'hémorragie, il nécessite de surveiller en hospitalisation le patient au moins une journée, et il est coûteux.

Question 6 Une méthode non invasive est finalement utilisée. De quelles méthodes non invasives dispose-t-on ?

Deux types de marqueurs non invasifs d'évaluation de la fibrose hépatique sont utilisés : l'imagerie et la biologie. L'imagerie la plus sensible pour l'appréciation de la fibrose est l'élastographie impulsionnelle avec le FibroScan®. Cet examen va mesurer la dureté du foie, mesurée en kPa. L'opérateur doit réaliser au moins 10 acquisitions car le foie peut être hétérogène. Une médiane supérieure à 9,5 kPa est en faveur d'une hépatopathie chronique.

Les marqueurs biologiques permettent d'avoir une appréciation globale de l'état du foie. Ils ont été validés dans de grandes séries de patients et comparés par rapport à la fibrose objectivée à l'histologie de la PBH.

Plusieurs stratégies ont été développées, certains marqueurs utilisent des dosages complexes Enhanced Liver Fibrosis® (ELF), témoins directs du processus de fibrose, d'autres sont des marqueurs indirects. Parmi ceux-là, les plus utilisés vont de combinaisons de marqueurs simples (FIB-4) jusqu'à des combinaisons plus complexes, brevetées (Fibrotest®, Fibromètre®). Ils sont détaillés dans le tableau III (liste non exhaustive).

Ils permettent d'établir un suivi annuel et simple de l'évolution de la pathologie sans devoir réaliser des biopsies. Une combinaison des marqueurs biologiques et de l'imagerie permet d'avoir une meilleure appréciation de la fibrose.

Tableau III. Marqueurs non invasifs de fibrose hépatique.

Nom du test	Marqueurs contenus dans le test
Fibrosis 4 calculator (FIB-4)	Âge, plaquettes, ASAT, ALAT
NAFLD Fibrosis Score (NFS)	Âge, taille, poids, diabète (oui/non), ASAT, ALAT, plaquettes, albumine
Fibrotest®	Âge, sexe, taille, poids, γ GT, haptoglobine, apolipoprotéine A1, bilirubine totale, alpha-2-macroglobuline
Fibromètre®	Âge, sexe, ASAT, ALAT, urée, taux de prothrombine, plaquettes, acide hyaluronique, alpha-2-macroglobuline
Enhanced Liver Fibrosis® (ELF)	Inhibiteur 1 de la métallopeptidase (TIMP-1), propeptide N terminal du procollagène de type III (PIIINP), acide hyaluronique

Question 7 Les investigations confirment le diagnostic de NAFLD. Quel traitement de première intention est à préconiser pour Monsieur T.G. ?

La NAFLD est fortement associée à un mode de vie sédentaire, avec une alimentation riche en calories,

déséquilibrée, riche en matières grasses et en fructose. Le traitement de première intention est la correction de ces habitudes de vie. Une activité physique d'au moins 30 minutes par jour à un rythme soutenu (marche rapide par exemple) réduit la mortalité globale, la fibrose et la stéatose. La restriction calorique et la perte de poids permettent de réduire la stéatose hépatique. L'arrêt de consommation des boissons riches en fructose permet de stopper la stimulation de la lipogenèse et contribue donc à une diminution de la masse graisseuse.

Les patients présentant une NASH doivent suivre un traitement médicamenteux. Cependant, aucun médicament n'a montré une efficacité indiscutable dans la régression de la fibrose ou de la réduction de la mortalité. Un traitement par chirurgie bariatrique pour les patients présentant un IMC élevé peut être proposé. Cela permettrait une régression de la NASH et une amélioration de la fibrose.

Le clinicien perd son patient de vue pendant 2 ans. Monsieur T.G. a néanmoins eu un suivi cardiovasculaire très rapproché, ce qui lui a permis d'arrêter de fumer, d'être traité par statines pour sa dyslipidémie et par un antihypertenseur. Son poids est resté stable. Le clinicien lui prescrit un dosage d'alpha-fœtoprotéine (AFP), qui est à 40 ng/mL (valeurs usuelles < 13 ng/mL).

Question 8 Quel diagnostic évoquer ?

Un carcinome hépatocellulaire (CHC) doit être évoqué devant l'augmentation de l'AFP sur une hépatopathie chronique. Une imagerie permettra d'étayer le diagnostic.

Chez les patients diabétiques, l'incidence de CHC est plus élevée. La NAFLD est aussi un facteur de risque de CHC qui peut se développer sur un foie pré-cirrhotique. La NAFLD est une indication fréquente de transplantation pour CHC. Le CHC représente, avec les causes cardiovasculaires, la principale cause de décès chez les patients avec une NAFLD.

Sclérose en plaques

Édith Bigot-Corbel

Madame M., 35 ans, est responsable administrative dans un laboratoire de recherche. Elle est mariée et a deux filles de 8 et 5 ans. Elle présente comme antécédents personnels un diabète gestationnel et comme antécédent familial une sclérose en plaques (SEP) chez son frère aîné. Elle ressent en août 2018 des paresthésies au niveau de la main gauche avec une extension progressive sous forme de paresthésies diffuses mal systématisées des deux membres supérieurs. Ces paresthésies durent jusqu'en octobre 2018, date à laquelle une IRM cervicale et médullaire est réalisée, qui montre un hypersignal du cervelet (C7).

En mars 2019, une seconde IRM encéphalique est réalisée, dont l'aspect est en faveur d'une pathologie inflammatoire démyélinisante du système nerveux central (SNC), avec une dissémination temporelle (DIT+) et spatiale (DIS+). Un bilan sanguin et une ponction lombaire (PL) sont également réalisés :

PI- Sodium	139 mmol/L
PI- Potassium	3,9 mmol/L
PI- Glucose	5,2 mmol/L
PI- Calcium	2,26 mmol/L
PI- Urée	3,4 mmol/L
PI- Créatinine	68 µmol/L
DFG (CKD-EPI)	100 mL/min/1,73m ²
PI- Protéines totales	70 g/L
Électrophorèse des protéines sériques	Profil normal
PI- CRP	< 5 mg/L

Se- Albumine	38,7 g/L
Se- Immunoglobulines G	12,1 g/L
Se- Immunoglobulines A	1,76 g/L
Se- Immunoglobulines M	0,60 g/L
Sg- Érythrocytes	4,83 T/L
Sg- Leucocytes	9,47 G/L
Sg- Hémoglobine	13,5 g/dL
Sg- Plaquettes	291 G/L
LCS- Éléments nucléés	< 5/mm ³
LCS- Protéines	0,39 g/L (VU : 0,25-0,45)
LCS- Glucose	3,5 mmol/L (VU : 2,6-4,1)
LCS- Lactate	1,80 mmol/L (VU : 1,10-2,40)
LCS- Albumine	0,19 g/L (VU : 0,10-0,20)
LCS- Immunoglobulines G	108 mg/L (VU : 20-40)
LCS-Immunoglobulines A	2,96 mg/L (VU : 0,8-2,7)
LCS- Immunoglobulines M	2,0 mg/L (VU : ≤ 0,50)
Quotient Albumine	$5 \cdot 10^{-3}$ (VU : ≤ $6,5 \cdot 10^{-3}$)
Index IgG	1,78 (VU : ≤ 0,65)
Isoélectrofocalisation et révélation des IgG :	
Sérum	Rien de particulier à signaler
LCS	Présence de nombreuses bandes oligoclonales d'IgG
Profil 2 (Figure 1)	Synthèse locale intrathécale d'IgG

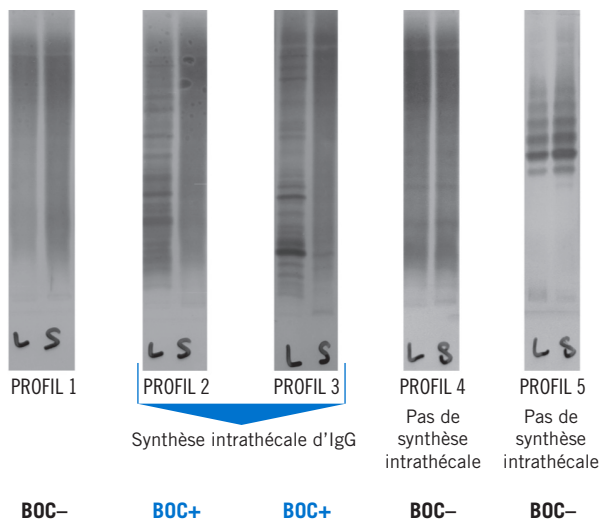


Figure 1. Les différents profils obtenus par isoélectrofocalisation et immunorévélation des IgG dans le sérum (S) et dans le LCS (L) de patients montrant l'absence (profils 1, 4 et 5) ou la présence (profils 2 et 3) de bandes oligoclonales (BOC) dans le LCS reflétant la synthèse intrathécale d'IgG et donc le processus auto-immun.

Les critères de Mac Donald (Tableau I) sont réunis. Le diagnostic de SEP est posé en juin 2019 et la patiente est mise sous Aubagio® (térfunomide) à partir du 1^{er} juillet 2019.

Tableau I. Critères de Mac Donald (2017) pour le diagnostic de SEP.

Présentation clinique	Données supplémentaires nécessaires au diagnostic de SEP
≥ 2 poussées cliniques Preuve clinique de ≥ 2 lésions	Aucune
≥ 2 poussées cliniques Preuve clinique d'une lésion	DIS démontrée par une nouvelle poussée clinique impliquant un autre territoire du SNC ou par IRM
1 poussée clinique Preuve clinique de ≥ 2 lésions	DIT démontrée par une nouvelle poussée clinique ou par IRM Ou BOC spécifiques dans le LCS
1 poussée clinique Preuve clinique d'une lésion	DIS démontrée par une nouvelle poussée clinique impliquant un autre territoire du SNC ou par IRM DIT démontrée par une nouvelle poussée clinique ou par IRM Ou BOC spécifiques dans le LCS

DIS = dissémination dans l'espace ; DIT = dissémination dans le temps ; BOC = bandes oligoclonales ; IRM = Imagerie par résonance magnétique ; LCS = Liquide cérébrospinal ; SNC = système nerveux central.

Question 1 Commenter les résultats du bilan réalisé.

Le bilan sanguin ne montre aucune anomalie, la CRP n'est pas augmentée puisque la réaction inflammatoire est localisée au niveau du système nerveux central (SNC).

L'analyse biologique courante du liquide cérébrospinal (LCS) comprend la protéinorachie, la glycorachie, la numération des éléments nucléés et la mesure du lactate. La protéinorachie est physiologiquement faible lorsque la barrière hémato-encéphalique (BHE) est intacte, car la concentration en protéines dans le LCS est 200 fois plus faible que dans le sérum. Une augmentation de la protéinorachie peut témoigner d'une réaction inflammatoire, d'une infection, d'une altération de la BHE avec un passage actif des protéines au niveau des plexus choroïdes mais aussi d'une synthèse locale essentiellement lymphoplasmocytaire révélant une réaction dysimmunitaire. La protéinorachie seule est peu informative, manquant à la fois de sensibilité et de spécificité. La cytologie du LCS, si elle est normale (< 10 cellules/mm³), permet généralement d'exclure une infection. Elle permet également de mettre en évidence une éventuelle dissociation protéino-cytologique. La glycorachie est physiologiquement comprise entre 50 et 75 % de la valeur de glycémie. La glycorachie est diminuée en cas d'infection essentiellement bactérienne mais aussi en cas d'hyper-cellularité dans le LCS. Le dosage du lactate dans le LCS traduit la réponse inflammatoire des cellules immunocompétentes, et la valeur de 3,9 mmol/L est le seuil admis pour une infection bactérienne [1]. Pour cette patiente les résultats sont parfaitement normaux.

Des analyses plus spécialisées comprenant l'albuminorachie, la détermination du quotient albumine (albumine LCS/albumine sérum), le dosage des IgG, la détermination de l'index IgG (quotient IgG/quotient albumine) et la recherche de bandes oligoclonales d'IgG sont réalisés lors d'une suspicion de SEP ou d'exploration des pathologies neuro-inflammatoires.

Comme dans le sérum, l'albumine du LCS représente la protéine la plus importante quantitativement. Son origine est exclusivement sanguine par diffusion et elle constitue un excellent marqueur de l'état de la BHE. En cas d'atteinte de la BHE, il va être observé une transsudation et une augmentation de l'albuminorachie ainsi que du quotient albumine. Ici encore pour la patiente le quotient albumine est normal, ce qui exclut une altération de la BHE.

L'étude des IgG du LCS est intéressante dans les pathologies neurologiques inflammatoires et dans les pathologies dysimmunitaires, ce qui est le cas de Madame M. Dans celles-ci, il peut être observé une anomalie quantitative avec une potentielle augmentation des IgG mais surtout

une augmentation de l'index IgG, et/ou une anomalie qualitative caractérisée par la présence de bandes oligoclonales d'IgG présentes uniquement dans le LCS. On retrouve chez Madame M. une augmentation des IgG dans le LCS, ce qui entraîne un index IgG pathologique et la présence de bandes oligoclonales (BOC) d'IgG dans le LCS (voir figure 1) permettant de classer la patiente en profil 2 correspondant à une synthèse locale intrathécale d'IgG, reflet de l'atteinte auto-immune du SNC présente dans la SEP.

Question 2 Quels sont les critères de Mac Donald permettant de poser le diagnostic de SEP ?

Le diagnostic de SEP est fondé sur un faisceau d'arguments combinant des critères cliniques, radiologiques et biologiques, qui vont permettre la démonstration de la dissémination dans l'espace et dans le temps. Il repose sur la mise en évidence par IRM :

- d'une inflammation dans des zones différentes du cerveau et/ou de la moelle épinière correspondant à la dissémination dans l'espace ;
- d'une inflammation du cerveau et/ou de la moelle épinière à des moments différents correspondant à la dissémination dans le temps ;
- d'une inflammation confinée au cerveau et/ou à la moelle épinière.

L'analyse du LCS prélevé par ponction lombaire est effectuée si l'examen clinique et l'IRM ne permettent pas de poser clairement le diagnostic. Cette analyse du LCS permettra d'éliminer les diagnostics différentiels (voir tableau I).

Question 3 Quel est le mécanisme physiopathologique dans la SEP ?

La SEP est une maladie auto-immune qui affecte le système nerveux central (SNC). La gaine de myéline sert à isoler et à protéger les fibres nerveuses. Elle joue aussi un rôle d'accélérateur de la vitesse de propagation de l'influx nerveux transportant l'information le long de l'axone. Deux types de cellules fabriquent la myéline : les cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique et les oligodendrocytes dans le SNC. Les mécanismes auto-immuns mis en jeu dans la SEP attaquent la gaine de myéline qui entoure les axones dans le système nerveux central. Ce phénomène entraîne des lésions dispersées dans le système nerveux central, appelées plaques. Ces lésions sont le siège d'une inflammation, d'une démyélinisation et, souvent, d'une dégénérescence axonale et elles provoquent des perturbations motrices, sensitives, cognitives,

visuelles ou encore sphinctériennes. À plus ou moins long terme, ces troubles peuvent progresser vers un handicap irréversible.

La SEP représente la première cause de handicap sévère non traumatique chez les jeunes adultes. L'âge moyen de début des symptômes est en effet de 30 ans. La maladie touche davantage de femmes, avec un sex-ratio de 1 homme pour 3 femmes environ pour sa forme la plus fréquente. Environ 110 000 personnes sont touchées en France (environ 150 cas pour 100 000 habitants), avec 4 000 à 6 000 nouveaux cas par an.

La répartition de la maladie à travers le monde n'est pas uniforme : il existe un gradient de latitude Nord-Sud dans l'hémisphère Nord, et un gradient Sud-Nord dans l'hémisphère Sud, c'est-à-dire que la maladie est plus fréquente lorsqu'on s'éloigne de l'équateur.

Question 4 Quelles sont les différentes formes de SEP ?

La SEP est une maladie extrêmement hétérogène d'un patient à l'autre, tant dans l'expression des symptômes que dans le mode évolutif.

Les symptômes peuvent être isolés ou associés et varient d'une personne à l'autre mais aussi au cours de la vie chez une même personne. Ils dépendent de la zone du cerveau ou de la moelle épinière ou des nerfs optiques touchés par les lésions et où se produit l'attaque inflammatoire. Ce sont :

- troubles moteurs liés à une faiblesse musculaire qui peuvent toucher les membres supérieurs et/ou inférieurs, réduisant alors les possibilités de marche ;
- troubles de la sensibilité : engourdissement, fourmillements, picotements, impression de froid, impression de ruissellement sur la peau, sensation d'étau, douleurs... au niveau des membres supérieurs ou inférieurs, du thorax, d'une partie du visage, du ventre ;
- symptômes visuels : vision double (diplopie) ou baisse d'acuité visuelle accompagnée ou non de douleur orbitale, névrite optique rétrobulbaire (NORB) ;
- troubles de l'équilibre et de la coordination ou de vertiges ;
- troubles de la parole, troubles de la déglutition ;
- troubles vésico-sphinctériens ;
- troubles sexuels ;
- troubles cognitifs, avec difficultés d'attention, de concentration, de mémoire, ralentissement.

Par ailleurs, il existe deux modes évolutifs de la maladie :

- la forme rémittente est la plus fréquente. Elle représente 85 % des cas au début de la maladie. Son

évolution se fait sous forme de poussées, avec l'apparition de symptômes en quelques heures ou en quelques jours, souvent associés à une fatigue extrême et inhabituelle évocatrice du diagnostic et dure environ 2 à 6 semaines, puis les symptômes disparaissent totalement ou partiellement en quelques semaines. Ces périodes de rémissions sont plus ou moins longues. Les premières années, la récupération après chaque poussée est le plus souvent complète. Pour considérer deux poussées comme distinctes, elles doivent être séparées d'au moins 1 mois. Après plusieurs années d'évolution, les poussées peuvent laisser des séquelles. Toutefois, le handicap n'est pas systématique et il peut varier aussi bien dans sa nature, son intensité que dans sa durée d'installation. Entre 5 à 20 ans après le début des symptômes, certains patients connaissent une aggravation du handicap de façon plus continue et sans poussée : c'est la forme secondairement progressive. Des études épidémiologiques récentes suggèrent que les traitements immunomodulateurs/suppresseurs de la maladie retardent la survenue de cette seconde phase progressive ;

- la forme progressive d'emblée ne représente que 15 % des cas. Elle survient le plus souvent après l'âge de 40 ans et touche autant les femmes que les hommes. Elle correspond à une aggravation lente et continue des symptômes neurologiques, sans poussées ni rémission.

Question 5 Le frère de la patiente présentant également une SEP, elle s'interroge sur le caractère « héréditaire » de cette pathologie. Que peut-on lui répondre ?

La SEP n'est pas une maladie héréditaire. C'est une affection dont l'origine est multifactorielle, liée à l'interaction de facteurs environnementaux aujourd'hui inconnus et d'une prédisposition génétique. Cette dernière peut se définir comme une combinaison de gènes ; aujourd'hui 233 variants génétiques ont été identifiés, qui confèrent un plus grand risque de développer la maladie. On considère que cette prédisposition génétique n'est pas suffisante à elle seule pour que la maladie apparaisse, mais qu'elle constitue un terrain favorable à son développement. Il est à noter que la majorité des variants génétiques identifiés sont associés à des gènes dit « immunitaires » c'est-à-dire impliqués dans l'inflammation. Par ailleurs, les études épidémiologiques n'ont pas permis d'identifier de façon certaine de facteur environnemental responsable du déclenchement de la maladie.

Question 6 Faut-il réaliser des examens biologiques complémentaires sur le LCS ou le sérum de cette patiente ?

Madame M. présente une forme assez typique de SEP, sans atteinte optique. Il n'apparaît donc pas nécessaire de réaliser des examens biologiques complémentaires.

Le diagnostic différentiel peut dans certains cas se poser avec la neuromyéélite optique (NMO). Il s'agit d'une inflammation démyélinisante qui affecte sélectivement le nerf optique. Dans le cas où un diagnostic différentiel SEP/NMO doit être posé, il est intéressant de doser les anticorps anti-aquaporine-4 (anti-AQP4) dans le sérum et dans le cas de diagnostic différentiel entre la SEP et d'autres affections démyélinisantes inflammatoires telles que les encéphalomyérites aiguës disséminées, les névrites optiques idiopathiques, les myélites idiopathiques, les SEP atypiques ou chez l'enfant. Le dosage des anticorps anti-Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein (anti-MOG) dans le sérum et/ou dans le LCS doit être réalisé, la spécificité de ces anticorps étant très importante et facilitant le diagnostic.

Question 7 Commenter la prise en charge médicamenteuse de Madame M.

Les traitements de première ligne peuvent être injectables (comme l'interféron β et l'acétate de glatiramère) ou administrés par voie orale (comme le diméthyl fumarate et le tériflunomide). Ils ont une action essentiellement immunomodulatrice, peu ou pas immunosuppressive. Ils diminuent de 30 à 50 % la fréquence des poussées et réduisent l'apparition de nouvelles lésions visibles à l'IRM.

Le tériflunomide est un agent immunomodulateur aux propriétés anti-inflammatoires qui inhibe de manière sélective et réversible une enzyme mitochondriale nécessaire à la synthèse *de novo* de pyrimidine, la dihydroorotate déshydrogénase (DHO-DH). Par conséquent, le tériflunomide diminue la prolifération des cellules qui ont besoin de la synthèse *de novo* de pyrimidine pour se multiplier. Le mécanisme d'action exact du tériflunomide dans la SEP est encore mal connu et pourrait impliquer une réduction du nombre de lymphocytes activés. À noter que le tériflunomide est le métabolite actif prédominant du léflunomide, principe actif d'Arava[®], indiqué dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et du rhumatisme psoriasique. Il est administré par voie orale : 1 comprimé à 14 mg par jour.

Les autres traitements de fond de 1^{re} intention de la SEP-RR (sclérose en plaques récurrente-rémittente) sont les interférons bêta-1a (Avonex[®], Rebif[®]), les interférons bêta-1b (Betaferon[®], Extavia[®]) et l'acétate de glatiramère

(Copaxone®) dont l'administration est sous-cutanée ou intramusculaire à des rythmes variés (1 à 7 fois par semaine).

Les corticoïdes à forte dose sont proposés en cas de poussée, pour réduire la durée des symptômes.

En novembre 2019, un contrôle des IRM encéphalique et médullaire montre une augmentation de la charge lésionnelle et la présence de deux lésions cervicales non décrites sur l'IRM précédente, ce qui laisse supposer une absence d'efficacité de l'Aubagio®. La patiente est anxieuse et s'est renseignée sur les axes de recherche de traitements qui permettraient la remyélinisation.

Question 8 Si l'inefficacité thérapeutique se poursuit, quelles sont les alternatives thérapeutiques possibles ?

Les immunosuppresseurs sont des traitements de seconde ligne. Ils entraînent une déplétion en lymphocytes B et/ou T. Parmi eux, le fingolimod (Gilenya®) empêche la sortie des lymphocytes des organes lymphoïdes, l'ocrelizumab (Ocrevus®) inactive les lymphocytes B et le natalizumab (Tisabry®) bloque l'entrée des lymphocytes dans le SNC. Leur efficacité sur la réduction de la fréquence des poussées est supérieure à 50 %, avec un effet majeur sur la réduction de survenue des nouvelles lésions en IRM. Ces immunosuppresseurs comportent toutefois un risque d'effets secondaires, notamment infectieux, qui nécessite un bilan pré-thérapeutique puis une surveillance rapprochée.

Question 9 Existe-t-il un traitement qui permettrait la remyélinisation ?

Des approches fondées sur la remyélinisation et la neuroprotection sont en cours de développement. Après

une longue phase de recherche préclinique, ces stratégies complémentaires à l'immunomodulation et à l'immunosuppression se concrétisent avec quelques essais thérapeutiques réalisés depuis 2-3 ans.

La remyélinisation peut être stimulée par voie endogène ou exogène. Par voie endogène, il s'agit de favoriser la réparation spontanée de la myéline, qui est le plus souvent insuffisante. Les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans cette remyélinisation sont de mieux en mieux connus. Cette recherche fondamentale a conduit à l'identification de cibles thérapeutiques, puis à plusieurs essais thérapeutiques de phase 2. Parmi ceux-ci, le traitement par opicinumab (anticorps monoclonal dirigé contre la protéine LINGO-1, un inhibiteur de la remyélinisation) a montré un effet partiellement positif dans les atteintes démyélinisantes du nerf optique chez des personnes atteintes de SEP. Toutefois, il s'est révélé décevant sur le plan clinique car il n'a pas permis d'améliorer le niveau de handicap des patients. La clémastine (Tavist®) (inhibiteur de la voie des récepteurs muscariniques) a également montré un effet remyélinisant dans des atteintes chroniques démyélinisantes du nerf optique chez des patients souffrant d'une forme rémittente de SEP.

La remyélinisation par voie exogène correspond quant à elle à la greffe de cellules myélinisantes. Plus que par un effet direct, les cellules greffées agissent en sécrétant des facteurs nécessaires à la production endogène de myéline (on parle d'effet *bystander* ou effet non ciblé). Après les résultats encourageants obtenus dans des modèles animaux, un essai thérapeutique de phase précoce a été récemment réalisé et devrait se poursuivre par une étude de phase 2.

BIBLIOGRAPHIE

1. Sakushima K, Hayashino Y, Kawaguchi T, Jackson JL, Fukuhara S. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid lactate for differentiating bacterial meningitis from aseptic meningitis : a meta-analysis. *J Infect.* 2011;62(4) : 255-62.

Crise de goutte aiguë

Didier Borderie

Monsieur C., 64 ans, se présente aux urgences pour une douleur du gros orteil droit évoluant depuis la nuit dernière et décrite par le patient comme atroce, permanente et insomnante, exacerbée par le moindre contact. Ce patient pèse 85 kg pour 1,70 m. Il présente une hypertension artérielle traitée depuis 10 ans et un diabète de type 2 depuis 15 ans. L'examen général est normal excepté une tuméfaction de la première métatarso-phalangienne de l'hallux droit, très inflammatoire et très douloureuse à la mobilisation ; la pression artérielle est de 170/100 mmHg et la température est de 38 °C.

Le bilan biologique est le suivant :

Pl- Sodium	140 mmol/L
Pl- Potassium	4,5 mmol/L
Pl- Chlorure	98 mmol/L
Pl- Bicarbonate	25 mmol/L
Pl- Protéines totales	80 g/L
Pl- Créatinine	85 µmol/L
DFG (CKD-EPI)	83 mL/min/1,73m ²
Pl- Urée	6,9 mmol/L
Pl- Acide urique	405 µmol/L
Pl- Glucose	4,9 mmol/L
Se- CRP	55 mg/L

Analyse du liquide articulaire :

- état frais : présence de microcristaux longs en aiguilles et aux bouts pointus, biréfringents en lumière polarisée, libres ou inclus dans les polynucléaires neutrophiles ;
- 10 000 cellules/mm³, dont 90 % de polynucléaires neutrophiles ;
- culture bactériologique négative.

Question 1 Commenter le bilan biologique.

Le bilan biologique est normal en dehors d'une CRP augmentée reflétant un syndrome inflammatoire probablement lié à la monoarthrite métatarso-phalangienne.

Liquide articulaire : liquide inflammatoire (présence de 10 000 cellules/mm³). Présence de cristaux d'urate de sodium caractéristiques en forme d'aiguilles. Ces cristaux examinés en lumière polarisée compensée sont jaunes si alignés à l'axe du polarisateur et bleus si orientés perpendiculairement au polarisateur.

Question 2 Quel est le diagnostic le plus probable ?

Le patient présente une crise de goutte aiguë.

Signes cliniques évocateurs :

- sexe masculin ;
- atteinte monoarticulaire du pied, en particulier de la métatarso-phalangienne du premier rayon ;
- début brutal (atteinte maximale en moins de 24 heures) ;
- rougeur ;
- douleur ;
- gonflement ;
- présence d'une hypertension.

Diagnostic de certitude : présence de cristaux d'urate de sodium dans le liquide articulaire.

Diagnostic différentiel avec la chondrocalcinose : le diagnostic se fait facilement par l'examen radiographique qui montre, dans le cas de la chondrocalcinose, des infiltrations calciques du cartilage et par l'examen du liquide synovial qui met en évidence des cristaux de pyrophosphate de calcium, courts, à bouts carrés et peu

biréfringents en lumière polarisée. De même, la localisation des calcifications survient exceptionnellement au niveau du pied dans le cas de la chondrocalcinose mais préférentiellement au niveau du genou.

Question 3 Comment interpréter l'uricémie ?

L'uricémie est un marqueur ni sensible ni spécifique. Lors d'une crise de goutte, l'uricémie peut être proche des valeurs usuelles dans 50 % des cas. Le meilleur moment pour doser l'uricémie est à distance des crises, entre 14 et 20 jours après. Le diagnostic définitif et certain de la goutte ne peut pas être porté uniquement sur une hyperuricémie isolée. Il est toujours fondé sur la mise en évidence des cristaux d'urate de sodium dans le liquide articulaire. La recherche des cristaux d'urate doit être effectuée chez tout patient souffrant d'arthrite, en particulier de rhumatisme inflammatoire non classé.

Question 4 Quelles sont les propriétés physicochimiques de l'acide urique ?

Au pH plasmatique, avec un pKa à 5,7, l'acide urique est majoritairement sous forme d'urate (20 fois plus que la forme acide). Il est soluble jusqu'à 420 $\mu\text{mol/L}$ dans les liquides biologiques et cristallise sous forme d'urate de sodium si le seuil de solubilité est dépassé.

Question 5 Quelle sera la prise en charge thérapeutique de cette crise aiguë ?

Traitement non médicamenteux : immobilisation associée au glaçage de l'articulation (10-15 minutes, 3 fois par jour). Il permet de diminuer la durée de la crise.

Traitement médicamenteux : en l'absence de contre-indication (hypersensibilité, insuffisance rénale et/ou hépatique sévère), le traitement de première intention de la crise sera la colchicine administrée entre la 12^e et la 36^e heure après le début de la crise à la posologie de 1 mg, 1 à 2 fois par jour de J1 à J3 puis 1 mg/jour les jours suivants jusqu'à résolution de la crise. La durée du traitement est limitée à une période de 4 à 10 jours. La résolution de la crise sous colchicine permet d'ailleurs de faire le diagnostic des cas non classiques.

En cas de contre-indication à la colchicine, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les corticoïdes par voie systémique (à la dose de 30 à 35 mg équivalents de prednisolone) ou les antagonistes de l'IL-1 peuvent être utilisés.

Question 6 Faut-il instaurer un traitement de fond chez ce patient ?

L'EULAR (*European League Against Rheumatism*) en 2016 a recommandé d'instaurer un traitement hypo-uricémiant dès la première crise de goutte, en particulier chez les patients ayant des comorbidités. Monsieur C. entre dans cette catégorie car il est hypertendu depuis 10 ans. Le traitement de première intention est l'allopurinol (Zyloric®), inhibiteur non spécifique de la xanthine oxydase. L'instauration se fera à distance de la crise et à posologie progressive du fait du risque de toxidermie grave : posologie initiale de 100 mg/j, augmentation progressive tous les 1 à 2 mois jusqu'à la dose permettant d'atteindre une uricémie < 360 $\mu\text{mol/L}$. La colchicine à faible dose (0,5 à 1 mg/j) sera associée afin d'éviter le déclenchement d'une crise de goutte.

En dehors du traitement hypo-uricémiant, il est important de considérer la prise en charge de la goutte dans sa globalité, en particulier ne pas oublier de dépister et traiter toutes les comorbidités associées, de modifier les traitements antihypertenseurs en substituant les antihypertenseurs hyperuricémiques (diurétiques de l'anse et thiazidiques) et de donner des conseils hygiéno-diététiques pour favoriser la perte de poids et les activités physiques.

Quatre mois plus tard, Monsieur C. consulte son médecin généraliste pour une infection broncho-pulmonaire. Devant un antécédent d'allergie à la pénicilline, ce dernier lui prescrit de la clarithromycine 2 g/j et un antitussif. Deux jours plus tard, le patient présente d'importantes diarrhées associées à des nausées et vomissements.

Question 7 Quelle est l'origine de ce tableau clinique ? Quelle prise en charge doit être proposée ?

Contexte d'instauration d'une antibiothérapie par clarithromycine chez Monsieur C. traité depuis quelques mois par allopurinol + colchicine.

L'association colchicine + clarithromycine est contre-indiquée : inhibition du CYP3A4 et de la P-glycoprotéine (P-gp ou MDR1 ou ABCB1) par la clarithromycine. L'association est contre-indiquée avec tous les macrolides. Il s'ensuit une augmentation des concentrations de colchicine (augmentation de l'absorption intestinale et diminution du métabolisme hépatique), d'où un surdosage en colchicine (médicament à marge thérapeutique étroite). Les diarrhées importantes associées à des nausées/vomissements sont des signes caractéristiques d'intoxication à la colchicine. Il est nécessaire d'arrêter les traitements et de consulter en urgence.

La biochimie médicale, composante essentielle de la biologie médicale, est une spécialité exercée conjointement par des médecins et des pharmaciens biologistes. Elle joue un rôle de plus en plus important dans le dépistage, le diagnostic, la surveillance et le traitement des pathologies, ainsi que dans la biologie de la reproduction, l'assistance à la procréation, le diagnostic prénatal et post-natal des maladies rares, la thérapie cellulaire et la thérapie génique. On estime actuellement que 60 à 70 % des diagnostics médicaux reposent sur l'exécution et l'interprétation des examens de laboratoire.

Le **tome 2** des *Explorations en biochimie médicale : cas cliniques* présente, au travers de 61 situations cliniques et biologiques concrètes, la mise en application des connaissances théoriques des examens de laboratoire. Le lecteur suit pas à pas le développement et la structuration du raisonnement biologique. L'ouvrage offre ainsi de nombreux exemples de cas, simples ou plus complexes et toujours pertinents, dans lesquels les examens de biochimie médicale vont contribuer à poser un diagnostic, suivre une pathologie ou la thérapeutique mise en place et permettre, grâce au dialogue clinico-biologique, la prise en charge optimale du patient.

Cet ouvrage s'adresse aux étudiants en biologie médicale, médecine, pharmacie, école de sage-femme, d'infirmier(ère) ou de technicien(ne) de laboratoire, et sera également très utile aux enseignants de biochimie et de biologie clinique et à l'ensemble des professionnels en exercice, qu'ils soient biologistes ou cliniciens.

Sous l'égide de l'AE2BM, **Dominique Bonnefont-Rousselot**, **Laurent Bermont** et **Édith Bigot-Corbel**, tous trois pharmaciens biochimistes et praticiens hospitalo-universitaires respectivement à la faculté de Paris, de Besançon et de Nantes, ont coordonné le travail de 46 auteurs, la plupart enseignants-chercheurs engagés dans la formation universitaire en biochimie clinique ou praticiens biochimistes hospitalo-universitaires ou hospitaliers.

*Tout comme le tome 1, le présent ouvrage vient s'adosser au livre **Explorations en biochimie médicale : interprétations et orientations diagnostiques**, coordonné par Dominique Bonnefont-Rousselot, Jean-Louis Beaudeau et Philippe Charpiot : toutes les explorations à utiliser pour l'étude des grandes fonctions physiologiques et des pathologies qui y sont associées.*

