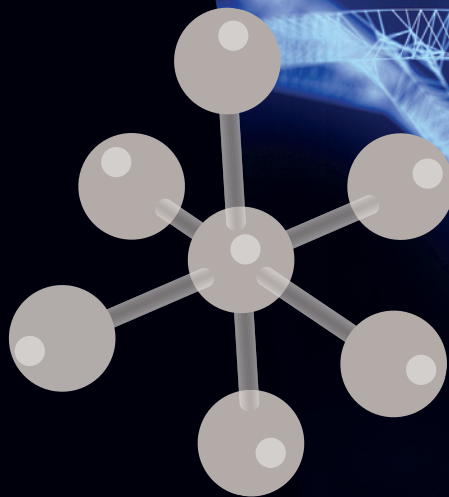


Bender | Botham
Kennelly | Rodwell | Weild

Biochimie de Harper

| Traduction de Lionel Domenjoud

| 6^e édition



Biochimie de Harper

ATKINS P.W. et JONES L., Principes de chimie, 4^e éd.
ATKINS P.W. et DE PAULA J., Chimie physique, 4^e éd.
DEPOVERE P., Chimie générale, 3^e éd.
DEPOVERE P., Chimie organique, 2^e éd.
MCQUARRIE D.A., GALLOGLY E.B., ROCK P.A., Chimie générale, 3^e éd.
MORGAN D.O., Le cycle cellulaire
MOUSSARD C., Biochimie structurale et métabolique, 3^e éd.
MOUSSARD C., Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires
PRATT C.W. et CORNELLY K., Biochimie
SILVERSTEIN R.M., WEBSTER F.X., KIEMLE D.J., Identification spectrométrique de composés organiques, 3^e éd.
VOET D., VOET J.G., Biochimie, 3^e éd.
VOLLHARDT K.P.C., SCHORE N.E., Traité de chimie organique, 6^e éd.

Bender | Botham | Kennelly | Rodwell | Weil

Biochimie de Harper

6^e édition

Traduction de la 30^e édition américaine
par Lionel Domenjoud

Ouvrage original :

Harper's Illustrated Biochemistry, Thirtieth Edition, V.W. Rodwell, D.A. Bender, K.M. Botham, P.J. Kennelly, P.A. Weil,
Copyright © 2015 by The McGraw-Hill Education. All rights reserved. French edition © 2017 by De Boeck Supérieur.
All rights reserved

**Pour toute information sur notre fonds et les nouveautés dans votre domaine
de spécialisation, consultez notre site web : www.deboecksuperieur.com**

© De Boeck Supérieur, 2017
Rue du Bosquet 7, B-1348 Louvain-la-Neuve
Pour la traduction française

Tous droits réservés pour tous pays.

Il est interdit, sauf accord préalable et écrit de l'éditeur, de reproduire (notamment par photocopie) partiellement ou totalement le présent ouvrage, de le stocker dans une banque de données ou de le communiquer au public, sous quelque forme et de quelque manière que ce soit.

Imprimé en Italie

Dépôt légal :
Bibliothèque nationale, Paris : septembre 2017
Bibliothèque royale Albert 1er, Bruxelles : 2017/13647/130

ISBN 978-2-8073-0724-7

Auteurs

Victor W. Rodwell, PhD

*Professeur Émérite de Biochimie
Purdue University
West Lafayette, Indiana*

David A. Bender, PhD

*Professeur (Émérite) de Biochimie Nutritionnelle
University College London
London, United Kingdom*

Kathleen M. Botham, PhD, DSc

*Professeur Émérite de Biochimie
Department of Comparative Biomedical Sciences
Royal Veterinary College
University of London
London, United Kingdom*

Peter J. Kennelly, PhD

*Professeur et Chef de
Département de Biochimie
Virginia Tech
Blacksburg, Virginia*

P. Anthony Weil, PhD

*Professeur
Département de Physiologie Moléculaire et de Biophysique
Vanderbilt University
Nashville, Tennessee*

Coauteurs

Peter L. Gross, MD, MSc, FRCP(C)

Associate Professor
Department of Medicine
McMaster University
Hamilton, Ontario, Canada

Molly Jacob, MBBS, MD, PhD

Professor and Chair
Department of Biochemistry
Christian Medical College
Vellore, Tamil Nadu, India

Peter A. Mayes, PhD, DSc

Emeritus Professor of Veterinary Biochemistry
Royal Veterinary College
University of London
London, United Kingdom

Robert K. Murray, MD, PhD

Emeritus Professor of Biochemistry
University of Toronto
Toronto, Ontario

Margaret L. Rand, PhD

Senior Associate Scientist
The Hospital for Sick Children
Toronto, and Professor
Department of Laboratory Medicine & Pathobiology
University of Toronto, Toronto, Canada

Joe Varghese, MBBS, MD, DNB

Associate Professor
Department of Biochemistry
Christian Medical College
Vellore, Tamil Nadu

Caractéristiques essentielles de la 30^e édition de la *Biochimie de Harper*

La meilleure référence individuelle pour comprendre l'implication médicale de chacun des thèmes de la biochimie

Les principales caractéristiques

- Une revue claire et succincte des bases de la biochimie que chaque étudiant doit comprendre pour réussir ses études de médecine
- Les cinquante-huit chapitres mettent tous l'accent sur l'importance médicale de la biochimie
- Une combinaison d'excellentes illustrations polychromes et d'une couverture intégrée des maladies biochimiques et des informations cliniques
- Cette présentation entièrement en couleurs comporte plus de 600 illustrations
- Chaque chapitre inclut une partie sur l'Importance Biomédicale et un résumé des sujets couverts
- Des questions de révision font suite à chacune des onze parties
- Des études de cas de patients dans chaque chapitre soulignent l'importance clinique de la biochimie
- Parmi les NOUVEAUTÉS couvertes :
 - la conception de médicaments assistée par ordinateur ; le rôle de la cascade du complément en cas d'infections bactériennes et virales ; les médiateurs sécrétés de la signalisation intercellulaire entre les leucocytes ; le rôle des mastocytes, des basophiles et des éosinophiles ; le danger des antioxydants qui affaiblissent la signalisation pro-apoptotique anti-radicalaire et augmentent le risque de cancer.
- Cet ouvrage a été salué par les étudiants en médecine pour son style captivant, son actualité et sa facilité de compréhension.

Mise en valeur par plus de
600 illustrations polychromes

690 PARTIE X Sujets spéciaux (B)

ciétés de différenciation bien que d'importantes recherches soient en cours pour contourner cette restriction.

La différenciation des cellules souches hématopoïétiques est régulée par un ensemble de glycoprotéines sécrétées appelées cytokines. Le **facteur des cellules souches** et plusieurs **facteurs de stimulation de colonies** collaborent avec les interleukines 1, 3 et 6 pour stimuler la prolifération des cellules souches hématopoïétiques dans la moelle osseuse et leur engagement dans une voie de différenciation menant à un ou plusieurs des types cellulaires myéloïdes (Figure 53-1). La fixation d'**érythropoïétine** ou de **thrombopoïétine** entraîne respectivement la différenciation de ces progéniteurs myéloïdes en érythrocytes ou en plaquettes.

LES ÉRYTHROCYTES SONT HAUTEMENT SPÉCIALISÉS

Les érythrocytes matures sont dépourvus d'organites internes

La structure et la composition des érythrocytes reflètent leur fonction hautement spécialisée qui consiste à délivrer le plus d'oxygène possible aux tissus et à évacuer le dioxyde de carbone,

un déchet produit par la respiration cellulaire, ainsi que l'urée. L'intérieur d'un érythrocyte renferme une concentration massive d'hémoglobine, en gros un tiers en poids (30 à 40 g/dl chez l'adulte). Cette extraordinaire capacité en hémoglobine est réalisée en partie en adoptant une structure cellulaire simplifiée de façon inhabituelle. Les hématies matures ou globules rouges sont dépourvus des organites intracellulaires que l'on trouve dans les autres cellules eucaryotes (comme le noyau, les lysosomes, l'appareil de Golgi, les mitochondries). Les hématies **énucleées** sont par conséquent incapables de se reproduire.

Les hématies possèdent un cytosquelette très développé responsable du maintien de leur forme biconcave (Figure 53-2). Cette forme inhabituelle augmente les échanges d'oxygène et de dioxyde de carbone entre les érythrocytes et les tissus de deux façons. Premièrement, cette configuration en forme de disque possède un rapport surface/volume bien plus grand qu'une forme plus sphérique. Deuxièmement, elle permet aux hématies de se replier et de se comprimer pour passer à travers les étroits capillaires dont le diamètre est inférieur à celui de l'érythrocyte lui-même. En minimisant la distance à traverser, ces facteurs facilitent un échange efficace du gaz entre les parois des capillaires et les érythrocytes en mouvement rapide (jusqu'à 2 mm/s).

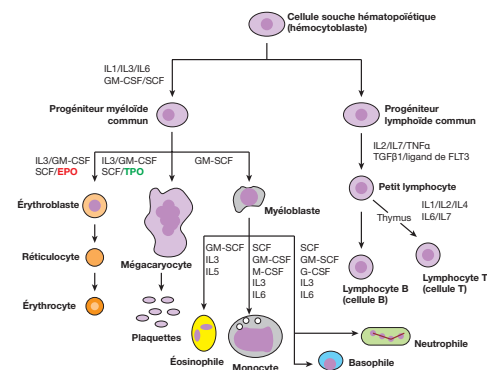


FIGURE 53-1 L'hématopoïèse. Schéma simplifié et très abrégé des voies de différenciation des cellules souches hématopoïétiques pour produire beaucoup d'érythrocytes et des leucocytes les plus importants du point de vue quantitatif. Un nombre limité d'intermédiaires du développement sont représentés. Les noms de chaque type cellulaire sont indiqués en caractères gras. Les noyaux des cellules sont figurés en violet. Chaque flèche symbolise une transition en plusieurs étapes. La liste des hormones et des cytokines qui stimulent chaque transition est donnée à côté des flèches. Les symboles utilisés sont : IL, interleukine ; SCF, facteur des cellules souches ; GM-CSF, facteur de stimulation des colonies de granulocytes ; M-CSF, facteur de stimulation des colonies de macrophages ; GM-CSF, facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages ; ligand de FLT3, ligand du récepteur tyrosine kinase 3 apparentée à FMS ; TNF α , facteur nécrosant de tumeur α ; TGF β 1, facteur de croissance transformant β 1 ; EPO, érythropoïétine ; TPO, thrombopoïétine.

Questions d'examen

Section II – Enzymes, cinétique, mécanisme, régulation et bioinformatique

1. Un halètement rapide peut entraîner une hyperventilation, lorsque le dioxyde de carbone est expiré plus rapidement par les poumons qu'il n'est produit par les tissus. Expliquez comment l'hyperventilation peut conduire à une augmentation du pH sanguin.
2. Un ingénieur en génie protéique désire modifier le site actif de la chymotrypsine pour qu'elle puisse couper les liaisons peptidiques du côté C-terminal de résidus aspartyle et glutamyle. La meilleure façon pour cet ingénieur d'y arriver consisterait à remplacer l'acide aminé hydrophobe au fond de la poche du site actif par une :
- A. Phénylalanine
B. Thréonine
C. Glutamine
D. Lysine
E. Proline
3. Sélectionner parmi les assertions suivantes celle qui n'est PAS CORRECTE :
- A. De nombreuses protéines mitochondriales subissent une modification covalente par acétylation de groupes amines éprouant de résidus de lysine.
B. L'acétylation des protéines est un exemple de modifications covalentes « réversibles » dans les conditions physiologiques.
C. Une augmentation du taux d'acétyl-CoA tend à favoriser l'acétylation des protéines.
D. L'acétylation augmente l'encombrement spatial des chaînes latérales des acides aminés qui ont l'objet de cette modification.
E. La chaîne latérale d'un résidu lysyle acétylé est une base plus forte que celle d'un résidu lysyle non modifié.
4. Sélectionner parmi les assertions suivantes celle qui n'est PAS CORRECTE :
- A. La catalase-acide-basique est une caractéristique majeure du mécanisme catalytique de la protéase du VIH.
B. Le modèle serrure-clé de Fischer explique le rôle de la stabilisation de l'état de transition dans la catalyse enzymatique.
C. L'hydrolyse des liaisons peptidiques par les protéases à sérine met en jeu la formation transitoire d'une enzyme modifiée.
D. De nombreuses enzymes utilisent des ions métalliques comme groupe prosthétique ou cofacteur.
E. En général, les enzymes se lient aux analogues de l'état de transition plus fortement qu'aux analogues de leurs substrats.
5. Sélectionner parmi les assertions suivantes celle qui n'est PAS CORRECTE :
- A. Pour calculer K_m , la constante d'équilibre d'une réaction, on divise la vitesse initiale de la réaction directe (vitesse_i) par la vitesse initiale de la réaction inverse (vitesse_r).
B. La présence d'une enzyme n'a aucun effet sur K_m .
C. Dans le cas d'une réaction qui s'effectue à température constante, la fraction des molécules réactives potentielles possédant suffisamment d'énergie cinétique pour dépasser le seuil d'énergie d'activation de la réaction est constante.
D. Les enzymes et les autres catalyseurs abaissent l'énergie d'activation des réactions.
E. Le signe algébrique de ΔG , la variation d'énergie libre de Gibbs d'une réaction, indique le sens dans lequel une réaction va avoir lieu.
6. Sélectionner parmi les assertions suivantes celle qui n'est PAS CORRECTE :
- A. En biochimie l'état standard correspond à une concentration 1 molaire, des produits et des réactifs autres que les protéines.
B. ΔG est une fonction du logarithme de K_m .
C. En cinétique des réactions, le terme de « spontanéité » exprime le fait que la réaction telle qu'elle est écrite se déroule favorablement de la gauche vers la droite.
D. ΔG° correspond à la variation d'énergie libre accompagnant la transition de l'état standard vers l'équilibre.
E. Lorsque l'équilibre est atteint, les vitesses des réactions directe et inverse tombent toutes deux à zéro.
7. Sélectionner parmi les assertions suivantes celle qui n'est PAS CORRECTE :
- A. Les enzymes abaissent l'énergie d'activation de la réaction.
B. Les enzymes abaissent souvent l'énergie d'activation en déstabilisant les intermédiaires de l'état de transition.
C. Les résidus histidyle du site actif agissent souvent la catalyse en servant de donneur ou d'accepteur de protons.
D. La catalyse covalente est employée par certaines enzymes pour fournir une autre voie de réaction.
E. La présence d'une enzyme n'a aucun effet sur ΔG° .
8. Sélectionner parmi les assertions suivantes celle qui n'est PAS CORRECTE :
- A. Pour la plupart des enzymes, la relation entre [S] et la vitesse initiale de réaction, v_0 , est représentée par une courbe hyperbolique.
B. Lorsque [S] est beaucoup plus faible que le K_m , le terme $K_m + [S]$ dans l'équation de Michaelis-Menten, a une valeur très proche de K_m dans ces conditions, la vitesse de catalyse est une fonction linéaire de [S].
C. Les concentrations molaires des substrats et des produits sont égales lorsque la vitesse d'une réaction enzymatique atteint la moitié de sa vitesse potentielle maximale ($V_{max}/2$).

NOUVEAU ! Des questions de révision à la fin de chacune des parties

PARTIE VI

MÉTABOLISME DES PROTÉINES ET DES ACIDES AMINÉS

CHAPITRE

27

Biosynthèse des acides aminés non indispensables dans l'alimentation

Victor W. Rodwell, PhD

OBJECTIFS

Étude de ce chapitre vous permettra :

- D'expliquer pourquoi l'absence de certains acides aminés dans l'alimentation n'a pas d'effet délétère sur la santé humaine.
- De faire la distinction entre acides aminés « essentiels » et « non essentiels » du point de vue nutritionnel, et d'identifier ceux qui ne sont pas essentiels du point de vue nutritionnel.
- De nommer les intermédiaires du cycle de l'acide citrique et de la glycolyse, qui sont les précurseurs de l'aspartate, de l'asparagine, du glutamate, de la glutamine, de la glycine et de la sérine.
- D'illustrer le rôle clé des transaminases dans le métabolisme des acides aminés.
- D'expliquer le processus de formation de la 4-hydroxyproline et de la 5-hydroxylysine des protéines comme le collagène.
- De décrire le tableau clinique du scorbut et de fournir une explication biochimique au fait qu'une carence sévère en vitamine C (acide ascorbique) entraîne cette maladie nutritionnelle.
- De comprendre que malgré la toxicité du sélénium, la sélénocystéine est un composant essentiel de plusieurs protéines de mammifères.
- De définir et de représenter la réaction catalysée par une oxydase à fonction mixte.
- D'identifier le rôle de la tétrahydrobioptérine dans la synthèse de la tyrosine.
- D'indiquer le rôle d'un ARNt modifié dans l'insertion cotraductionnelle de sélénocystéine dans les protéines.

IMPORTANCE BIOMÉDICALE

Les états de carence en acides aminés peuvent découler de l'absence d'acides aminés essentiels du point de vue nutritionnel dans l'alimentation ou de leur apport en quantité insuffisante. Les états de carence en acides aminés endémiques dans certaines régions d'Afrique de l'ouest peuvent conduire au kwashiorkor,

qui survient lorsqu'un enfant est sévré et passe à une alimentation riche en féculents mais pauvre en protéines. Dans le marasme, le déficit porte à la fois sur la ration calorique et sur l'apport de certains acides aminés. Les patients présentant le syndrome de l'intestin court sont incapables d'absorber des quantités de calories et de nutriments suffisantes et souffrent d'anomalies nutritionnelles et métaboliques importantes. Le scorbut, une maladie

Des encadrés avec les OBJECTIFS pour préciser les buts de chacun des chapitres

TABEAU 44-4 Apports alimentaires recommandés en vitamines, FAO 2001

Âge	VITA (µg)	VIT D (µg)	VIT K (µg)	VIT B ₁ (mg)	VIT B ₂ (mg)	Niacine (mg)	VIT B ₆ (mg)	Folate (µg)	VIT B ₁₂ (µg)	VIT C (mg)	Panto (mg)	Biotine (µg)
0-6 m.	375	5	0,2	0,3	2	0,1	80	0,4	25	1,7	5	
7-12 m.	400	5	10	0,3	0,4	4	0,3	80	0,5	30	1,8	6
1-3 ans	400	5	15	0,5	0,5	4	0,5	140	0,9	30	2,0	8
4-6 ans	450	5	20	0,6	0,6	8	0,6	200	1,2	30	3,0	12
7-9 ans	500	5	25	0,9	0,9	12	1,0	300	1,8	35	4,0	20
Homme												
10-18 ans	600	5	35-55	1,2	1,3	16	1,3	400	2,4	40	5,0	30
19-50 ans	600	5	65	1,2	1,3	16	1,3	400	2,4	45	5,0	30
50-65 ans	600	10	65	1,3	1,3	16	1,7	400	2,4	45	5,0	30
> 65 ans	600	15	65	1,2	1,3	16	1,7	400	2,4	45	5,0	30
Femme												
10-18 ans	600	5	35-55	1,1	1,0	16	1,2	400	2,4	40	5,0	25
19-50 ans	600	5	55	1,1	1,1	14	1,3	400	2,4	45	5,0	30
50-65 ans	600	10	55	1,1	1,1	14	1,5	400	2,4	45	5,0	30
> 65 ans	600	15	55	1,1	1,1	14	1,5	400	2,4	45	5,0	30
Enceinte	800	5	55	1,4	1,4	18	1,9	600	2,8	55	6,0	30
Allaitante	850	5	55	1,5	1,6	17	2,0	500	2,8	70	7,0	35

Source: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, Human Vitamins and Mineral Requirements, FAO, 2001.

TABEAU 44-5 Les vitamines

Vitamine	Fonctions	Maladie de carence
Liposolubles		
A. Rétinol, β-carotène	Pigments visuels de la rétine, régulation de l'expression de gènes et de la différenciation cellulaire (le β-carotène est un antioxydant)	Cécité nocturne, xérophtalmie, kératinisation de la peau
D. Calciférol	Maintien de l'équilibre calcique : augmentation de l'absorption intestinale de Ca ²⁺ et mobilisation des minéraux osseux ; régulation de l'expression de gènes et de la différenciation cellulaire	Rachitisme = mauvaise minéralisation de l'os ; ostéomalacie = déminéralisation de l'os
E. Tocophérol, tocotriénols	Antioxydant, particulièrement dans les membranes cellulaires ; rôle dans la signalisation cellulaire	Environnement carencé, graves troubles neurologiques
K. Phylloquinone, ménaquinones	Coenzyme dans la formation du γ-carboxyglutamate des enzymes de la coagulation sanguine et de la matrice osseuse	Mauvaise coagulation sanguine, maladie hémorragique
Hydrosolubles		
B ₁ . Thiamine	Coenzyme des pyruvate- et α-cétoglutarate déshydrogénases et transcarboxylase ; régulation du canal Ca ²⁺ dans la conduction nerveuse	Atteintes nerveuses périphériques (berbérie) ou lésions du système nerveux central (maladie de Wernicke-Korsakow)
B ₂ . Riboflavine	Coenzyme des réactions d'oxydation et de réduction (FAD et FMN) ; groupe prosthétique de l'isoprénylase	Lésions des muqueuses de la bouche, des lèvres et de la langue, dermatite séborrhéique
Niacine. Acide nicotinique, nicotinamide	Coenzyme des réactions d'oxydation et de réduction, partie fonctionnelle de NAD ⁺ et NADP ⁺ ; rôle dans la régulation intracellulaire du calcium et dans la signalisation cellulaire	Pellagre ; dermatite photosensible, psychose dépressive
B ₆ . Pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine	Coenzyme de la transamination et de la décarboxylation des acides aminés et de la phosphorylation du glycogène ; modulation de l'action des hormones stéroïdes	Troubles du métabolisme des acides aminés, convulsions
B ₁₂ . Acide folique	Coenzyme du transfert d'unités monocarboxyles	Anémie mégaloblastique
B ₁₂ . Cobalamine	Coenzyme du transfert d'unités monocarboxyles et du métabolisme de l'acide folique	Anémie pernicieuse = anémie mégaloblastique avec déplémentation de la corde spinale
B ₁₂ . Acide panthotémique	Partie fonctionnelle des protéines transporteurs de CoA et d'acyl-CoA ; synthèse et métabolisme des acides gras	Atteintes nerveuses périphériques (maladie nutritionnelle ou « berbérie dans les pieds »)
H. Biotine	Coenzyme des réactions de carboxylation ; de la glucoamylase et de la synthèse des acides gras ; rôle dans la régulation du cycle cellulaire	Atteintes du métabolisme des graisses et des glucides, dermatite
C. Acide ascorbique	Coenzyme de l'hydroxylation de la proline et de la lysine dans la synthèse du collagène, antioxydant ; augmente l'absorption du fer	Scorbut ; défaut de guérison des blessures, perte du ciment dentaire, hémorragies sous-cutanées

Des tableaux pour résumer les informations importantes

PARTIE III

BIOÉNERGÉTIQUE

CHAPITRE

11

Bioénergétique : rôle de l'ATP

Kathleen M. Botham, PhD, DSc et Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJECTIFS

Étude de ce chapitre vous permettra :

- D'énoncer le premier et le deuxième principe de la thermodynamique et de comprendre comment ils s'appliquent aux systèmes biologiques.
- D'expliquer ce que signifient les termes énergie libre, entropie, enthalpie, exergonique et endergonique.
- D'évaluer comment les réactions endergoniques peuvent se faire dans les systèmes biologiques, par couplage à d'autres qui sont exergoniques.
- De comprendre le rôle des phosphates riches en énergie, comme l'ATP et les autres nucléotides triphosphates dans le transfert d'énergie libre, des processus exergoniques vers les processus endergoniques, en servant ainsi de « monnaie d'échange énergétique » des cellules.

IMPORTANCE BIOMÉDICALE

La bioénergétique, ou thermodynamique biochimique, est l'étude des variations d'énergie associées aux réactions biochimiques. Les systèmes biologiques sont essentiellement isothermes et utilisent l'énergie chimique pour faire fonctionner les processus vitaux. La façon dont un animal obtient cette énergie à partir des aliments est à la base de la compréhension de la nutrition normale et du métabolisme. La mort survient à la suite d'un jeûne lorsque les réserves d'énergie disponibles sont épuisées, et certaines formes de malnutrition sont associées à un déséquilibre énergétique (marasme). Les hormones thyroïdiennes contrôlent le niveau de métabolisme (vitesse de libération de l'énergie), leur dysfonctionnement est une cause de maladie. Le stockage excédent des surplus énergétiques conduit à l'obésité, une maladie de plus en plus fréquente de la société occidentale, qui prédispose à de nombreuses maladies, comme les maladies cardiovasculaires et le diabète sucré ou de type 2, elle diminue aussi l'espérance de vie.

L'ÉNERGIE LIBRE EST L'ÉNERGIE UTILE DANS UN SYSTÈME

Dans un système, la variation de l'énergie libre selon Gibbs (ΔG) est la portion de la variation totale d'énergie, disponible pour accomplir un travail ; elle correspond à l'énergie utile aussi appelée potentiel chimique.

Les systèmes biologiques se conforment aux lois générales de la thermodynamique

Le premier principe de la thermodynamique stipule que l'énergie totale d'un système et de ses milieux environnant demeure constante. Cela implique que dans un système pris dans son ensemble, l'énergie n'est ni perdue ni gagnée durant une transformation. Cependant, l'énergie peut être transférée d'une partie à une autre du système ou transformée en une autre forme d'énergie. Chez les organismes vivants, l'énergie chimique peut être transformée en chaleur, en énergie électrique, rayonnante ou mécanique.

Chaque chapitre comporte un paragraphe sur l'importance biomédicale du thème abordé

Table des matières

Avant-propos xv

PARTIE I

Structures et fonctions des protéines et des enzymes 1

- 1 Biochimie et médecine 1**
Victor W. Rodwell, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD
- 2 Eau et pH 6**
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD
- 3 Les acides aminés et les peptides 15**
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD
- 4 Les protéines : détermination de la structure primaire 25**
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD
- 5 Les protéines : structures d'ordre supérieur 36**
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

PARTIE II

Enzymes : cinétique, mécanisme, régulation et bioinformatique 51

- 6 Protéines : myoglobine et hémoglobine 51**
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD
- 7 Enzymes : mécanismes d'action 60**
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD
- 8 Enzymes : cinétique 73**
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD
- 9 Enzymes : régulation de leurs activités 87**
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

10 Bioinformatique et modélisation biologique assistée par ordinateur 97

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

PARTIE III

Bioénergétique 113

- 11 Bioénergétique : rôle de l'ATP 113**
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc
- 12 Oxydation biologique 119**
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc
- 13 Chaîne respiratoire et phosphorylation oxydative 126**
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

PARTIE IV

Métabolisme des glucides 139

- 14 Vue d'ensemble du métabolisme et de l'approvisionnement en carburants métaboliques 139**
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc
- 15 Glucides importants sur le plan physiologique 152**
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc
- 16 Cycle de l'acide citrique : catabolisme de l'acétyl-CoA 161**
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

17 Glycolyse et oxydation du pyruvate 168

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

18 Métabolisme du glycogène 176

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

19 Gluconéogenèse et contrôle de la glycémie 185

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

20 Voie des pentoses phosphates et autres voies métaboliques des hexoses 196

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

PARTIE V
Métabolisme des lipides 211

21 Lipides importants sur le plan physiologique 211

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

22 Oxydation des acides gras: cétogenèse 223

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

23 Biosynthèse des acides gras et des eicosanoïdes 232

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

24 Métabolisme des acylglycérols et des sphingolipides 245

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

25 Transport et stockage des lipides 253

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

26 Synthèse, transport et excrétion du cholestérol 266

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

PARTIE VI
Métabolisme des protéines et des acides aminés 281

27 Biosynthèse des acides aminés non indispensables dans l'alimentation 281

Victor W. Rodwell, PhD

28 Catabolisme des protéines et de l'azote des acides aminés 287

Victor W. Rodwell, PhD

29 Catabolisme du squelette carboné des acides aminés 297

Victor W. Rodwell, PhD

30 Transformation des acides aminés en produits spécialisés 313

Victor W. Rodwell, PhD

31 Porphyrines et pigments biliaires 323

Victor W. Rodwell, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

PARTIE VII
Structure, fonction et répliation des macromolécules de l'information 339

32 Les nucléotides 339

Victor W. Rodwell, PhD

33 Métabolisme des nucléotides puriques et pyrimidiques 347

Victor W. Rodwell, PhD

34 Structure et fonction des acides nucléiques 359

P. Anthony Weil, PhD

35 Organisation, réplication et réparation de l'ADN 370

P. Anthony Weil, PhD

36 Synthèse, maturation et métabolisme de l'ARN 394

P. Anthony Weil, PhD

37 Synthèse protéique et code génétique 413

P. Anthony Weil, PhD

38 Régulation de l'expression des gènes 428

P. Anthony Weil, PhD

39 Génétique moléculaire, technologies de l'ADN recombinant et de génomique 451

P. Anthony Weil, PhD

PARTIE
VIII

Biochimie de la communication extracellulaire et intracellulaire 477

40 Membranes : structure et fonction 477

Robert K. Murray, MD, PhD & P. Anthony Weil, PhD

41 Diversité du système endocrinien 498

P. Anthony Weil, PhD

42 Mode d'action des hormones et transduction du signal 518

P. Anthony Weil, PhD

PARTIE
IX

Sujets spéciaux (A) 537

43 Nutrition, digestion et absorption 537

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

44 Micronutriments : vitamines et minéraux 546

David A. Bender, PhD

45 Radicaux libres et aliments antioxydants 564

David A. Bender, PhD

46 Les glycoprotéines 569

David A. Bender, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

47 Métabolisme des xénobiotiques 583

David A. Bender, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

48 Biochimie clinique 589

David A. Bender, PhD, Joe Varghese, MBBS, MD, Molly Jacob, MBBS, MD, PhD, & Robert K. Murray, MD, PhD

PARTIE
X

Sujets spéciaux (B) 607

49 Trafic intracellulaire et routage des protéines 607

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Robert K. Murray, MD, PhD

50 La matrice extracellulaire 627

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Robert K. Murray, MD, PhD

51 Muscle et cytosquelette 647

Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

52 Protéines plasmatiques et immunoglobulines 668

Peter J. Kennelly, PhD, Robert K. Murray, MD, PhD, Molly Jacob, MBBS, MD, PhD & Joe Varghese, MBBS, MD

53 Les érythrocytes 689

Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

54 Les leucocytes 700

Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

PARTIE
XI

Sujets spéciaux (C) 711

55 Hémostasie et thrombose 711

Peter L. Gross, MD, MSc, FRCP(C), Robert K. Murray, MD, PhD, P. Anthony Weil, PhD, & Margaret L. Rand, PhD

56 Le cancer : vue d'ensemble 722

Molly Jacob, MBBS, MD, PhD, Joe Varghese, MBBS, MD, Robert K. Murray, MD, PhD & P. Anthony Weil, PhD

57 Étude de cas cliniques 746

David A. Bender, PhD

58 La biochimie du vieillissement 755

Peter J. Kennelly, PhD

Les réponses aux questions 771

Index 777

Avant-propos

Les auteurs et l'éditeur sont heureux de présenter la trentième édition de *Biochimie illustrée de Harper*. La première édition de cet ouvrage, appelée *Biochimie de Harper*, a été publiée en 1939 avec pour seul auteur le Dr Harold Harper, de l'École de Médecine de l'Université de Californie à San Francisco. Ce livre, à présent intitulé *Biochimie illustrée de Harper*, continu conformément à son objectif initial à fournir un panorama concis des aspects de la biochimie qui ont le plus d'intérêt d'un point de vue médical. Divers auteurs ont contribué aux éditions successives de ce manuel de biochimie à orientation médicale qui a atteint sa 75^e année d'existence.

Changements de la trentième édition

La trentième édition de la *Biochimie illustrée de Harper* poursuit sa mise à jour intégrée des connaissances de biochimie, elle fait régulièrement référence aux relations avec les maladies génétiques, les informations médicales et la pratique de la médecine. Cette édition inclut de nouvelles illustrations en couleurs, de nouveaux tableaux et de nombreux exemples médicalement pertinents, qui présentent une revue claire et succincte de ces aspects fondamentaux de la biochimie qu'un étudiant doit comprendre pour réussir ses études de médecine. Outre la réactualisation du contenu, l'ordre de présentation des concepts a fait l'objet d'une révision majeure. Les 58 chapitres actuels sont organisés selon une série plus étendue de onze Parties ou sections. Les chapitres et les sujets de ces parties fournissent une vision intégrée des maladies à base biochimique et de l'information clinique. Un changement majeur est le retrait du Dr Murray qui était auteur et chargé de la révision de treize chapitres, qui sont pris en charge par les Dr Bender, Botham, Kennelly et Rodwell. Ainsi, la Partie X contient un nouveau chapitre sur les leucocytes et la Partie XI est consacrée à neuf études de cas, totalement nouvelles, à traiter par le lecteur lui-même, ces études d'une grande pertinence médicale testent à la fois les connaissances et leur compréhension. Pour faciliter l'acquisition des connaissances pour chaque série de concepts, des séries de questions figurent maintenant à la fin de chacune des onze nouvelles Parties ou sections. De nombreuses nouvelles questions ont été ajoutées et une banque de réponses fait suite au dernier chapitre. Une nouveauté de cette édition est l'ajout d'explications détaillées à la réponse à de nombreuses questions.

Organisation de l'ouvrage

Les 58 chapitres de cette trentième édition mettent tous fortement l'accent sur l'importance médicale de la biochimie. Les sujets sont organisés en onze Parties principales. Pour faciliter la mémorisation de l'information fournie, des Questions font suite à chaque Partie et une Banque de Réponses fait suite à la dernière série de questions de l'ouvrage.

La **Partie I** comporte une brève histoire de la biochimie et met l'accent sur les interrelations entre la biochimie et la médecine. Les questions concernant l'eau et le pH sont détaillées et on y aborde les divers niveaux de structure des protéines.

La **Partie II** commence par un chapitre sur l'hémoglobine, trois chapitres concernent la cinétique, le mécanisme d'action et la régulation métabolique des enzymes. Un chapitre sur la bioinformatique et la biologie assistée par ordinateur, reflètent l'importance toujours plus grande de ces sujets dans la biochimie moderne, la biologie et la médecine.

La **Partie III** concerne la bioénergétique et le rôle des phosphates de haute énergie dans la capture et le transfert d'énergie, dans les réactions d'oxydo-réduction impliquées dans les oxydations biologiques. On y traite également les détails métaboliques de la capture d'énergie par la chaîne respiratoire et la phosphorylation oxydative.

La **Partie IV** concerne le métabolisme des glucides par glycolyse, le cycle de l'acide citrique, la voie des pentoses phosphates, le métabolisme du glycogène, la gluconéogenèse et le contrôle de la glycémie.

La **Partie V** aborde la nature des lipides simples et complexes, le transport et le stockage des lipides, la biosynthèse et la dégradation des acides gras et des lipides plus complexes, ainsi que les réactions et la régulation métabolique de la biosynthèse et du transport du cholestérol chez l'être humain.

La **Partie VI** traite le catabolisme des protéines, la biosynthèse de l'urée et le catabolisme des acides aminés en insistant sur les maladies métaboliques médicalement importantes associées à leur catabolisme incomplet. Le dernier chapitre concerne la biochimie des porphyrines et des pigments biliaires.

La **Partie VII** décrit tout d'abord les structures et les fonctions des nucléotides et des acides nucléiques, elle détaille ensuite la réplication et la réparation de l'ADN, la synthèse des ARN et leurs modifications, la synthèse protéique, les principes de la technologie de l'ADN recombinant et la régulation de l'expression des gènes.

La **Partie VIII** traite des aspects de la communication extra- et intracellulaire. Les sujets traités concernent la structure et la fonction des membranes, les bases moléculaires des actions des hormones et le domaine de la transduction des signaux.

Les **Parties IX, X et XI** traitent quatorze sujets importants du point de vue médical.

La **Partie IX** traite la nutrition, la digestion et l'absorption, les micronutriments, notamment les vitamines, les radicaux libres et les antioxydants, les glycoprotéines, le métabolisme des xénobiotiques et la biochimie clinique

La **Partie X** traite le trafic intracellulaire et le tri des protéines, la matrice extracellulaire, le muscle et le cytosquelette, les pro-

téines plasmatiques et les immunoglobulines, et la biochimie des érythrocytes et des leucocytes.

La **Partie XI** traite l'hémostase et la thrombose, elle comporte une vue d'ensemble du cancer et de la biochimie du vieillissement.

Remerciements

Les auteurs remercient Michael Weitz pour son rôle dans la conception de cette édition et Regina Y Brown pour son rôle clé dans la finalisation de cette édition pour sa publication. Nous remercions également Shruti Awasthi de Cenveo Publisher Services pour

son travail d'édition, de typographie et de mise en forme. Les suggestions d'étudiants et de collègues de par le monde ont été des plus utiles pour la formulation de cette édition. Nous restons dans l'attente de contributions similaires dans le futur. Nous remercions pour finir Robert Murray pour sa gestion et ses contributions aux précédentes éditions de ce livre.

Victor W. Rodwell
David A. Bender
Kathleen M. Botham
Peter J. Kennelly
P. Anthony Weil

Biochimie et médecine

Victor W. Rodwell, PhD & Robert K. Murray MD, PhD

OBJECTIFS

*L'étude de ce chapitre
vous permettra :*

- De comprendre l'importance de pouvoir fermenter des sucres par des extraits de cellules de levure. Cela a permis de découvrir les intermédiaires de la fermentation, de la glycolyse et d'autres voies métaboliques.
- De comprendre l'objet de la biochimie et son rôle central dans les sciences de la vie et de comprendre le lien étroit entre la biochimie et la médecine.
- De comprendre que la biochimie intègre les connaissances sur les processus chimiques des cellules vivantes pour comprendre les stratégies de maintien en bonne santé et les états pathologiques, pour identifier des pistes thérapeutiques et améliorer notre compréhension des origines de la vie sur terre.
- D'expliquer en quoi les approches génétiques ont été déterminantes dans l'élucidation de nombreuses questions de biochimie et comment le Projet Génome Humain a permis de progresser sur bien des problèmes en biologie et en médecine.

IMPORTANCE BIOMÉDICALE

Il existe une relation de coopération mutuelle entre la biochimie et la médecine. Les études biochimiques ont éclairé de nombreux aspects physiologiques et pathologiques et réciproquement, l'étude de différentes situations saines et pathologiques a ouvert de nouveaux domaines d'étude en biochimie. Tout au long de ce livre, nous soulignons l'intérêt médical de la biochimie tant dans les situations normales que pathologiques. Les apports de la biochimie sont importants dans les domaines de la biologie cellulaire, de la physiologie, de l'immunologie, de la pharmacologie et de la toxicologie, mais aussi dans ceux de l'inflammation, des lésions cellulaires et du cancer. Ces relations étroites soulignent que la vie dépend de réactions et de processus biochimiques.

LA BIOCHIMIE A PRIS NAISSANCE GRÂCE À LA DÉCOUVERTE DE LA POSSIBILITÉ DE FERMENTER DES SUCRES AVEC UN EXTRAIT DE CELLULES DE LEVURES

On sait depuis la préhistoire que les levures peuvent convertir les sucres en alcool éthylique. Ce n'est cependant que vers le début du vingtième siècle que ce processus a conduit directement à la naissance de la biochimie en tant que science. Malgré ses recherches approfondies sur le brassage et la vinification, le grand microbiologiste français Louis Pasteur affirmait que le processus de la fermentation ne pouvait avoir lieu que dans des cellules intactes. Les frères Büchner montrèrent en 1899 qu'il avait tort, en découvrant que la fermentation pouvait en fait avoir lieu dans des extraits de cellules. Cette révélation résultait du stockage d'un extrait de levure dans une cruche contenant une solution concen-

trée de sucre ajoutée pour servir de conservateur. Au cours de la nuit suivant cette mise en conserve, le contenu de la cruche a fermenté et s'est répandu sur la paille et sur le sol du laboratoire, démontrant de façon spectaculaire que la fermentation peut avoir lieu en l'absence de cellule intacte. Cette découverte a rapidement permis au début du vingtième siècle une série d'expériences riches d'enseignements, qui sont à l'origine de la biochimie. Ces expériences ont montré le rôle vital du phosphate inorganique, de l'ADP, de l'ATP et du NAD(H), elles ont finalement permis d'identifier les sucres phosphorylés et les réactions chimiques ainsi que les enzymes (Gk «chez la levure») qui convertissent le glucose en pyruvate (glycolyse) ou en éthanol et en CO₂ (fermentation). Les recherches ultérieures des années 1930 et 1940 ont identifié les intermédiaires du cycle de l'acide citrique et de la biosynthèse de l'urée, elles ont aussi mis en lumière les rôles essentiels de certains cofacteurs dérivant de vitamines, appelés «coenzymes», comme le pyrophosphate de thiamine, la riboflavine et enfin le coenzyme A, le coenzyme Q et les coenzymes cobamiques. C'est au cours des années 1950 qu'a été montré que les glucides complexes sont synthétisés à partir de sucres simples et qu'ils sont ensuite dégradés en ces mêmes sucres simples. Dans ces mêmes années ont été précisées les voies de biosynthèse des pentoses et de dégradation des acides aminés et des lipides.

Pour isoler et identifier les métabolites et les enzymes, il a été fait appel aussi bien à des modèles animaux qu'à des organes entiers perfusés, des tranches de tissus, des homogénats cellulaires ou des sous-fractions de ceux-ci, mais aussi à des enzymes purifiées. Ces progrès ont été permis à la fin des années 1930 et au début des années 1940 par le développement de techniques telles que l'ultracentrifugation analytique, la chromatographie sur papier et sous d'autres formes, et la disponibilité après la seconde guerre mondiale de radioisotopes, principalement ¹⁴C, ³H et ³²P, utilisés comme «traceurs» pour identifier les intermédiaires dans des voies complexes telles que celle conduisant à la biosynthèse de cholestérol et d'autres isoprénoides, ou celles de la biosynthèse et du catabolisme des acides aminés. La cristallographie par rayons X a ensuite été utilisée pour résoudre la structure tridimensionnelle, d'abord celle de la myoglobine, puis celles de nombreuses protéines, de polynucléotides, d'enzymes et de virus, par exemple celui du rhume. Les progrès en génétique qui ont suivi la découverte de la nature en double hélice de l'ADN sont notamment la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et les animaux transgéniques ou ceux avec des extinctions de gènes. Les méthodes utilisées pour préparer, analyser, purifier et

identifier les métabolites et les activités d'enzymes naturelles et recombinantes et leurs structures tridimensionnelles sont présentées dans les prochains chapitres.

LES INTERACTIONS ENTRE LA BIOCHIMIE ET LA MÉDECINE ONT SUSCITÉ DES PROGRÈS MUTUELS

Les deux principales préoccupations des chercheurs en sciences médicales et notamment des médecins, sont la compréhension et la préservation de la **santé** ainsi que la compréhension et le traitement efficace des **maladies**. La biochimie a un impact sur ces deux objectifs fondamentaux de la médecine. En fait, la relation entre la biochimie et la médecine est une vaste avenue à double sens. Les études biochimiques ont éclairé de nombreux aspects physiologiques et pathologiques et réciproquement, l'étude de différentes situations saines et pathologiques a ouvert de nouveaux domaines d'étude en biochimie (**Figure 1-1**). La connaissance de la structure et de la fonction des protéines était nécessaire pour identifier et comprendre l'unique différence dans la séquence d'acides aminés entre l'hémoglobine normale et celle de l'anémie falciforme (drépanocytose). L'analyse de différentes formes d'hémoglobines drépanocytaires et d'autres hémoglobines a contribué de façon significative à notre compréhension de la structure et de la fonction de l'hémoglobine normale mais aussi de celles d'autres protéines. Au début du vingtième siècle Archibald Garrod, un médecin anglais, a étudié des patients atteints d'affections relativement rares (alcaptonurie, albinisme, cystinurie et pentosurie, il montra que ces affections étaient d'origine génétique et nomma ces états pathologiques, **erreurs innées du métabolisme**. Cette découverte servit de base au développement de la génétique biochimique humaine. Un exemple plus récent concerne l'étude des bases génétiques et moléculaires connues de l'hypercholestérolémie familiale, une maladie qui entraîne une athérosclérose juvénile. Outre l'élucidation de différentes mutations génétiques responsables de la maladie, ces recherches ont abouti à une compréhension approfondie des récepteurs cellulaires et des mécanismes cellulaires de capture, non seulement dans le cas du cholestérol mais également pour d'autres molécules qui franchissent les membranes cellulaires. L'étude d'**oncogènes** et de **gènes suppresseurs de tumeur** dans les cellules cancéreuses a attiré l'attention sur les mécanismes moléculaires impliqués dans le contrôle de la croissance de la cellule normale. Ces exemples illustrent comment l'étude du

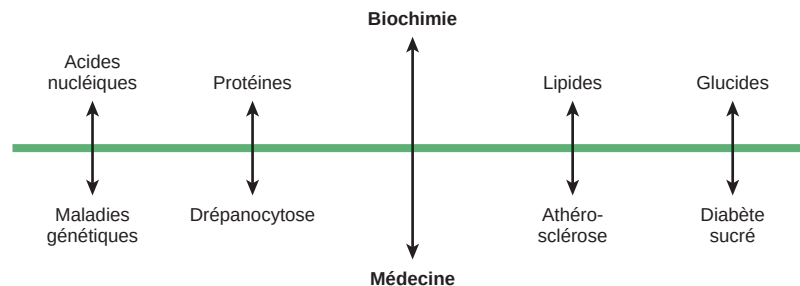


FIGURE 1-1 Relations à double sens entre la biochimie et la médecine. La connaissance des composants biochimiques dont la liste figure au-dessus de la ligne verte du schéma a aidé à la compréhension de maladies énumérées sous la ligne verte. Réciproquement, l'étude des maladies qui figurent en bas du schéma a fait progresser de nombreux domaines en biochimie. Notez que la drépanocytose est une maladie génétique et que l'athérosclérose et le diabète sucré ont tous deux des composantes génétiques.

pathologique peut ouvrir des domaines de recherches biochimiques fondamentales.

La science fournit aux médecins mais aussi aux autres professionnels de santé et aux biologistes une compréhension fondamentale qui modifie les pratiques, stimule la curiosité et permet d'acquérir les comportements scientifiques essentiels à la poursuite de l'acquisition de connaissances. Tant que le traitement médical repose solidement sur des connaissances de biochimie ou d'autres sciences fondamentales, la pratique médicale aura une **base rationnelle** pouvant être adaptée pour intégrer de nouvelles connaissances.

LES PROCESSUS BIOCHIMIQUES NORMAUX SONT LA BASE DE LA SANTÉ

La recherche en biochimie a des retombées sur la nutrition et la médecine préventive

L'organisation mondiale de la santé (OMS) définit la **santé** comme un état de « bien-être physique mental et social complet et pas seulement comme l'absence de maladie ou d'infirmité ». D'un point de vue strictement biochimique, la santé peut être considérée comme une situation où l'ensemble des milliers de réactions extra- et intracellulaires ayant lieu dans l'organisme s'effectue à des vitesses compatibles avec sa survie dans les conditions de pression dues aux facteurs internes à l'organisme ou ceux dus à l'environnement. Le maintien en bonne santé nécessite un apport alimentaire optimal d'un certain nombre de substances chimiques dont les plus importantes sont les **vitamines**, certains **acides aminés**, certains **acides gras**, divers **minéraux** et l'**eau**. La compréhension de la nutrition dépend largement de connaissances en biochimie, et biochimie et nutrition ont pour objet commun l'étude de ces substances chimiques. La tendance actuelle est de systématiquement préserver la santé et de prévenir les maladies, en pratiquant une **médecine préventive**. Cela inclut des approches nutritionnelles pour prévenir, par exemple, l'athérosclérose et le cancer.

La plupart des maladies ont une base biochimique

En plus des effets des agents infectieux et des polluants de l'environnement, beaucoup de maladies sont des manifestations d'anomalies de gènes, de protéines, de réactions chimiques ou de processus biochimiques, dont chacune peut altérer une ou plusieurs fonctions biochimiques essentielles. Les exemples de perturbations biochimiques responsables de maladies chez l'être humain ou d'autres états pathologiques, concernent des déséquilibres en électrolytes, des défauts d'ingestion ou d'absorption de nutriments, des déséquilibres hormonaux, des agents chimiques ou biologiques toxiques et des maladies génétiques déterminées par l'ADN.

Pour s'attaquer à ces problèmes, les études biochimiques continueront d'être intimement liées aux études de diverses autres disciplines comme : la génétique, la biologie cellulaire, l'immunologie, la nutrition, la pathologie et la pharmacologie. De nombreux biochimistes se passionnent en outre pour apporter une contribution à la résolution de problèmes clés tels que la survie de l'espèce humaine, mais aussi l'éducation du public pour qu'il apporte son soutien à l'utilisation de la démarche scientifique pour

résoudre les problèmes majeurs environnementaux et autres auxquels nous sommes confrontés.

L'impact du Projet Génome Humain (PGH ou HGP) en biochimie, en biologie et en médecine

Des progrès remarquables ont été accomplis à la fin des années 1990 dans le séquençage du génome humain, conduisant au milieu de l'année 2000 à l'annonce du séquençage du génome à plus de 90 %. En pointe sur ces recherches figuraient le « International Human Genome Sequencing Consortium » et Celera Genomics, une compagnie privée. À l'exception de quelques lacunes, la séquence du génome humain a été complétée en 2003, 50 ans après la description de la double hélice d'ADN par Watson et Crick. Les conséquences de ce travail pour la biochimie, la médecine et bien sûr pour toute la biologie sont théoriquement illimitées. Par exemple, la possibilité d'isoler n'importe quel gène, de le séquencer et d'étudier sa structure et sa fonction par des expériences de séquençage et d'inactivation (knock-out) a révélé des gènes auparavant inconnus ainsi que leurs produits. L'évolution de l'être humain est apparue sous un jour nouveau et les méthodes de recherche des gènes responsables de maladies se sont améliorées.

Des progrès majeurs en biochimie et dans la compréhension de la physiologie normale et de la pathologie humaines continuent d'avoir lieu grâce aux études de mutations de génomes d'organismes modèles comme la levure et d'autres eucaryotes comme *Drosophila melanogaster* (la mouche du vinaigre) et *Caenorhabditis elegans* (un ver nématode). Ces deux organismes ont des temps de génération courts et peuvent être manipulés génétiquement pour comprendre les fonctions de chacun de leurs gènes. Ces progrès pourraient se traduire par des approches bénéfiques pour l'être humain en fournissant des solutions pour soigner des pathologies humaines comme le cancer et la maladie d'Alzheimer. Le **Figure 1-2** montre les domaines qui sont nouveaux ou dont le développement s'est accéléré directement à partir des progrès du Projet Génome Humain. De nouveaux domaines qualifiés d'« **omiques** » ont fleuri, chacun se concentrant sur une étude exhaustive des structures et des fonctions des molécules de ce domaine. Les définitions de ces disciplines omiques dont la liste figure ci-après sont données dans le glossaire de ce chapitre. Les techniques de **transcriptomique** et de **protéomique** permettent d'étudier les produits des gènes (molécules d'ARN et protéines). Un exemple spectaculaire de la vitesse des progrès en transcriptomique est l'explosion des connaissances sur les molécules des petits ARN comme régulateurs de l'activité des gènes. D'autres disciplines de type omiques sont la **glycomique**, la **lipidomique**, la **métabolomique**, la **nutrigénomique** et la **pharmacogénomique**. La **bioinformatique** a concentré beaucoup d'efforts pour permettre de tenir le rythme du flux d'informations générées. D'autres secteurs voisins auquel le dynamisme du projet HGP a donné un coup de fouet sont les **biotechnologies**, la **bio-ingénierie**, la **biophysique** et la **bioéthique**. Les **nanotechnologies** sont un domaine actif, elles peuvent, par exemple, offrir de nouvelles méthodes de diagnostic et de traitement des cancers et d'autres maladies. La **biologie des cellules souches** est actuellement au centre de recherches intenses. La **thérapie génique** doit encore tenir ses promesses mais il semble probable que cela arrivera finalement. De nombreux nouveaux **tests de diagnostic moléculaire** se sont développés en génétique, en microbiologie et en immunologie par exemple, que ce soit pour la recherche ou

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) : Center for Medical Genetics, Johns Hopkins University & National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.

Scriver C.R., Beaudet A.L., Valle D., *et al.* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001 (Disponible en ligne et mis à jour en tant que *The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease* à l'adresse www.ommbid.com).

Weatherall D.J.: Systems biology and red cells. *N Engl J Med* 2011; 364; 376.

GLOSSAIRE

Bioéthique : Domaine de l'éthique s'intéressant à l'application de principes moraux et éthiques en biologie et en médecine.

Bioinformatique : Cette discipline aborde la collection, le stockage et l'analyse des données biologiques, principalement celles des séquences d'ADN et de protéines (voir le Chapitre 10).

Bioingénierie : Applications d'ingénierie en biologie et en médecine.

Biologie des cellules souches : Une cellule souche est une cellule indifférenciée capable d'autorenouvellement et de différenciation en n'importe quelle cellule adulte de l'organisme. La biologie des cellules souches s'intéresse à la biologie de ces cellules mais aussi à leur potentiel dans le traitement de diverses maladies.

Biologie des systèmes : Cette discipline étudie les systèmes biologiques complexes dans leur globalité.

Biologie synthétique : Ce domaine combine les techniques de biologie moléculaire à des approches d'ingénierie pour construire de nouvelles fonctions et de nouveaux systèmes biologiques.

Biophysique : Elle applique la physique et ses techniques à la biologie et à la médecine.

Biotechnologies : Ce domaine combine des approches de biochimie et d'ingénierie, entre autres, pour élaborer des produits biologiques utiles en médecine ou pour des applications industrielles.

Diagnostic moléculaire : Il utilise des approches moléculaires (par exemple, des sondes d'ADN) comme aide au diagnostic de

diverses pathologies biochimiques, génétiques, immunologiques, microbiologiques et d'autres.

Génomique : Le génome est l'ensemble des gènes d'un organisme, la génomique est l'étude approfondie des structures et des fonctions des génomes.

Glycomique : Le glycome est l'ensemble des glucides simples et complexes d'un organisme. La glycomique est l'étude systématique des structures et des fonctions des glycomes (par exemple, le glycome humain).

Lipidomique : Le lipidome est l'ensemble des lipides d'un organisme. La lipidomique est l'étude approfondie des structures et des fonctions de tous les composants du lipidome et de leurs interactions, dans l'état normal ou pathologique.

Métabolomique : Le métabolome est l'ensemble des métabolites (les petites molécules participant au métabolisme) d'un organisme. La métabolomique est l'étude approfondie de leurs structures, de leurs fonctions et de leurs changements dans différentes conditions métaboliques.

Nanotechnologies : Développement et utilisation en médecine et dans d'autres domaines d'appareils comme des nanocapsules, qui ont une taille de seulement quelques nanomètres ($10^{-9}\text{m} = 1\text{ nm}$).

Nutrigénomique : C'est l'étude systématique des effets des aliments sur l'expression génétique mais aussi des effets de la variabilité génétique sur l'utilisation des aliments.

Pharmacogénomique : Elle utilise l'information et les techniques de la génomique pour optimiser la découverte et le développement de nouvelles cibles pharmacologiques et de nouveaux médicaments.

Protéomique : Le protéome est l'ensemble des protéines d'un organisme. La protéomique est l'étude systématique des structures et des fonctions des protéomes, y compris de leurs variations physiologiques et pathologiques.

Thérapie génique : Elle consiste à utiliser des gènes modifiés par génie génétique dans le traitement de diverses maladies.

Transcriptomique : La transcriptomique est l'étude exhaustive du transcriptome, qui est l'ensemble des ARN transcrits à partir du génome dans un laps de temps donné.

Eau et pH

Peter J. Kennely, PhD et Victor W. Rodwell, PhD

OBJECTIFS

L'étude de ce chapitre vous permettra :

- De décrire les propriétés de l'eau responsables de sa tension superficielle, de sa viscosité, de son état liquide à température ambiante et de son pouvoir de solvant.
- D'utiliser des formules structurales pour représenter différents composés organiques servant de donneurs ou d'accepteurs de liaisons hydrogène.
- D'expliquer le rôle de l'entropie dans l'orientation, dans un environnement aqueux, des régions polaires et non polaires des macromolécules.
- D'indiquer les contributions quantitatives des ponts salins, des interactions hydrophobes et des forces de van der Waals dans la stabilité des macromolécules.
- D'expliquer la relation du pH avec l'acidité, l'alcalinité et les déterminants quantitatifs qui caractérisent les acides faibles ou forts.
- De calculer la variation de pH consécutive à l'addition d'une quantité donnée d'un acide ou d'une base dans une solution tamponnée.
- De décrire ce que font les tampons, leur mode d'action et les conditions dans lesquelles un tampon est le plus efficace, que ces conditions soient physiologiques ou non.
- D'illustrer comment l'équation d'Henderson-Hasselbalch peut servir à calculer la charge nette d'un polyélectrolyte à un pH donné.

IMPORTANCE BIOMÉDICALE

L'eau est le composant chimique prédominant des organismes vivants. Ses propriétés physiques uniques, dont la capacité de solubiliser une large gamme de molécules organiques et inorganiques, découlent de sa structure dipolaire et de son exceptionnelle capacité à former des liaisons hydrogène. La façon dont l'eau interagit avec une biomolécule solvatée influence leur structure à toutes deux. En tant qu'excellent nucléophile, l'eau est un réactif ou un produit de beaucoup de réactions métaboliques. La régulation de l'équilibre hydrique dépend des mécanismes hypothalamiques contrôlant la soif, de l'hormone antidiurétique (ADH), de la rétention ou de l'excrétion d'eau par les reins et des pertes par évaporation. Le diabète insipide néphrogénique, impliquant une incapacité à concentrer les urines ou à répondre à des changements subtils de l'osmolarité du liquide extracellulaire, résulte d'une incapacité des récepteurs osmorégulateurs des tubules rénaux à répondre à la présence d'ADH.

L'eau a une légère tendance à se dissocier en ions hydroxyle et en protons. La concentration en protons, ou **acidité** des solutions aqueuses est en général exprimée à l'aide d'une échelle logarithmique de pH. Le bicarbonate et d'autres systèmes tam-

pons maintiennent normalement le pH des fluides extracellulaires entre 7,35 et 7,45. Les perturbations éventuelles de l'équilibre acido-basique sont confirmées par mesure du pH du sang artériel et de la teneur en CO_2 du sang veineux. Parmi les causes d'acidose (pH sanguin $< 7,35$) figurent l'acidocétose diabétique et l'acidose lactique. L'alcalose (pH $> 7,45$) peut, par exemple, être consécutive au vomissement du contenu acide de l'estomac.

L'EAU EST UN SOLVANT BIOLOGIQUE IDÉAL

Les molécules d'eau forment des dipôles

Une molécule d'eau est un tétraèdre irrégulier, légèrement déporté, ayant un atome d'oxygène en son centre (**Figure 2-1**). Les deux atomes d'hydrogène et les électrons non partagés sur les deux orbitales sp^3 hybridées occupent les sommets du tétraèdre. L'angle de 105 degrés entre les deux atomes d'hydrogène est légèrement inférieur à l'angle tétraédrique parfait de 109,5 degrés. L'ammoniac est également tétraédrique avec un angle de 107 degrés entre ses atomes d'hydrogène. L'atome d'oxygène, fortement électro-

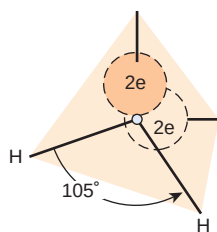


FIGURE 2-1 Géométrie tétraédrique de la molécule d'eau.

négatif dans la molécule d'eau, attire les électrons des noyaux d'hydrogène, leur conférant une charge positive partielle tandis que ses deux paires d'électrons non partagées constituent une région de charge négative locale.

Une molécule avec des charges électriques distribuées de façon asymétrique autour de sa structure est qualifiée de **dipôle**. L'eau fortement dipolaire a une **constante diélectrique** élevée. Selon la description quantitative par la loi de Coulomb, la force d'interaction F entre des particules de charges opposées est inversement proportionnelle à la constante diélectrique ϵ du milieu environnant. La constante diélectrique dans le vide vaut 1, elle vaut 1,9 pour l'hexane, 24,3 pour l'éthanol et 78,5 pour l'eau à 25°C. L'eau diminue donc fortement les forces d'attraction entre les entités chargées et polaires par comparaison à des milieux anhydres ayant des constantes diélectriques inférieures. Son fort caractère dipolaire et sa constante diélectrique élevée permettent à l'eau de dissoudre de grandes quantités de composés chargés comme les sels.

Les molécules d'eau forment des liaisons hydrogène

Un noyau d'hydrogène partiellement non protégé en raison de sa liaison covalente à un atome d'oxygène ou d'azote qui attire son électron, peut interagir avec une paire d'électrons non partagés d'un autre atome d'oxygène ou d'azote pour former une **liaison hydrogène**. Les molécules d'eau présentant ces deux propriétés, les liaisons hydrogène favorisent l'auto-association des molécules d'eau en rangs ordonnés (**Figure 2-2**). Les liaisons hydrogène influencent profondément les propriétés physiques de l'eau et expliquent sa viscosité, sa tension superficielle et son point d'ébullition exceptionnellement élevés. En moyenne, chaque molécule d'eau liquide est associée à 3,5 autres par des liaisons hydrogène. Ces liaisons sont en même temps assez faibles et transitoires, avec une demi-vie de quelques picosecondes. La rupture d'une liaison hydrogène d'eau liquide demande environ 4,5 kcal/mol, soit moins de 5 % de l'énergie nécessaire pour rompre une liaison covalente O—H.

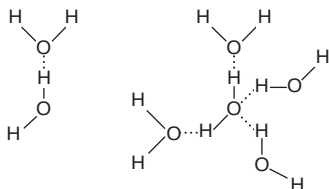


FIGURE 2-2 Auto-association de molécules d'eau par liaisons hydrogène. Association de deux molécules d'eau (*à gauche*), et groupe de quatre molécules d'eau liées par des liaisons hydrogène (*à droite*). Notons qu'une molécule d'eau peut servir en même temps de donneur et d'accepteur d'hydrogène.

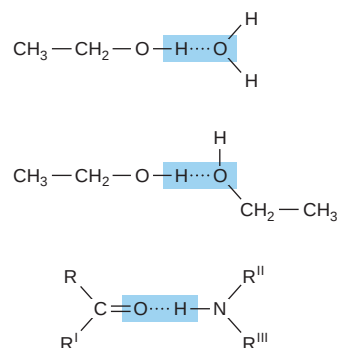


FIGURE 2-3 Autres groupes polaires participant à la formation de liaisons hydrogène. Formation de liaisons hydrogène entre un alcool et l'eau, entre deux molécules d'éthanol ainsi qu'entre l'oxygène d'un groupe carbonyle d'une liaison peptidique et l'hydrogène d'un groupe amine d'une liaison peptidique provenant d'un acide aminé adjacent.

Les liaisons hydrogène permettent à l'eau de dissoudre de nombreuses biomolécules organiques contenant des groupes fonctionnels capables de participer à des liaisons hydrogène. Les atomes d'oxygène des aldéhydes, des cétones et des amides fournissent ainsi des paires d'électrons pouvant servir d'accepteurs d'hydrogène. Les alcools, les acides carboxyliques et les amines peuvent servir à la fois d'accepteurs et de donneurs d'atomes d'hydrogène relativement non protégés pour la formation de liaisons hydrogène (**Figure 2-3**).

L'INTERACTION AVEC L'EAU INFLUENCE LA STRUCTURE DES BIOMOLÉCULES

Les liaisons, covalentes ou non, stabilisent les molécules biologiques

La liaison covalente est la plus puissante des forces qui maintiennent les molécules ensemble (**Tableau 2-1**). Les forces non covalentes, bien que d'une magnitude inférieure, contribuent de façon significative à la structure, la stabilité et à la compétence fonctionnelle des macromolécules dans les cellules vivantes. Ces

TABLEAU 2-1 Énergies de liaison d'atomes d'importance biologique

Type de liaison	Énergie (kcal/mol)	Type de liaison	Énergie (kcal/mol)
O—O	34	O=O	96
S—S	51	C—H	99
C—N	70	C=S	108
S—H	81	O—H	110
C—C	82	C=C	147
C—O	84	C=N	147
N—H	94	C=O	164

forces, qu'elles soient attractives ou répulsives, comprennent des interactions au sein des biomolécules et avec l'eau qui est le principal composant du milieu environnant.

Le repliement des biomolécules place les groupes polaires et chargés en surface

La plupart des biomolécules sont **amphipathiques** ou **amphiphiles**, c'est-à-dire qu'elles possèdent des régions riches en groupes chargés ou polaires et des régions à caractère hydrophobe. Les protéines ont tendance à se replier avec le groupe R des acides aminés à chaîne latérale hydrophobe vers l'intérieur. Les acides aminés à chaîne latérale chargée ou polaire (par exemple : l'arginine, le glutamate et la sérine, voir Tableau 3-1) se trouvent généralement en surface, au contact avec l'eau. Une disposition similaire se retrouve dans les bicouches phospholipidiques, où les têtes chargées de phosphatidyl-sérine ou de phosphatidyl-éthanolamine sont au contact de l'eau tandis que les chaînes hydrophobes acyles gras se regroupent en excluant l'eau (voir Figure 40-5). Cette disposition optimise les possibilités de former des interactions de liaison énergétiquement favorables de type charge-dipôle, dipôle-dipôle et hydrogène entre les groupes polaires de la biomolécule et l'eau. Cette disposition minimise également les contacts défavorables, du point de vue énergétique, entre l'eau et les groupes hydrophobes.

Les interactions hydrophobes

Le terme d'«interactions hydrophobes» se réfère à la tendance à l'auto-association de composés non-polaires dans un environnement aqueux. Cette auto-association n'est due ni à l'attraction mutuelle ni à ce qu'on appelle parfois incorrectement des «liaisons hydrophobes». L'auto-association minimise l'interruption des interactions favorables du point de vue énergétique entre les molécules d'eau environnantes.

Alors que les atomes d'hydrogène de groupes non polaires comme les groupes méthylène des hydrocarbures ne forment pas de liaisons hydrogène, ils affectent la structure de l'eau qui les entoure. Les molécules d'eau situées à côté d'un groupe hydrophobe sont restreintes dans le nombre d'orientations (degrés de liberté) leur permettant d'établir un nombre maximum de liaisons hydrogène favorables du point de vue énergétique. La formation optimale de liaisons hydrogène multiples, qui assure une enthalpie maximale, ne peut être maintenue qu'en augmentant l'ordre des molécules d'eau adjacentes, ce qui s'accompagne d'une diminution de l'entropie.

Selon la deuxième loi de la thermodynamique, l'énergie libre optimale d'un mélange eau-hydrocarbure est une fonction du maximum d'enthalpie (par liaisons hydrogène) et du maximum d'entropie (degrés maximum de liberté). Aussi, les molécules non polaires tendent-elles à former des gouttelettes avec un minimum de surface exposée pour réduire le nombre de molécules d'eau dont la liberté de mouvement est restreinte. Pour la même raison, dans le milieu aqueux des cellules vivantes, les parties hydrophobes des biopolymères ont tendance à se trouver enfouies au sein de la structure de la molécule ou dans une bicouche lipidique pour minimiser le contact avec l'eau.

Les interactions électrostatiques

Les interactions entre groupes chargés contribuent à la forme des biomolécules. Les interactions électrostatiques entre des groupes

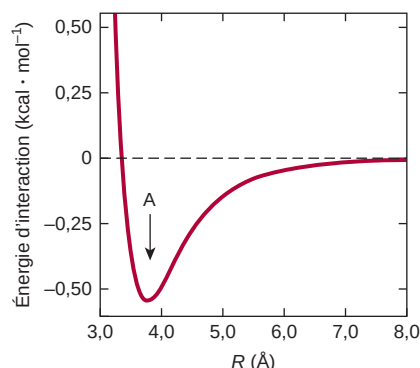


FIGURE 2-4 La force des interactions de van der Waals varie avec la distance, R , entre les espèces en interaction. La force de l'interaction entre les espèces augmente lorsque la distance entre elles diminue jusqu'à ce qu'elle atteigne la distance de contact de van der Waals (flèche annotée d'un A). La répulsion due à l'interaction entre les nuages électroniques de chacun des atomes ou molécules intervient alors. Bien que les interactions de van der Waals prises isolément soient extrêmement faibles, leur effet cumulé est néanmoins important pour des macromolécules comme l'ADN et les protéines où de nombreux atomes sont en contact étroit.

de charges opposées au sein d'une biomolécule ou entre deux d'entre elles sont appelées **ponts salins** ou liaisons salines. Les ponts salins ont une force comparable à celle des liaisons hydrogène mais sont capables d'agir à plus longue distance. C'est pourquoi ils facilitent souvent la liaison de molécules chargées et d'ions, aux protéines et aux acides nucléiques.

Les forces de van der Waals

Elles résultent de l'attraction entre des dipôles transitoires générés par le mouvement rapide des électrons au niveau de tous les atomes neutres. Elles sont significativement plus faibles que les liaisons hydrogène mais potentiellement extrêmement nombreuses. Elles décroissent comme la puissance six de la distance entre les atomes (**Figure 2-4**). Elles agissent donc à très faible distance, en général de l'ordre de 2 à 4 Å.

De nombreuses forces stabilisent les macromolécules biologiques

La double hélice d'ADN illustre la contribution des diverses forces à la structure des macromolécules biologiques. Alors que les atomes de chaque brin d'ADN sont assemblés par des liaisons covalentes, les deux brins tiennent ensemble uniquement grâce à des interactions non covalentes. Ces dernières comportent des liaisons hydrogène entre les bases des nucléotides (appariements de bases Watson-Crick) et des interactions de van der Waals entre les bases puriques et pyrimidiques empilées. La double hélice expose les groupes phosphate chargés et les groupes hydroxyle polaires des molécules de ribose de son squelette, au contact de l'eau alors que les bases relativement hydrophobes des nucléotides sont enfouies à l'intérieur. L'étirement du squelette augmente au maximum la distance entre les charges négatives des phosphates, minimisant ainsi les interactions électrostatiques défavorables (voir Figure 34-2).

L'EAU EST UN EXCELLENT NUCLÉOPHILE

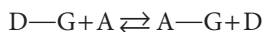
Les réactions métaboliques impliquent souvent l'attaque de paires d'électrons disponibles situées sur des molécules riches en électrons, dites **nucléophiles**, sur des atomes pauvres en électrons dits **électrophiles**. Les nucléophiles et les électrophiles ne possèdent pas forcément une charge formelle négative ou positive. L'eau, avec ses deux paires d'électrons sp^3 disponibles, qui renferment une charge négative partielle (Figure 2-1), est un excellent nucléophile. Parmi les autres nucléophiles importants du point de vue biologique, citons : les atomes d'oxygène des phosphates, des alcools et des acides carboxyliques, le soufre des thiols, l'azote des amines et l'anneau imidazole de l'histidine. Les électrophiles courants comprennent les atomes de carbone des groupes carbonyle des amides, des esters, des aldéhydes et des cétones, et les atomes de phosphore des phosphoesters.

L'attaque nucléophile par l'eau entraîne généralement le clivage de liaisons amide, glycosidiques ou ester qui assurent la cohésion des biopolymères. Il s'agit d'une réaction d'**hydrolyse**. Inversement, quand des unités monomériques sont assemblées pour former un biopolymère comme une protéine ou du glycogène, il y a production d'eau comme par exemple lors de la formation d'une liaison peptidique entre deux acides aminés.

Bien que l'hydrolyse soit une réaction thermodynamiquement favorable, les liaisons amide et phosphoester des polypeptides et des oligonucléotides sont stables dans le milieu aqueux cellulaire. Ce paradoxe apparent reflète le fait que les règles thermodynamiques qui régissent l'équilibre d'une réaction n'influencent pas la *vitesse* de celle-ci. Dans la cellule, des protéines catalyseurs, les **enzymes**, augmentent la vitesse des réactions d'hydrolyse quand c'est nécessaire. Les **protéases** catalysent l'hydrolyse des protéines en leurs composants élémentaires, les acides aminés, tandis que les **nucléases** catalysent l'hydrolyse des liaisons phosphoesters de l'ADN ou de l'ARN. Un contrôle strict de l'activité de ces enzymes est nécessaire pour qu'elles n'agissent que sur des cibles moléculaires appropriées et au bon moment.

De nombreuses réactions métaboliques impliquent le transfert d'un groupe

Dans de nombreuses réactions enzymatiques de synthèse ou de dégradation de biomolécules, il y a transfert d'un groupe G, d'un donneur D à un accepteur A, pour aboutir à la formation d'un complexe accepteur A—G :



L'hydrolyse et la phosphorolyse du glycogène, par exemple, impliquent le transfert de groupes glycosyle sur une molécule d'eau ou d'orthophosphate. La constante d'équilibre des réactions d'hydrolyse de liaisons covalentes favorise fortement la formation des produits de scission. Inversement, dans de nombreux cas, les réactions de transfert de groupes lors de la biosynthèse de macromolécules impliquent la formation de liaisons covalentes, défavorable du point de vue thermodynamique. Les catalyseurs enzymatiques jouent un rôle clé pour franchir cette barrière par leur capacité de couplage entre deux réactions normalement distinctes. Le couplage d'une réaction de transfert de groupe défavorable du point de vue énergétique à une réaction thermodynamiquement favorable, comme l'hydrolyse d'ATP,

génère une nouvelle réaction couplée dont la variation *globale* d'énergie libre est en faveur de la synthèse du biopolymère.

Étant donné le caractère nucléophile de l'eau, et sa forte concentration dans les cellules, comment expliquer la relative stabilité des biopolymères comme les protéines et l'ADN, et comment leur synthèse peut-elle s'effectuer en milieu aqueux, apparemment favorable à l'hydrolyse ? Les propriétés des enzymes sont la clef de l'énigme. En l'absence de catalyse enzymatique, même les réactions fortement favorables, d'un point de vue thermodynamique, ne se produisent pas forcément rapidement. Un contrôle précis et différentiel de l'activité des enzymes ainsi que leur séquestration dans des organites spécifiques déterminent les conditions physiologiques dans lesquelles un biopolymère donné sera synthétisé ou dégradé. La capacité qu'ont les sites actifs des enzymes de séquestrer leurs substrats dans un environnement dont l'eau peut être exclue, facilite la synthèse des biopolymères.

Les molécules d'eau ont une légère tendance, physiologiquement importante, à se dissocier

La capacité d'ionisation de l'eau, bien que faible, est d'une importance biologique capitale. Comme l'eau peut agir à la fois comme acide et comme base, son ionisation peut être représentée par le transfert intermoléculaire d'un proton, pour former un ion hydronium (H_3O^+) et un ion hydroxyle (OH^-) :



Le proton transféré est en réalité associé à un groupe de molécules d'eau. Les protons se trouvent en solution non seulement sous forme de H_3O^+ , mais aussi sous forme de molécules multimériques de type $H_5O_2^+$ ou $H_7O_3^+$. On a pourtant l'habitude de représenter le proton par « H^+ », bien qu'il soit en fait fortement hydraté.

Comme les ions hydronium et hydroxyle se réassocient continuellement pour former des molécules d'eau, on ne peut affirmer si un atome *individuel* d'hydrogène ou d'oxygène est présent sous forme d'ion ou bien s'il fait partie d'une molécule d'eau. À un instant donné, il est sous forme d'ion et l'instant d'après il fait partie d'une molécule d'eau. Aussi ne considère-t-on pas des ions ou des molécules individuels. On considère en fait la *probabilité* qu'à un instant donné un atome d'hydrogène donné soit présent sous forme d'ion ou intégré à une molécule d'eau. Puisqu'un gramme d'eau contient $3,46 \times 10^{22}$ molécules, l'ionisation de l'eau peut être décrite en termes statistiques. Dire que la probabilité qu'un atome d'hydrogène d'exister sous forme d'ion est de 0,01 signifie qu'un atome d'hydrogène a une chance sur 100 d'être un ion et 99 chances sur 100 de se retrouver dans une molécule d'eau. La probabilité réelle qu'un atome d'hydrogène dans l'eau pure d'exister sous forme d'ion est approximativement de $1,8 \times 10^{-9}$. Par conséquent, la probabilité qu'il a de faire partie d'une molécule d'eau est donc proche de 1. Ceci peut s'énoncer d'une autre façon : pour chaque ion hydrogène et pour chaque ion hydroxyle dans l'eau pure, il y a 0,56 milliards, soit $0,56 \times 10^9$, molécules d'eau. Néanmoins, les ions hydrogène et hydroxyle contribuent de façon significative aux propriétés de l'eau.

La dissociation de l'eau s'exprime ainsi :

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

Biochimie clinique

David A. Bender, PhD, Joe Varghese, MBBS, MD,
Molly Jacob, MBBS, MD, PhD, et Robert K. Murray, MD, Ph

OBJECTIFS

*L'étude de ce chapitre
vous permettra :*

- D'expliquer l'importance des analyses de laboratoire en médecine clinique et vétérinaire.
- D'expliquer ce qu'on entend par plage de référence des résultats d'un test.
- D'expliquer la différence entre précision et exactitude d'une méthode d'analyse.
- D'expliquer ce qu'on entend par sensibilité, spécificité et valeur prédictive d'un test de laboratoire.
- De donner la liste des techniques couramment utilisées dans un laboratoire de diagnostic effectuant des analyses biochimiques et d'expliquer le principe de chaque méthode.
- De donner la liste des causes d'anomalies des taux d'analytes sanguins.
- D'expliquer pourquoi des concentrations plasmatiques élevées d'enzymes sont considérées comme des indicateurs de lésions tissulaires.
- De décrire sommairement les principales considérations à avoir à l'esprit lors du dosage d'une enzyme dans un échantillon de plasma et lors de l'utilisation d'une enzyme pour doser un analyte.
- De décrire les principaux tests qu'il est possible d'utiliser pour évaluer le fonctionnement des reins, du foie et de la thyroïde; de décrire les marqueurs de risque cardiovasculaire et du fonctionnement gastrointestinal.

IMPORTANCE DES ANALYSES BIOLOGIQUES EN MÉDECINE CLINIQUE

Les tests de laboratoire jouent un rôle important en médecine. Les analyses biochimiques peuvent servir à des études de dépistage dans le cadre du travail sur les maladies, pour confirmer ou établir un diagnostic basé sur un examen clinique, pour suivre la progression d'une maladie et l'effet d'un traitement (**Tableau 48-1**). Les échantillons d'urine et de sang sont les plus couramment utilisés; occasionnellement on utilise des fèces, de la salive ou du liquide céphalorachidien. Dans de rares cas on fait appel à des biopsies de tissus. La plus grande partie de nos connaissances et de notre compréhension des causes à la base des maladies métaboliques et des effets des maladies sur le métabolisme provient d'analyses de métabolites du sang et de l'urine et de mesures d'enzymes sanguines. En retour, cette connaissance a permis un progrès dans le traitement des maladies et la mise au point de meilleurs médicaments.

Les progrès technologiques ont pour effet que de nombreux tests qui n'étaient auparavant effectués que dans des laboratoires spécialisés peuvent maintenant être effectués au chevet du patient, au cabinet du médecin ou du vétérinaire, et parfois par le patient lui-même à son domicile, avec des machines robotisées faciles à utiliser et qui ne nécessitent qu'un minimum de formation pour produire des résultats fiables. D'autres analyses continuent d'être effectuées dans des laboratoires hospitaliers ou par des laboratoires de chimie médicale privés, les échantillons à tester étant envoyés par le médecin traitant. Certaines analyses prescrites moins fréquemment ou demandant des capacités techniques plus poussées ne sont effectuées que dans des centres spécialisés. Elles mettent souvent en jeu des techniques spéciales pour l'étude de maladies métaboliques rares (et parfois récemment découvertes). De plus l'analyse d'échantillons provenant d'athlètes (ou de chevaux de course) pour détecter des substances dopantes et d'autres substances illégales n'est normalement effectuée que dans un nombre restreint de laboratoires habilités.

TABLEAU 48-1 Principales applications des tests biochimiques avec des exemples de chaque type

Diagnostic précoce d’une maladie Utilisation des taux de troponine I cardiaque plasmatique (cTI), pour le diagnostic précoce de l’infarctus du myocarde.
Suggestion d’un traitement rationnel d’une maladie Une élévation du taux du cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL) est une indication pour une thérapie avec des médicaments réduisant le cholestérol (comme les statines) chez les personnes à risque de maladies cardiovasculaires.
Test de dépistage systématique pour diagnostiquer précocement certaines maladies Le dosage de l’hormone thyroïdienne (TSH) chez les nouveau-nés aide au diagnostic d’hypothyroïdie congénitale.
Aide au suivi de la progression de certaines maladies L’activité alanine transaminase sérique (ALT) sert à suivre l’évolution d’une hépatite virale.
Aide à la vérification de la réponse des maladies à la thérapie Chez les patients atteints d’hypo ou d’hyper-thyroïdie, la mesure du taux de TSH aide à suivre la réponse des patients au traitement.
Mise en évidence des causes fondamentales et des mécanismes d’une maladie Démonstration de la nature du défaut génétique de la mucoviscidose.

CAUSES DES TAUX ANORMAUX D’ANALYTES MESURÉS PAR LES ANALYSES DE LABORATOIRE

Une multitude de conditions peuvent conduire à des anomalies de résultats des analyses effectuées en laboratoire d’analyses médicales ; le **Tableau 48-2** en fournit quelques exemples. Une lésion d’un tissu qui entraîne une altération des membranes cellulaires et une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique conduit à une fuite de matériel intracellulaire dans le sang (par ex. une fuite de créatine kinase MB dans le sang après un infarctus du myocarde). Dans d’autres cas, il y a augmentation ou diminution de la synthèse de certaines protéines et hormones [par ex. la protéine C-réactive (CRP) lors d’états inflammatoires, ou des hormones spécifiques dans certains troubles hormonaux]. Les insuffisances rénales et hépatiques conduisent à l’accumulation sanguine d’un certain nombre de molécules (par ex. la créatinine et l’ammonium respectivement), à cause de l’incapacité de l’organe concerné à excréter ou métaboliser l’analyte en question.

LES PLAGES DE RÉFÉRENCE

Pour chaque composé dosé (un **analyte**) il existe un éventail de valeurs autour d’une moyenne que l’on peut considérer comme étant normales. Cela résulte de variations biologiques individuelles. De plus, des variations quotidiennes ou hebdomadaires des résultats peuvent se produire pour un même sujet. De ce fait, la première étape de mise au point de tout nouveau test de laboratoire destiné au dépistage ou au diagnostic d’une maladie, ou au suivi d’un traitement, consiste à établir l’éventail normal des valeurs des analytes chez des sujets de différents âges. Les fourchettes normales de certains analytes sont différentes entre hommes et femmes, il peut aussi y avoir des différences entre différents groupes ethniques.

Lorsque les résultats obtenus pour un groupe de population cible saine (en fonction de l’âge, du sexe et éventuellement de

TABLEAU 48-2 Causes courantes d’anomalies touchant des analytes sanguins avec des exemples de chaque type

Certains états physiologiques Taux élevé d’hCG sérique et urinaire pendant la grossesse, taux élevé de lactate après un exercice intense.
Changement des équilibres liquidiens de l’organisme Hypernatrémie (taux élevé de sodium sérique) possible en cas de déshydratation par excès de sudation ou vomissement.
Altération du pH sanguin Taux de bicarbonate sérique faible en cas d’acidose métabolique (p. ex. cétoacidose diabétique) et fort en cas d’alcalose métabolique (p. ex. vomissements importants dus à une sténose pylorique).
Fonctionnement endocrinien perturbé Taux sérique de TSH bas en cas d’hyperthyroïdisme primaire et élevé en cas d’hypothyroïdisme primaire.
Perturbation de l’alimentation Taux sérique d’albumine et de protéine de liaison du rétinol bas en cas de malnutrition protéino-énergétique (MPE).
Lésion ou mort cellulaire (nécrose) Augmentation de créatine kinase MB (CK-MB) après lésion cardiaque ; taux élevé d’amylase pancréatique sérique en cas de pancréatite aiguë.
Processus d’inflammation aiguë ou chronique (y compris infectieux) Taux élevé de protéine C-réactive (CRP) lors d’inflammations.
Maladies génétiques Augmentation du taux plasmatique de phénylalanine en cas de phénylcétonurie ; taux sérique d’ammonium élevé dans les désordres du cycle de l’urée.
Défaillance d’un organe Taux élevés de créatinine et d’urée en cas d’insuffisance rénale ; augmentation des taux sériques d’ammonium et de bilirubine en cas de défaillance hépatique.
Traumatisme Élévation possible du taux de myoglobine sérique à la suite d’une lésion musculaire.
Cancer Élévation de divers marqueurs tumoraux (voir Chapitre 56) associés à des cancers spécifiques, p. ex. l’ α -foetoprotéine lors d’un carcinome hépatocellulaire, l’antigène spécifique de la prostate en cas de cancer de la prostate.
Traitement médicamenteux Les chimiothérapies anticancéreuses augmentent le taux sérique d’acide urique.
Empoisonnement Les poisons organophosphorés diminuent l’activité de la butyrylcholinestérase sanguine.
Autres Le stress augmente les taux sériques de cortisol et de catécholamines.

l’appartenance ethnique) obéissent à une distribution normale (c’est-à-dire que les résultats présentent une distribution gaussienne symétrique autour de la moyenne), la fenêtre acceptable ou normale est considérée comme correspondant à ± 2 fois la déviation standard (écart type) autour de la moyenne. Cela inclut 95 % de la population cible et on l’appelle plage de référence. Les valeurs hors de la plage de référence sont considérées comme anormales, et justifient un examen plus approfondi. Lorsque les résultats pour une population saine n’obéissent pas à une distribution normale et sont biaisés, une étape supplémentaire de manipulation statistique est nécessaire avant de pouvoir établir la plage de référence de 95 %.

Pour certains tests, les résultats de différents laboratoires diffèrent, en général parce qu’ils utilisent des méthodes de mesure

différentes. Chaque laboratoire établit sa propre série de plages de référence pour les analyses qu'il effectue. Certains laboratoires donnent leurs résultats sous forme de valeur à comparer avec la plage de référence. D'autres donnent leurs résultats sous forme d'un nombre d'écarts types par rapport à la moyenne, ce qu'on appelle score Z. Cela permet au médecin de voir à quelle distance de la moyenne se situe le résultat, en d'autres termes, à quel point il est anormal. Le résultat sera parfois exprimé comme étant 5 ou 10 fois (voire plus) au-dessus de la limite normale supérieure.

L'utilisation de la plage de 95 % comme plage de référence a une conséquence fâcheuse. Par hasard, 5 % des résultats « normaux » se situent en dehors de la plage de référence. On s'en est rendu compte dans les années 1970, lorsque des appareils d'analyse multicanaux ont été développés, qui étaient capables d'analyser 20 analytes ou davantage dans chaque échantillon. Presque tous les échantillons donnaient un résultat situé en dehors de la plage de référence, mais lorsque la même personne fournissait un échantillon quelques jours plus tard, ce résultat apparemment anormal se situait maintenant dans la plage de référence alors que par hasard le résultat pour un autre analyte pouvait se trouver maintenant en dehors de sa plage de référence. Il incombe de ce fait au médecin de ne prescrire que les analyses qui ont un rapport avec le diagnostic à établir et non pas un ensemble complet d'analyses biochimiques.

VALIDITÉ DES RÉSULTATS DE LABORATOIRE

Les laboratoires de diagnostic sont soumis à des procédures d'inspection et de contrôle pour vérifier la validité de leurs résultats et assurer le **contrôle qualité** de leurs comptes-rendus. Ces mesures permettent d'assurer que la valeur de la concentration, de l'activité ou de la quantité d'une substance dans un échantillon obtenue par un laboratoire d'analyse représente la meilleure valeur que l'on peut obtenir en utilisant cette méthode, ces réactifs, ces appareils et avec le personnel impliqué dans le prélèvement et le

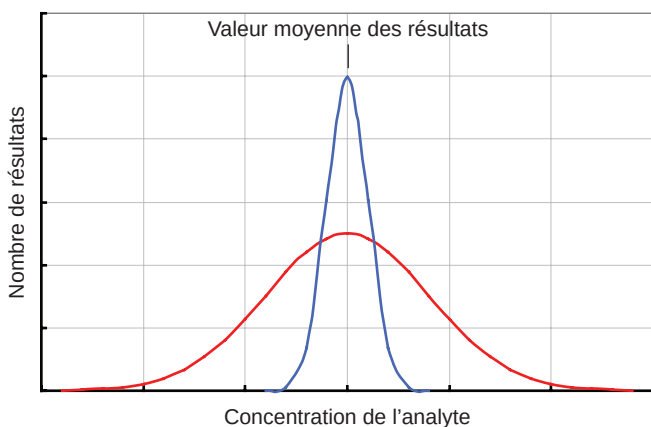


FIGURE 48-1 Précision d'une méthode d'analyse. Le graphe montre les résultats des dosages répétés d'un analyte dans le même échantillon, soit par différentes méthodes d'analyse soit par la même méthode dans deux laboratoires différents. Dans les deux cas, la moyenne des résultats est la même. Pourtant, une des deux méthodes, représentée en bleu, a une dispersion plus faible des résultats et donc une faible déviation standard (écart type) et une grande précision alors que l'autre, représentée en rouge, a une grande dispersion des résultats, un grand écart type et une faible précision.

traitement de l'échantillon. De plus, il est important pour le personnel médical de posséder des connaissances de base concernant la validité des résultats de laboratoire et leur interprétation.

Lors de la mise au point d'un nouveau test ou d'une nouvelle méthode, il faut répondre à quatre questions :

1. **Quelle est la précision de la méthode ?** La précision qualifie la reproductibilité de la méthode. Lorsqu'un même échantillon est analysé de façon répétée, quelle sera la variation dans les résultats obtenus ? La Figure 48-1 illustre cela. Dans cet exemple, un jeu de résultats est plus précis que l'autre (il existe une différence entre les deux quant à la dispersion des résultats autour de la moyenne), bien que la valeur moyenne des résultats soit la même. La précision n'est pas absolue, elle est sujette à des variations inhérentes à la complexité de la méthode utilisée, à la stabilité des réactifs, à la sophistication de l'équipement utilisé pour le test et à la compétence du personnel technique impliqué.
2. **Quelle est l'exactitude du résultat ?** L'exactitude mesure à quel point le résultat est la vraie valeur. La Figure 48-2 montre le résultat de tests avec deux méthodes différentes ou avec la même méthode mais dans deux laboratoires différents. Tous deux ont une précision similaire mais les valeurs moyennes sont différentes. À partir de cette information, il n'est pas possible de dire quel laboratoire est correct (et c'est en partie la raison pour laquelle les laboratoires établissent leurs propres plages de référence). Il existe un certain nombre de schémas de contrôle qualité nationaux ou régionaux selon lesquels tous les laboratoires participants se voient envoyer le même échantillon (regroupé ou poolé) de sang ou d'urine. Chaque laboratoire mesure les divers analytes de cet échantillon groupé. Les résultats obtenus par tous les laboratoires sont représentés sous forme d'une courbe de distribution. La moyenne de ces valeurs est calculée et considérée comme la « vraie valeur ». Ce type de schéma de contrôle qualité permet à chaque laboratoire participant de déterminer à quel point ses résultats sont proches de la « vraie valeur ».

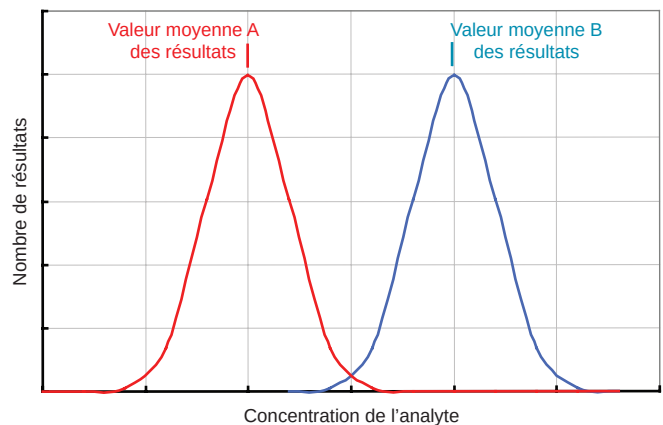


FIGURE 48-2 Exactitude d'une méthode d'analyse. Deux méthodes d'analyse différentes, pratiquées sur de nombreux échantillons, ou bien la même méthode pratiquée dans deux laboratoires différents, donnent ici la même dispersion des résultats et donc le même écart type et la même précision. Pourtant, les valeurs moyennes obtenues pour l'analyte dosé, par les deux laboratoires ou méthodes, sont très différentes et il n'est pas possible de dire laquelle des deux valeurs est la plus proche de la vraie valeur.

tandis que 20 % des fumeurs ont un résultat faux-positif (80 % de spécificité).

La sensibilité et la spécificité d'un test sont corrélées de façon inverse. Si le seuil de détection est fixé trop haut, très peu de personnes saines auront un résultat faux positif mais beaucoup de personnes malades pourront avoir un résultat faux négatif. La sensibilité sera donc faible mais la spécificité élevée. Inversement, si le seuil est fixé trop bas la plupart sinon toutes les personnes malades seront détectées (le test aura une haute sensibilité). Cependant, davantage de personnes non malades pourront avoir un résultat faux positif (le test aura une faible spécificité). Il y a donc souvent un compromis à trouver entre sensibilité et spécificité pour un test.

La **valeur** prédictive d'un test positif (valeur prédictive positive) définit le pourcentage de résultats positifs qui sont des vrais positifs. De même, la valeur prédictive d'un test négatif (valeur prédictive négative) définit le pourcentage de résultats négatifs qui sont des vrais négatifs. Cela est lié à la prévalence de la maladie. Par exemple, dans un groupe de patients dans un service d'urologie, la prévalence de maladies rénales est plus élevée que dans la population générale. Dans ce groupe, le taux sérique de créatinine aura une valeur prédictive plus forte que dans la population générale. Les formules de calcul de la sensibilité, de la spécificité et de la valeur prédictive d'un test diagnostique sont présentées dans le Tableau 48-3.

Un test diagnostique idéal est celui ayant 100 % de sensibilité, 100 % de spécificité et 100 % de valeur prédictive. Pourtant, ce n'est pas le cas pour la plupart, sinon pour la totalité des tests disponibles aujourd'hui. Avant de prescrire un test, il est important de tenter de déterminer si la sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive du test sont adéquates pour fournir une information utile. Le résultat obtenu devrait **influencer le diagnostic, la thérapie et le pronostic**, ou conduire à une **meilleure compréhension du processus pathologique** et à un **bénéfice pour le patient**.

LES ÉCHANTILLONS À ANALYSER

Les échantillons couramment analysés sont le sang et l'urine. Le sang est collecté dans des tubes avec ou sans anticoagulant, selon que l'analyse doive se faire sur le plasma ou sur le sérum. Plus rarement des échantillons de salive, de liquide céphalorachidien ou de fèces sont analysés.

Il existe une différence entre le dosage d'un analyte dans un échantillon de sang ou d'urine. La concentration sanguine d'un analyte reflète le taux au moyen du prélèvement de l'échantillon, tandis que dans l'urine, elle représente l'excrétion cumulée de l'analyte sur une certaine période de temps. Une autre différence est qu'on a l'habitude d'exprimer les résultats de dosages sanguins en quantité d'analyte (ou d'activité enzymatique) par millilitre ou par litre de sang (ou de plasma ou de sérum). L'expression de la concentration de l'analyte dans l'urine de la même façon n'est pas intéressante, puisque le volume d'urine dépend largement de la quantité de liquide absorbée. Dans certains cas, il est demandé au patient de fournir un échantillon d'urines collectées sur 24 heures; c'est une méthode fastidieuse et il est difficile de savoir si la collecte a réellement été effectuée sur 24 heures. On peut alternativement exprimer la concentration de l'analyte par môle de créatinine. L'excrétion quotidienne de créatinine est relativement constante pour un individu donné mais elle peut varier d'un individu à l'autre car elle dépend principalement de la masse musculaire car la créatinine se forme de façon non enzymatique

à partir de créatine et de créatine phosphate, qui se trouvent pour la plupart dans le muscle squelettique.

À l'exception du dosage des gaz sanguins, pour lesquels il faut du sang artériel, les échantillons de sang sont du sang veineux. La glycémie est souvent dosée dans du sang capillaire en piquant un doigt. Certaines analyses utilisent du sang complet, d'autres nécessitent soit du sérum soit du plasma. Dans le cas d'un échantillon de sérum, on laisse le sang coaguler puis les hématies et le caillot de fibrine sont éliminés par centrifugation. Dans le cas d'un échantillon de plasma, le sang est collecté dans un tube contenant un anticoagulant et les hématies sont éliminées par centrifugation. La différence entre sérum et plasma tient au fait que le plasma contient la prothrombine et les autres facteurs de coagulation y compris le fibrinogène alors que le sérum en est dépourvu. Différents anticoagulants sont utilisés pour collecter les échantillons de plasma en fonction du test que l'on veut effectuer, ce sont : le citrate, l'EDTA ou l'oxalate, qui chélatent tous le calcium de sorte qu'ils inhibent la coagulation. L'héparine, qui agit en activant l'antithrombine III, est un autre anticoagulant couramment utilisé. Pour mesurer la glycémie, on ajoute du fluorure de potassium, qui est un inhibiteur de la glycolyse due aux hématies.

LES TECHNIQUES UTILISÉES EN CHIMIE MÉDICALE

La plupart des réactions de routine d'analyses chimiques médicales mettent en jeu la liaison entre une réaction chimique ou enzymatique et la production d'un produit coloré qui est mesuré par **spectrophotométrie d'absorption**. Différents composés absorbent la lumière à différentes longueurs d'onde; l'énergie de la lumière absorbée excite les électrons vers une orbitale instable (**Figure 48-4**). L'absorbance de la lumière à une longueur d'onde spécifique dans le domaine visible ou dans l'ultraviolet est directement proportionnelle à la concentration du produit final coloré et donc à celle de l'analyte dans l'échantillon. Ces analyses étaient autrefois effectuées manuellement, aujourd'hui, la plupart des tests sont automatisés et un même instrument peut effectuer de multiples tests sur un même échantillon.

En spectrophotométrie d'absorption, les électrons excités retournent à leur état fondamental par une série de petits sauts quantiques en émettant l'énergie absorbée sous forme de chaleur. Pour certains composés, les électrons retournent vers un état de plus faible énergie en un seul saut quantique, en émettant de la lumière de longueur d'onde plus élevée (de moindre énergie), que la lumière excitatrice. Il s'agit de fluorescence et la technique s'appelle **spectrophotométrie de fluorescence** ou **spectrophotofluorométrie**. L'échantillon est éclairé avec une lumière d'une longueur d'onde spécifique et on mesure la lumière émise perpendiculairement à la direction de la source excitatrice (voir **Figure 48-4**). Ici aussi, l'intensité de fluorescence est proportionnelle à la concentration du fluorophore et donc à la concentration de l'analyte. La fluorométrie permet à la fois une plus grande spécificité et une plus grande sensibilité de l'analyse. La spécificité est plus grande que dans le cas de la spectrophotométrie d'absorption car les longueurs d'onde d'absorption et d'émission sont toutes deux spécifiques du fluorophore, alors que dans le cas de la spectrophotométrie d'absorption, on ne peut fixer qu'une longueur d'onde, celle de la lumière absorbée. La fluorométrie est plus sensible car il est plus facile de détecter l'émission d'une petite quantité de lumière que son absorption.

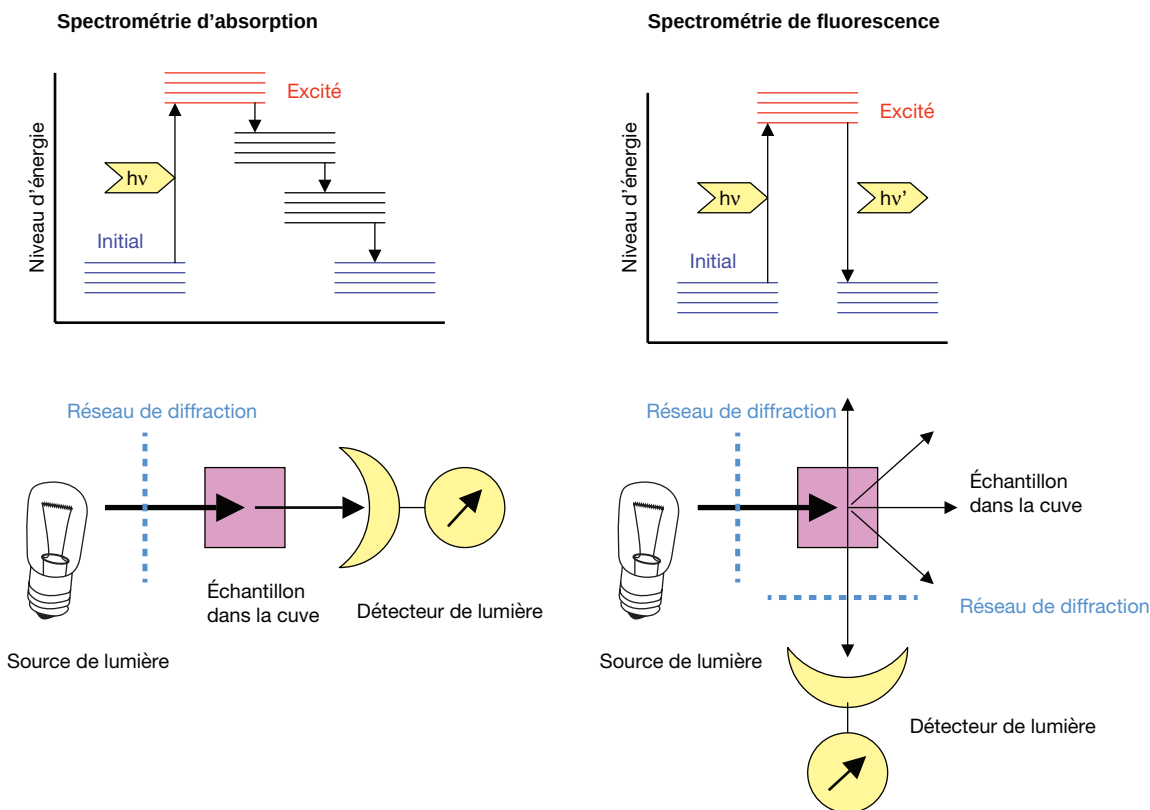


FIGURE 48-4 Spectrométrie d'absorption et de fluorescence. Dans la spectrométrie d'absorption, montrée à gauche, les électrons sont excités vers un niveau d'énergie supérieur par l'absorption de lumière, ils retournent ensuite à leur niveau d'énergie fondamentale par une série de petits sauts quantiques. L'énergie est libérée sous forme de chaleur. La différence entre l'intensité de la lumière d'excitation et celle transmise à travers l'échantillon, appelée absorbance, est proportionnelle à la concentration du matériel absorbant présent dans la cuve (et au trajet optique dans la cuve). Dans la spectrométrie de fluorescence, montrée à droite, les électrons excités retournent à leur état fondamental par un simple saut quantique. L'énergie est libérée sous forme de lumière d'énergie plus faible (de longueur d'onde plus grande) que la lumière d'excitation. L'intensité de la lumière émise, mesurée perpendiculairement à celle d'excitation, est proportionnelle à la concentration du matériel absorbant présent dans la cuve (et au trajet optique dans la cuve).

De plus en plus, que ce soit en recherche fondamentale et dans des centres spécialisés, de multiples analytes sont dosés dans un même échantillon en se servant de la **HPLC (Chromatographie Liquide à Haute Performance)** pour séparer les analytes, avant d'identifier les composés par détection colorimétrique, fluorométrique ou électrochimique, ou par spectrométrie de masse couplée. Ces méthodes sont à la base de la **métabolomique**, l'étude de l'ensemble des métabolites dans un même échantillon et de la **métabonomique**, l'étude des changements des analytes en réponse à un traitement médicamenteux ou expérimental quel qu'il soit.

Au départ, les **électrolytes** comme le sodium et le potassium étaient dosés par photométrie de flamme, en mesurant la lumière émise lorsque l'ion était introduit dans une flamme transparente. Le sodium donne une flamme jaune et le potassium une flamme violette. Aujourd'hui, ces ions et d'autres sont dosés avec des **électrodes spécifiques de ces ions**. Dans certains cas, les ions métalliques sont dosés par **spectrométrie d'absorption atomique**. L'échantillon est introduit dans une flamme et illuminé à une longueur d'onde spécifique. La lumière absorbée excite les électrons vers une orbitale instable et la quantité de lumière absorbée est directement proportionnelle à la concentration de l'élément dans l'échantillon comme dans le cas de la spectrophotométrie d'absorption.

Les enzymes en analyses chimiques médicales

Les enzymes sont importantes en analyse médicale pour trois raisons : pour doser les analytes d'un échantillon, pour doser l'activité des enzymes elles-mêmes dans un échantillon et pour tester le statut nutritionnel en vitamines.

L'utilisation d'une enzyme pour mesurer la concentration d'un analyte confère un haut degré de spécificité au test puisqu'en général une enzyme n'agit que sur un seul substrat ou sur une petite gamme de substrats étroitement apparentés, alors qu'une simple réaction chimique peut très bien répondre à divers analytes (pas forcément apparentés). Par exemple, comme le montre la Figure 48-3, divers composés réducteurs vont réagir avec un réactif cuivrique alcalin et donner un résultat faux positif pour le glucose, tandis qu'un test enzymatique utilisant la glucose oxydase ne donnera un résultat positif que pour le glucose et pas pour les autres composés réducteurs.

Quand une enzyme est utilisée pour détecter un analyte, le facteur limitant du test doit être l'analyte lui-même ; l'enzyme et les autres réactifs doivent être présents en excès. De plus la concentration de l'analyte dans l'échantillon doit être ajustée pour être inférieure au K_m de l'enzyme, de sorte qu'il y ait un changement important de la vitesse de réaction en cas de faible changement de concentration de l'analyte (région A dans la Figure 48-5).

Questions d'examen

Partie IX – Sujets spéciaux (A)

1. Quelle est parmi les entités suivantes, celle dont le taux sanguin va augmenter environ 1 à 2 heures après un repas riche en graisse?
 - A. Les chylomicrons
 - B. Les lipoprotéines de haute densité.
 - C. Les corps cétoniques
 - D. Les acides gras non estérifiés.
 - E. Les lipoprotéines de très faible densité.
2. Quelle est parmi les entités suivantes, celle dont le taux sanguin va augmenter environ 4 à 5 heures après un repas riche en graisse?
 - A. Les chylomicrons
 - B. Les lipoprotéines de haute densité.
 - C. Les corps cétoniques
 - D. Les acides gras non estérifiés.
 - E. Les lipoprotéines de très faible densité.
3. Parmi les définitions ci-dessous, laquelle correspond le mieux à l'indice glycémique?
 - A. C'est l'augmentation de la concentration sanguine du glucagon après la consommation d'une nourriture, par rapport à cette augmentation après consommation d'une quantité équivalente de pain blanc.
 - B. C'est l'augmentation de la concentration sanguine du glucose après la consommation d'une nourriture.
 - C. C'est l'augmentation de la concentration sanguine du glucose après la consommation d'une nourriture, par rapport à cette augmentation après consommation d'une quantité équivalente de pain blanc.
 - D. C'est l'augmentation de la concentration sanguine de l'insuline après la consommation d'une nourriture.
 - E. C'est l'augmentation de la concentration sanguine de l'insuline après la consommation d'une nourriture, par rapport à cette augmentation après consommation d'une quantité équivalente de pain blanc.
4. Parmi les aliments suivants, lequel aura l'indice glycémique le plus faible?
 - A. Une pomme cuite
 - B. Une pomme de terre cuite
 - C. Une pomme crue
 - D. Une pomme de terre crue
 - E. Un jus de pommes
5. Parmi les aliments suivants, lequel aura l'indice glycémique le plus élevé?
 - A. Une pomme cuite
 - B. Une pomme de terre cuite
 - C. Une pomme crue
 - D. Une pomme de terre crue
 - E. Un jus de pommes
6. Parmi les assertions suivantes concernant les chylomicrons, laquelle est CORRECTE ?
 - A. Les chylomicrons sont produits à l'intérieur des cellules intestinales et sécrétés dans la lymphe, où ils acquièrent les apolipoprotéines B et C.
 - B. Le cœur des chylomicrons contient du triacylglycérol et des phospholipides.
 - C. Les acides gras du triacylglycérol sont libérés par l'action de la lipase hormonosensible sur les chylomicrons, lorsque ces derniers sont liés à la surface des cellules endothéliales des capillaires sanguins.
 - D. Les résidus de chylomicrons diffèrent des chylomicrons par une réduction de taille et un contenu proportionnellement plus faible en triacylglycérol.
 - E. Les chylomicrons sont capturés par le foie.
7. Les stérols et les stanols des végétaux inhibent l'absorption du cholestérol à partir du tractus gastro-intestinal. Quelle est la proposition qui décrit le mieux leur mode d'action ?
 - A. Ils sont incorporés dans les chylomicrons à la place du cholestérol.
 - B. Ils entrent en compétition avec le cholestérol pour l'estérification dans la lumière intestinale, de sorte qu'il y a moins de cholestérol estérifié.
 - C. Ils entrent en compétition avec le cholestérol pour l'estérification dans les cellules muqueuses, et le cholestérol non estérifié est activement transporté hors de la cellule vers la lumière intestinale.
 - D. Ils entrent en compétition avec le cholestérol pour l'estérification dans les cellules muqueuses, et le cholestérol non estérifié n'est pas incorporé dans les chylomicrons.
 - E. Ils chassent le cholestérol des micelles lipidiques de sorte qu'il n'est pas disponible pour être absorbé.
8. Parmi les propositions suivantes sur le métabolisme énergétique, laquelle est CORRECTE ?
 - A. Le tissu adipeux ne contribue pas au taux métabolique de base (TMB).
 - B. Le niveau d'activité physique (NAP) est la somme des rapports d'activité physique des différentes activités quotidiennes, multipliés par le temps consacré à chaque activité, exprimé en multiple du TMB.
 - C. Le rapport d'activité physique (RAP) est le coût énergétique de l'activité physique quotidienne.
 - D. Le taux métabolique au repos (TMR) est la dissipation d'énergie de l'organisme endormi.
 - E. Le coût énergétique de l'activité physique peut être déterminé en mesurant le quotient respiratoire (QR) durant une activité.

Bender | Botham
Kennelly | Rodwell | Weild

Biochimie de Harper

L'ouvrage de biochimie de référence en études médicales !

Pour une compréhension claire des principes de biochimie en relation avec la médecine clinique

La 6^e édition française de *Biochimie de Harper* combine des illustrations en couleurs de grande qualité à un exposé intégré des maladies biochimiques et des données cliniques. Par sa concision et les nombreux exemples médicaux pertinents, cet ouvrage présente une revue claire et succincte des bases de la biochimie que tout étudiant doit comprendre pour réussir ses études médicales.

Les 58 chapitres mettent l'accent sur l'importance médicale de la biochimie

- ▶ Une présentation avec plus de 600 illustrations en couleurs
- ▶ Chaque chapitre inclut un paragraphe sur l'importance biomédicale et un résumé des thèmes abordés
- ▶ Des questions de révision à la fin de chacune des onze parties
- ▶ Des études de cas de patients dans chaque chapitre pour souligner l'importance clinique de la biochimie

▶ Parmi les NOUVEAUTÉS traitées : les acides aminés toxiques naturels ; les biomolécules extra-terrestres ; la conception de médicaments assistée par ordinateur ; le rôle de la cascade du complément en cas d'infections bactériennes ou virales ; les médiateurs sécrétés pour la signalisation intercellulaire entre les leucocytes ; le rôle des mastocytes, des basophiles et des éosinophiles ; le danger des antioxydants qui inhibent la signalisation pro-apoptotique en réponse aux espèces radicalaires, augmentant ainsi le risque de cancers.

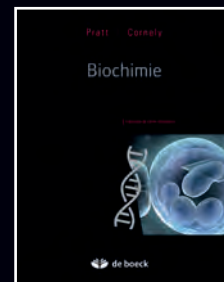
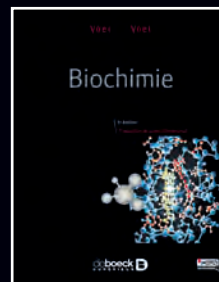
Consacrée par les étudiants pour son style direct et pédagogique, la *Biochimie de Harper* est un ouvrage de révision essentiel et certainement la meilleure référence couvrant les thèmes de la biochimie pour les études médicales.

Traduction de la 30^e édition américaine

Lionel Domenjoud est Maître de conférences à l'Université de Lorraine. Biologiste et embryologiste moléculaire de formation initiale. Il travaille actuellement sur les gènes cibles de facteurs de transcription impliqués dans la cancérogenèse, au sein de l'équipe de cancérologie STICMo du laboratoire du CRAN de l'Université de Lorraine.

- Un bon ouvrage pour se préparer aux examens
- Plus de 600 illustrations en couleurs
- Un paragraphe consacré à l'application biomédicale et un résumé des sujets
- Des questions de révision à la fin de chaque section
- Des études de cas cliniques mettent en évidence l'application clinique de la biochimie

Chez le même éditeur



deboeck
SUPÉRIEUR

ISBN : 978-2-8073-0724-7



NOTO
VERSION NUMÉRIQUE

<http://noto.deboecksuperieur.com> : la version numérique de votre ouvrage

- 24h/24, 7 jours/7
- Offline ou online, enregistrement synchronisé
- Sur PC et tablette
- Personnalisation et partage