

LES TROUBLES DU METABOLISME D'ACIDES AMINES

Dans un corps sain la principale source d'acides aminés pour la synthèse des protéines est l'apport alimentaire de protéines exogènes. Dans le tube digestif ces protéines sont hydrolysées par voie enzymatique et les acides aminés (AA) résultant passent dans le sang où ils seront piégés par le foie et d'autres tissus ; ils seront principalement utilisés pour la synthèse des protéines endogènes.

Le catabolisme d'AAs se produit principalement dans le foie et les reins par la réaction de transamination, couplée avec les réactions de désamination oxydative, en résultant l'ammoniac et des α -cétoacides. L'ammoniac est converti en urée et excrété, tandis que les α -cétoacides sont dégradés dans le cycle du Krebs, ou par des réactions spécifiques.

Les taux plasmatiques diurnes d'AAs varient d'environ 30%, étant plus élevés après le déjeuner. Les AAs du sang sont filtrés à travers la membrane glomérulaire, mais sont ensuite réabsorbés dans les tubules rénaux par un mécanisme de transport actif. L'élimination augmentée des AAs dans l'urine est appelée aminoacidurie, qui peut être primaire ou secondaire.

Aminoacidurie primaire

Il y a des mutations héréditaires des gènes d'ADN qui encodent des enzymes impliquées dans les voies métaboliques des AAs ou dans le système de leur réabsorption rénale. Ces mutations conduisent à des enzymes anormales qui bloquent les voies métaboliques normales de leurs substrats, avec une accumulation de substrats (acides aminés) ou d'intermédiaires métaboliques. Dans certains cas, ce blocage des voies normales guide l'AA sur d'autres voies qui produisent des composants de dégradation pathologiques.

Le diagnostic de ces maladies métaboliques peut être fait à trois niveaux:

- Révéler les mutations d'ADN;
- Mise en évidence des défauts enzymatiques;
- Mise en évidence des troubles métaboliques.

En clinique, le diagnostic est basé sur les troubles métaboliques.

Les symptômes et le pronostic des aminoaciduries primaires peuvent varier des formes bénignes (l'alcaptonurie) à des formes létales (la maladie des urines à odeur de sirop d'érable). Des exemples d'accumulation des précurseurs et des intermédiaires au effet toxique : l'accumulation des cétoacides dans la maladie des urines à odeur de sirop d'érable, ou de phénylalanine dans la phénylcétonurie.

Aminoaciduries secondaires

Habituellement, ces maladies affectent simultanément plus d'acides aminés et elles sont données par des troubles des organes actifs dans le métabolisme des AAs, tels que le foie ou les reins. Elles apparaissent également dans la famine avancée.

L'identification et le traitement des aminoaciduries secondaires sont faites à l'aide :

- du diagnostic chez le nourrisson ou l'enfant malade;
- des essais de routine sur le nouveau-né;
- du diagnostic prénatal.

Le diagnostic précoce de ces maladies est une condition obligatoire pour l'efficacité du traitement. Ces troubles sont soupçonnés quand un enfant ou un bébé vomit à plusieurs reprises,

a des troubles neurologiques ou du foie et ces troubles augmente avec l'augmentation de l'apport en protéines.

Comme méthodes d'investigation, sont couramment utilisées des tests qualitatifs ou semi-qualitatifs de nature chimique ou microbiologique, soulignant les AAs individuels ou métabolites intermédiaires spécifiques.

Dans les centres médicaux spécialisés on utilise des méthodes quantitatives pour déterminer avec précision l'AA ou le métabolite, méthodes qui utilisent des techniques modernes de spectrométrie de masse, spectrométrie infrarouge, la chromatographie liquide à haute pression (HPLC), etc. Dans le Tableau 1 sont données les principales aminoaciduries primaires:

Tableau 1. Aminoaciduries primaires

Aminoacide	Incidence	Enzyme	Excès	Excès dans	Symptômes	Traitement
durie		faute	dans le	l'urine	cliniques	
			sang			
Hyperphénylalaninémie	1:10.000	Phe hydroxylase	Phe	Phe et métabolites (phenyl-pyruvique phenylacetique)	Retard mental eczéma	Diète restrictive aux Phe
Tyrosinémie (Tyrosinose)	1:100.000	Fumaryl-acétoacétate hydrolase	Tyr, Met	Tyr et métabolites	Cirrhose hépatique, troubles rénales	Diète restrictive aux Phe, Tyr, Met
Alcaptonurie	1:250.000	Homogentisate oxydase	Acide homogentisique	Acide homogentisique	Arthrite dégénérative Pigmentation des cartilages	-
Homo-cystinurie	1:200.000	Cystathionine b-synthase	h-Cystéine Met	h-Cystéine; Met	Troubles oculaires, vasculaires, osseuses	Pyridoxine; Met β souplement de Cys
Cétoacidurie avec chaîne ramifiée (urine a odeur de sirop d'érable)	1:250.000	Cétoacide ramifié deshydrogenase	Leu, Val, Ile	Leu, Ile, Val et cétoacides correspondants	Acidose, vomissement, blocage respirateur. Evolution fatale	Diète restrictive en Leu, Ile, Val

I. Le test pour la phénylcétonurie. Détermination de l'acide phénylpyruvique dans l'urine

Les hyperphénylalaninémies sont un group de maladies due à l'altération du mécanisme de conversion de la phénylalanine dans la tyrosine. Dans ces conditions, le catabolisme du Phe est réalisé par une voie métabolique secondaire qui a comme produit principal l'acide phénylpyruvique. La concentration de l'acide phénylpyruvique dans le plasma et l'urine sera élevé, condition nommée **phénylcétonurie**.

L'identification précoce de la maladie est très importante pour éviter le retard mental.

Principe

En milieu acide, l'acide phénylpyruvique donne avec le chlorure ferrique une coloration bleu-vert foncée qui peut persister 2 – 4 minutes.

L'acide homogentisique (p-hydroxyphénylpyruvique) donne une coloration transitoire ressemblante.

Réactifs

1. Solution FeCl_3 : on dissout 10 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en eau distillée et on ajoute d'eau distillée jusqu'à 100 ml.
2. Solution acide phénylpyruvique 50 mg %

Mode opératoire

Introduisez, dans un tube à essai, 2 ml acide phénylpyruvique (filtrat urinaire acidifié avec 2 – 3 gouttes d'acide chlorhydrique concentré) et ajoutez 2 – 3 gouttes de solution FeCl_3 . Mélangez. L'apparition d'une coloration bleue – vert foncée qui persiste 2 – 4 minutes signifie un test positif.

La sensibilité de la méthode est de 10 mg %.

Interprétation des résultats:

L'acide phénylpyruvique ne peut pas être détecté dans l'urine des enfants (les nouveau-nés) qu'après 10 – 14 jours de la naissance, quand la concentration de la phénylalanine dans le sérum est 12 – 15 mg%. Chez les enfants avec phénylcétonurie la concentration urinaire d'acide phénylpyruvique est 50 – 100 mg%. L'excrétion d'acide phénylpyruvique est de 2 g/24 heures.

II. Le test pour la maladie de l'urine à odeur de sirop d'érable

Cette maladie est due à l'altération du catabolisme des acides aminés avec la chaîne ramifiée: leucine, isoleucine, valine. Le catabolisme normale implique la transamination des acides aminés à α -cétoacides et ensuite la décarboxylation oxydative qui produit des dérivés d'acyl-CoA.

L'altération génétique de l'étape de décarboxylation produit l'accumulation des ces acides aminés et des α -cétoacides dérivés dans le sang et l'urine. Dans l'urine, la concentration des α -cétoacides dérivés est très augmentée et l'urine a une odeur spécifique (sirop d'érable). Dans le sang, les taux des acides aminés ramifiés sont augmentés.

Réactifs:

1. Solution de 2,4 – dinitrophénylhydrazine (DNPH) 0,4 g/100 ml en HCl 1 N.

Mode opératoire:

Introduisez, dans un tube à essai, 1 ml urine et 1 ml solution DNPH. Laissez 10 minutes. Le test est positif si on obtient un précipité (dépôt) jaune (la hydrazone).

III. La détermination quantitative d'acide 5-hydroxyindolacétique (5-HIAA)

L'acide 5-hydroxyindolacétique est formé par la désamination oxydative du sérotonine (5-hydroxytryptamine, 5HT) et représente son métabolite urinaire (le produit d'excrétion). La sérotonine est une amine biogène qui est formée du tryptophane au niveau des cellules argentaffines du cerveau (dans l'hypothalamus) et d'intestin grêle (cellules argentaffines du fond des glandes de Lieberkühn). Les effets de la sérotonine sont: vasoconstriction sur les muscles lisses et neurotransmission dans le cerveau. Parce que la concentration plasmatique du sérotonine est très diminuée, la détermination du 5-HIAA urinaire est la méthode plus utilisée pour l'évaluation du métabolisme du sérotonine.

Principe:

Il est basé sur une réaction de diazotation de l'acide 5-hydroxyindolacétique avec α -nitroso β -naphtol et acide azoteux (HNO_2). Le produit de réaction donne une coloration pourprée.

Réactifs:

1. α -nitroso β -naphtol à 1% dans l'éthanol à 95 °C
2. Solution acide azoteux : mélanger 0,2 ml de nitrite de sodium – NaNO_2 à 2,5% et 5ml H_2SO_4 2 N. Préparer extemporanément.
3. Dichloro – 1,2 éthane
4. Solution étalon 5-HIAA: dissoudre 8 mg 5-HIAA dans l'eau distillée et ajouter d'eau distillée jusqu'à 100 ml.

Mode opératoire:

Dans 3 tubes à centrifuger introduire:

Réactifs (ml)	ECH (P)	ET (E)	TEM
Urine	0,4	-	-
Solution étalon 5-HIAA	-	0,4	-
H_2O distillée	1,6	1,6	2,0
α -nitroso β -naphtol	0,5	0,5	0,5
Acide azoteux	0,5	0,5	0,5

Mélanger et laisser au repos 10 minutes.

Ensuite ajouter:

Dichloro – 1,2 éthane	5	5	5
-----------------------	---	---	---

Agiter énergiquement 15 secondes et centrifuger 10 minutes à 3000 rpm et prélever la phase aqueuse que constitue le surnageant dans 3 tubes à essais.

Lisez l'absorptions E_P et E_E contre le témoin à $\lambda = 540 \text{ nm}$.

Calcul:

$$\text{mg 5-HIAA/100 ml urine} = \frac{E_P}{E_E} \times 8$$

Les resultats sont rendus en milligrammes par 24 heures en reportent la quantité obtenue, qui correspond à 100 ml urine, à la diurèse de 24 heures (environ 1500 ml).

Valeurs normaux:

2 – 9 mg 5-HIAA/24 heures

Variations pathologiques:

Il y a une production augmentée de sérotonine et de 5-HIAA pour le carcinoïde de l'intestin grêle, quand le quantité de 5-HIAA/24 heures > 100 – 220 mg

La variante de la méthode sans étalon:

Le mode opératoire est le même, mais utiliser seulement 2 tubes: la probe (P) et le témoin (T). L'étalon n'est pas utilisé.

Calcul:

$$\text{mg 5-HIAA/100ml urine} = E_P \times F$$

$$F = 32$$