

Exploration biochimique du pancréas exocrine

Dr BOUKHELKHAL

I/ Introduction : Le pancréas est un organe vital de l'organisme. Cet organe est une glande possédant plusieurs fonctions sécrétrices. Celles-ci sont notamment essentielles à la digestion des aliments et à la régulation de la glycémie.

Le pancréas est une glande allongée et aplatie mesurant en moyenne 20 centimètres de long et 2 centimètres de haut. Il pèse 60 et 80 grammes. Il a une couleur jaune rosée.

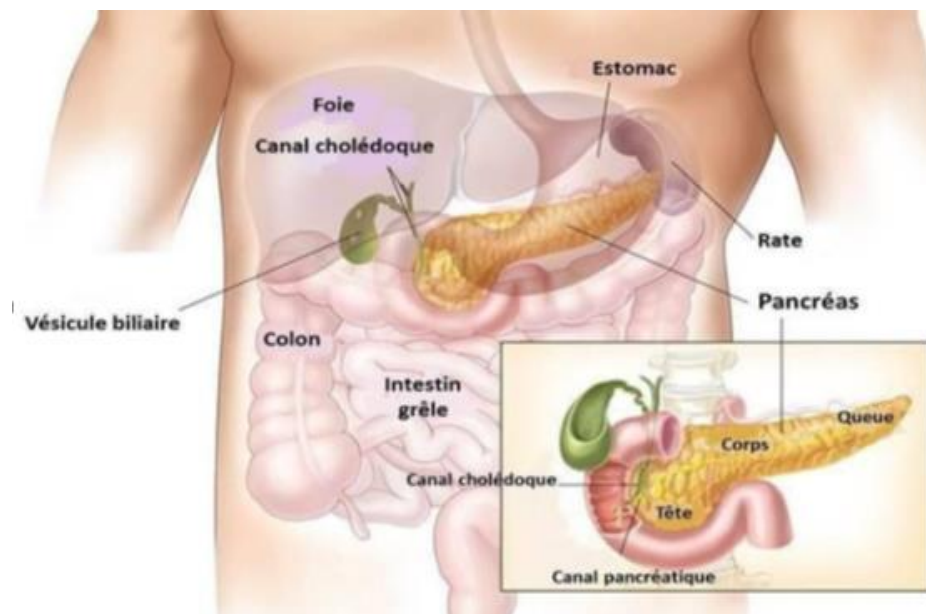
Le pancréas est un organe localisé au niveau de l'abdomen. Il est logé derrière l'estomac, il est en contact direct avec l'intestin, et à proximité de la rate.

Le pancréas a un double rôle physiologique :

1) Exocrine : Sécrétion dans le milieu extérieur (duodénum) des enzymes, de l'eau et des électrolytes pour la digestion et l'absorption.

2) Endocrine : sécrétion dans le milieu intérieur (circulation sanguine) des hormones : insuline / glucagon et somatostatine pour la régulation du métabolisme.

La destruction progressive du parenchyme pancréatique entraîne, à la longue, une destruction des cellules acineuses et endocrines qui va conduire à terme au déficit exocrine (malabsorption digestive avec stéatorrhée) et endocrine (diabète).



II/ Structure

Le pancréas est souvent présenté avec trois parties : la tête, le corps et la queue.

Le pancréas possède également deux canaux :

Le canal de Wirsung : Il constitue le conduit pancréatique principal. Il débute au niveau de la queue du pancréas et traverse toute la longueur de la glande. Avant d'arriver au niveau de la tête du pancréas, il forme un coude pour se diriger vers le duodénum.

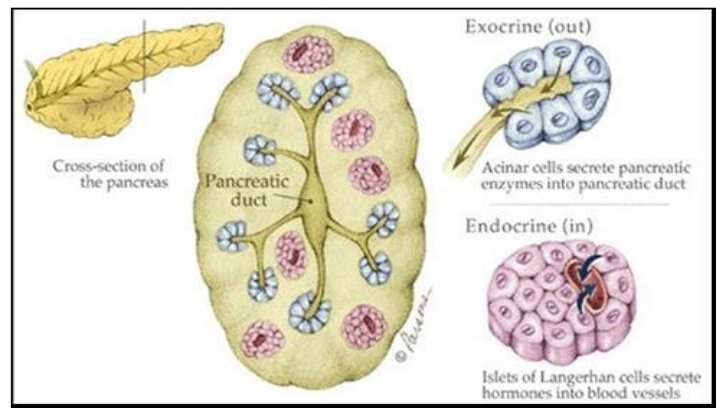
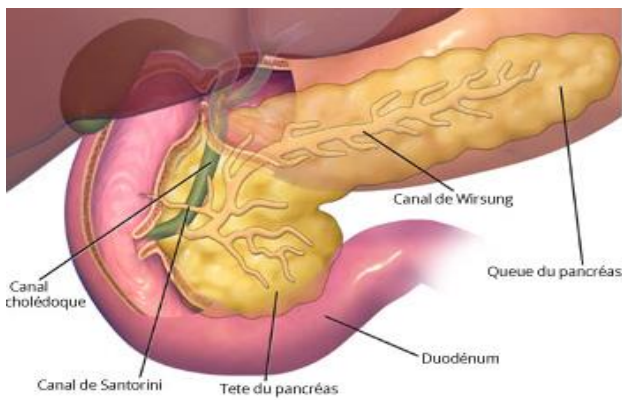
Le canal de Santorini : Ce canal pancréatique secondaire prend naissance au niveau du coude du canal de Wirsung, il traverse la tête du pancréas pour rejoindre le duodénum.

Le pancréas exocrine représente 80% de la glande. Les sécrétions sont excrétées par le canal de Wirsung et le canal de Santorini qui débouchent dans le duodénum au même endroit que le canal cholédoque qui achemine la bile en provenance du foie.

Les cellules du pancréas exocrine sont de deux types:

-Les cellules centro-acineuses: sécrétion d'eau et du bicarbonate.

-Les cellules acineuses: renferment des grains de zymogènes (enzymes et proenzymes); contiennent beaucoup de mitochondries, de réticulum endoplasmique. La sécrétion se fait par exocytose discontinue suite à une stimulation.



UNITÉS FONCTIONNELLES DU PANCRÉAS

80% de la masse glandulaire du pancréas → sécrétion exocrine

LOBULE PANCRÉATIQUE

CELLULE ACINEUSE → ENZYMES

CELLULE CENTRO-ACINEUSE → HCO₃⁻

CELLULE DUCTALE → HCO₃⁻ / CL⁻

III/ Rôle du pancréas exocrine :

- Permettre la digestion des macromolécules : sécrétion de protéases, lipases, amylase, nucléases.
- Neutraliser l'acidité gastrique : sécrétion de bicarbonates.

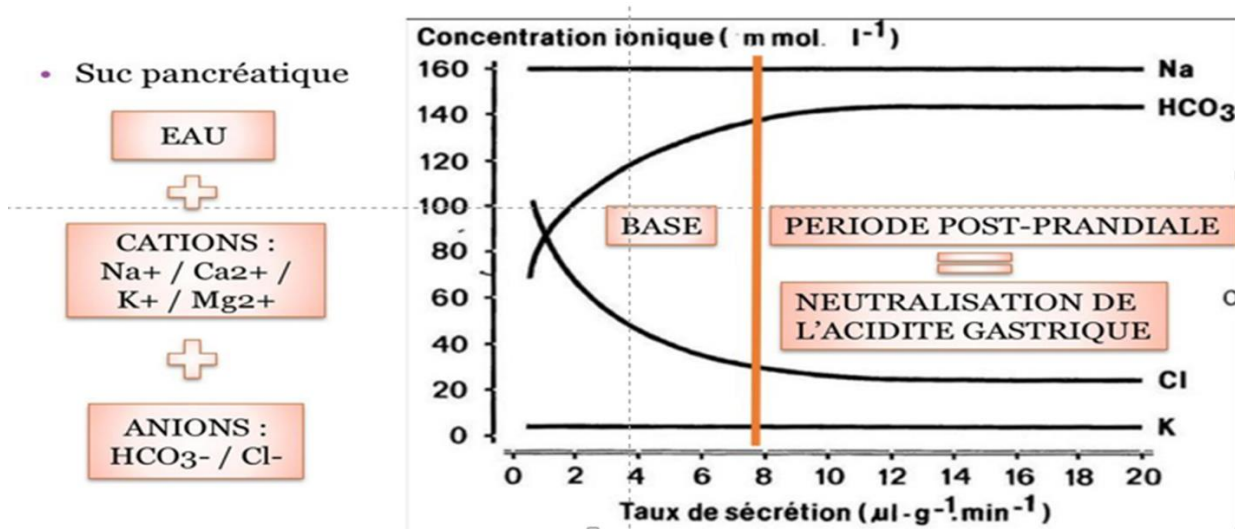
IV/ Étude du suc pancréatique : « Suc pancréatique » = 1500 à 4000 ml /24 H, incolore, aqueux, alcalin (PH =8), isotonique au plasma, production discontinue: liée à des stimuli, constitué de: Eau, Electrolytes (HCO₃⁻ (25-170 mmol/l), Na⁺, Cl⁻), Enzymes (stockées dans les grains de zymogènes et sécrétées dans les canaux excréteurs par exocytose)

1/ Les enzymes : Le suc pancréatique renferme 4 types d'enzymes :

- Enzymes protéolytiques : Trypsinogène, Chymotrypsinogène, Proélastase, Procarboxypeptidase A et B .
- Enzymes lipolytiques : Lipase, Pro-phospholipase A1-A2, Esterases
- Enzyme amylolytique : amylase
- Nucléase : Deoxyribonucléase (DNase) Ribonucléase (RNase)

2/ Les sécrétions hydro-électrolytiques : leurs rôles :

- Assurer l'excrétion des enzymes en évitant les précipitations
- PH duodéal favorable pour activité optimale des enzymes pancréatiques
- Neutraliser l'acidité gastrique (PH suc pancréatique 7.5 à 8.2)



3/ Régulation de la sécrétion

- .Contrôle nerveux : – Système parasympathique augmente les sécrétions
 – Système sympathique diminue les sécrétions
 – Innervation vagale → (bicarbonates)

.Contrôle hormonal++++ :

- La sécrétine : est un peptide de 27 acides aminés, est synthétisé dans des cellules endocrines de l'intestin grêle proximal . Il est libéré par le contact de l'acide avec la muqueuse duodénale. L'activité physiologique principale de la sécrétine est la stimulation de la sécrétion bicarbonatée du pancréas
- Cholécystokinine (CCK) : Hormone peptidique de 33 acides aminés dont la séquence est partiellement homologue de celle de la gastrine, sécrétée par la paroi du duodénum, lors de la digestion en présence de lipides, active la sécrétion des enzymes pancréatiques , la CCK provoque également la contraction de la vésicule biliaire, au début de la digestion.

Il y a la sécrétion basale continue faible, et il y a la sécrétion en réponse au repas.

V. Exploration biochimique

1 / Sur le suc pancréatique

Recueil de la sécrétion pancréatique après intubation et stimulation hormonale exogène (CCK et Sécrétine) : Analyse de débit et la composition, c'est une technique longue, délicate, et pénible, mais elle est considérée comme un test de référence pour la mise en évidence d'une insuffisance pancréatique.

2/ Sanguine et urinaire

2-1/Dosage de l'amylase : L'amylase est libérée par différents organes : glandes salivaires, le pancréas, les voies urogénitales. Le sérum contient 5 isoenzymes ayant la même séquence en acides aminés, le même poids moléculaire, mais différent par leur glycosylation et leur migration isoélectrique.

-Dosage de l'amylase = test d'urgence

L'échantillon: Sang veineux recueilli sur tube sec ou héparinate de lithium

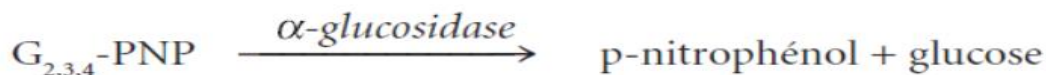
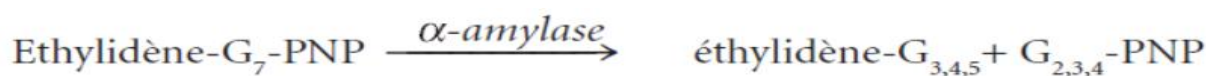
Urine fraîchement émise en cas de conservation → ramener le PH à 7

Les méthodes de dosage:

.La méthode enzymatique colorimétrique cinétique :

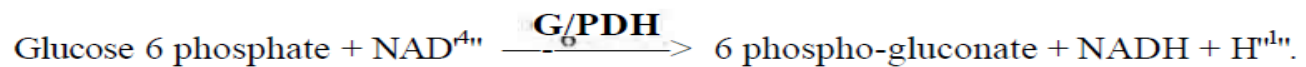
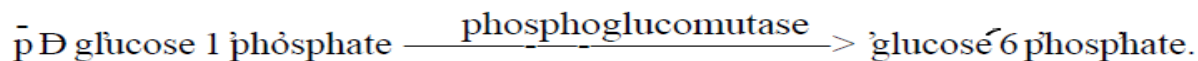
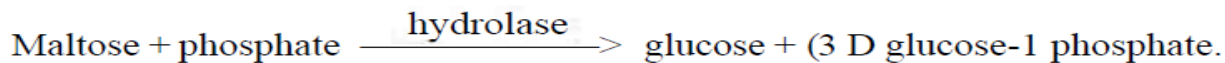
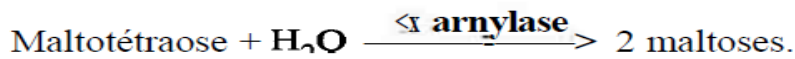
le substrat: 4,6-éthylidène-p-nitrophényl-, D-maltoheptaoside (éthylidène-G7-para-nitrophénol).

L'amylase hydrolyse le substrat maltoheptaoside en différents fragments. En présence d'α-glucosidase le G2-PNP, G3- PNP et G4-PNP, sont hydrolysés en para-nitrophénol (PNP) et en glucose.



La vitesse de formation du p-nitrophénol est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'α-amylase. On mesure l'augmentation de l'absorbance à 405- 409 nm.

.La méthode enzymatique cinétique UV :



La vitesse de formation du NADH est proportionnelle à l'activité catalytique de l' α -amylase. Elle est déterminée par mesure de l'augmentation d'absorbance à 340 nm.

Valeur normale: Sérum: 28-100 U/l Urine fraîchement émise: \leq 460 U/l

Variation pathologiques: Hyperamylasémie

-Pancréatite aigue: Cette augmentation se manifeste entre la 3^{ème} et 6^{ème} heure après le début de l'affection, atteint son maximum entre la 20^{ème} et la 30^{ème} heure et se normalise entre 2 à 3 jours.

L'amylasémie doit toujours être complétée par l'amylasurie car l'amylase est éliminée par les urines. Le décalage des signes urinaires est de 6 à 12 heures

L'amylase est moins spécifique et moins sensible, que la lipase.

Autres situations pathologiques: Les parotidites virales, perforation d'ulcères gastro-intestinaux ; occlusions intestinales hautes ; lithiase biliaire ; rupture de grossesse extra utérine.

Une augmentation de l'amylasémie peut aussi traduire un défaut d'élimination rénale par diminution de la filtration glomérulaire \rightarrow amylasurie basse

2-2/ Dosage de la lipase= test d'urgence

La lipase pancréatique, la plus importante, fonctionne en présence d'un cofacteur d'origine protidique, la colipase.

Elle dégrade les triglycérides du contenu intestinal en diglycérides puis en monoglycérides

L'échantillon: Sang veineux recueilli sur tube sec ou héparinate de lithium,

Les anticoagulants (formant des complexes avec le calcium comme l'EDTA), le citrate et le fluorure (qui interfèrent avec le dosage)ne doivent donc pas être utilisés.

La méthode de dosage : enzymatique colorimétrique cinétique

Le substrat chromogène de la lipase : 1,2-O-dilauryl-rac-glycéro-3- acide glutarique-(6-méthylrésorufine) ester est fragmenté par l'action catalytique de la solution basique de lipase pour former du 1,2-O-dilauryl-rac-glycérol et un acide glutarique instable intermédiaire (6-méthylrésorufine) ester. Ceci se décompose spontanément dans la solution basique pour former un acide glutarique et de la méthylrésorufine.

1,2-O-dilauryl-rac-glycéro-3-acide glutarique-(6-méthylrésorufine) ester



1,2-O-dilauryl-rac-glycérol + acide glutarique-(6-méthylrésorufine) ester

PH alcalin

acide glutarique + méthyl-résorufine

L'intensité de la couleur rouge obtenue est directement proportionnelle à l'activité de la lipase de l'échantillon Elle se mesure par l'augmentation de l'absorbance à 583 nm.

valeur normale : Sérum, plasma: 13-60 U/l

Variations pathologiques:

Les hyperlipasémies dans les pancréatites aiguës: Cette augmentation se manifeste entre la 3h et 6h après le début de l'affection, atteint son maximum entre la 15h et la 25h et se normalise entre 4 à 10 jours. La lipasémie est plus spécifique que l'amylasémie

Les hyperlipasémies dans les pancréatites chroniques ; les cancers de la tête du pancréas ; les atteintes hépatiques.

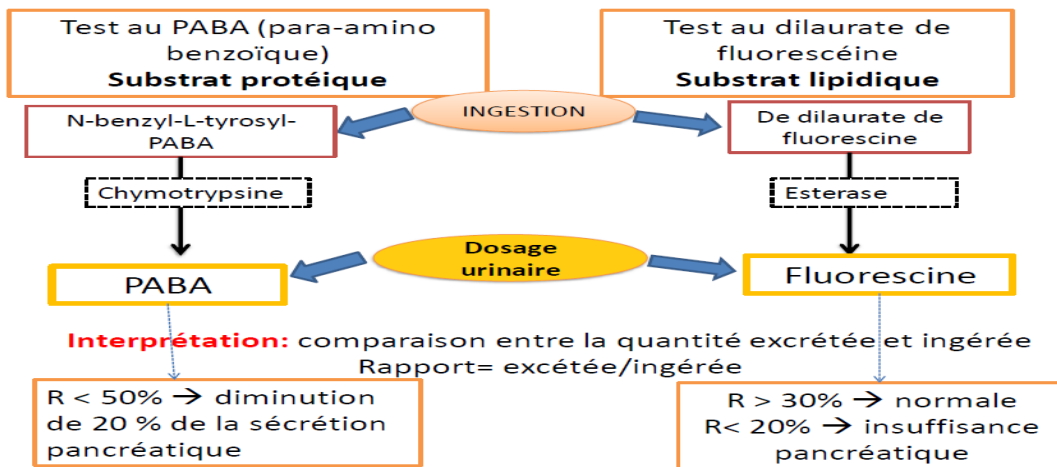
Les hypolipasémies: les premiers mois de la grossesse; les maladies infectieuses(tuberculose) ; l'évolution du diabète.

2-3/ Test de surcharge: permet de pallier aux inconvénients des tests directs (sur suc pancréatique) .

On donne au patient un substrat devant être digéré par les enzymes pancréatiques et on réalise des mesures dans le plasma (absorption) et dans l'urine (élimination).

-Le test au dilaurate de fluorescéine

-Le test au PABA (para-amino benzoïque)



3- tests fécaux : Mesure des graisses fécales :

Elle est réalisée sur 03 jours successifs après un apport lipidique suffisant 70 à 100 gr/24h

Sujet normal < 5 gr /24H

Sujet avec stéatorrhée ≥5g/24h qui peut être due soit à une insuffisance pancréatique ou malabsorption intestinale

→ le diagnostic différentiel par test isotopique : Trioléine* I 131, Acide oléique*

VI. Pathologies

1/ la pancréatite

Définition : Inflammation du pancréas associée à une lésion cellulaire => libération des protéases pancréatiques => autodigestion= pancréatite.

Elle se produit dans un spectre de gravité (allant de léger / à grave mettant la vie en danger) et un spectre de durée (attaque passagère rapide à la perte de fonction chronique irréversible)

La mortalité est 2 – 5 % => urgence médico-chirurgicale.

a) la pancréatite aiguë

-Clinique : Le début est brutal, douleur est quasi-constante au niveau épigastrique, Il y a une irradiation dorsale transfixiante. Elle est à type de crampe, associée à une fièvre, nausées et vomissements, ictère, oligurie ou anurie, état de choc, signes d'infection, voir hémorragie.

-Les étiologies : Mécanique (Lithiase biliaire +++, tumeur du pancréas, post-traumatique et post-opératoire), Métabolique (Alcool ++, hypertriglycéridémie majeure, hypercalcémie (hyperparathyroïdie, myélome)), Médicamenteux (Azathioprine, 6-mercaptopurine, acide valproïque), Infectieux (Virus de rougeole, CMV, HIV),

Divers (Maladies de système, mucoviscidose, idiopathique)

-Diagnostic : Le diagnostic positif de la PA repose sur l'association de signes cliniques et biologiques et radiologiques :

La biologie: L'association de douleur typique et l'élévation significative de la lipasémie (>3 fois la normale), l'amylasémie, et l'amylasurie permette de faire le diagnostic certain de la pancréatite aiguë.

Le bilan doit être complété par le dosage de : la glycémie(élevée), les transaminases (6 × normale),

la LDH (1.5 × normale) , la calcémie (<2 mmol /l)

On retrouve aussi un hématokrite diminué et des leucocytes supérieurs à 16000 elmts/mm3

b) la pancréatite chronique

-Définition : C'est une inflammation chronique continue du pancréas caractérisée par des changements morphologiques irréversibles : une destruction des canaux parenchymateux, une fibrose et une calcification.

-Clinique : Douleur pouvant durer plusieurs jours mois années, nausées, vomissements, amaigrissement causé par la malabsorption (diarrhée, Stéatorrhée), diabète (tardif avec atteinte du pancréas endocrine).

-Les étiologies : Alcool (90% des cas), tabac, la malnutrition, hyperparathyroïdie, obstruction chronique des canaux pancréatiques (tumeur, sténose, traumatisme), mucoviscidose, auto-immune, idiopathique

-Diagnostic biologique : Signes de cholestase (BRB, PAL, GGT) ↑ qui témoigne de la compression du cholédoque.

L'amylase et la lipase peuvent être augmentées au moment des poussées aiguës.

2/ L'insuffisance pancréatique

Définition : C'est un déficit sécrétoire lié à une destruction progressive du parenchyme pancréatique ou une obstruction des canaux pancréatiques ou bien à la combinaison des deux processus → malabsorption.

L'insuffisance pancréatique constitue en fait non pas une maladie mais un état pathologique. Elle est souvent associée à des maladies, comme : tumeur pancréatique, pancréatite chronique, mucoviscidose

L'insuffisance pancréatique = stéatorrhée + amaigrissement + déficit en vitamines liposolubles

3/ La mucoviscidose (fibrose kystique du pancréas)

-Définition : C'est une maladie génétique grave, dont la transmission est autosomique récessive.

Liée à une mutation du gène situé sur le chr 7 qui code pour la synthèse d'une protéine appelée CFTR (Cystic Fibrosis Transmembran conductor Regulator), cette protéine s'exprime au niveau de certaines cellules épithéliales (pancréas, épithélium bronchique, biliaire, intestinal et des glandes sudoripares) , et elle participe aux transports des ions Cl⁻, Na⁺ et de l'eau .

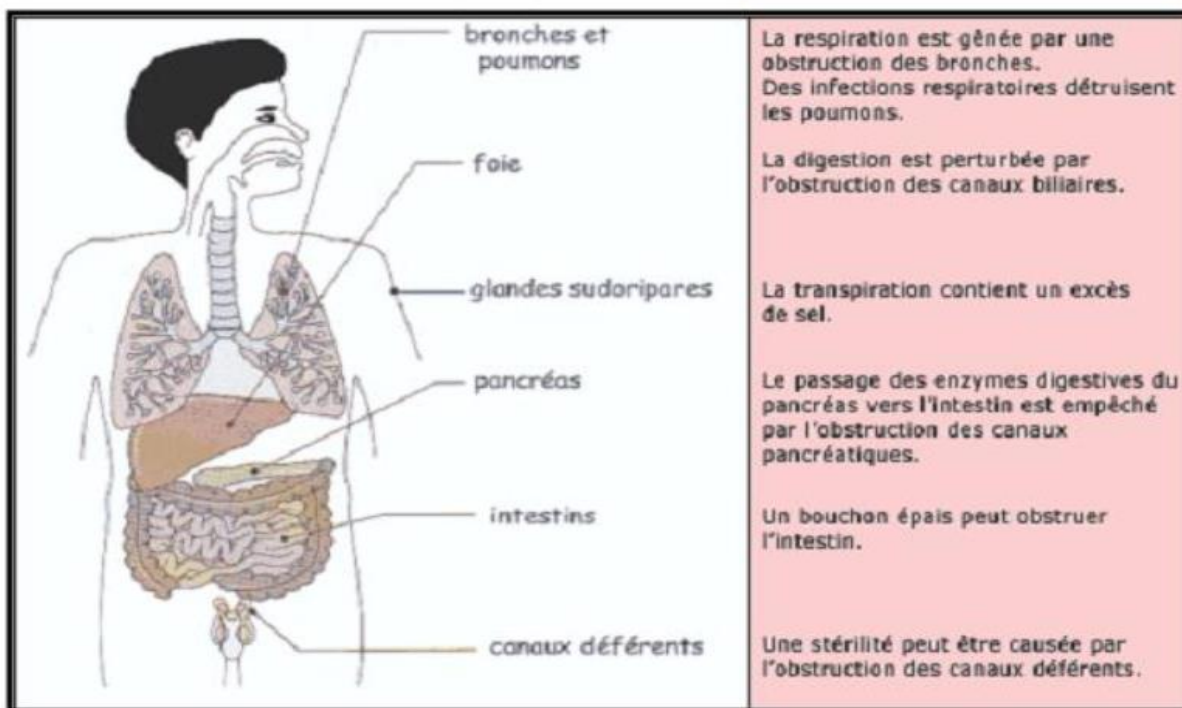
Ce transport donc est altéré , ce qui entraîne la formation d'un mucus particulièrement visqueux dans les cellules celui-ci va entraîner des troubles au niveaux de plusieurs organes, parmi ces troubles , on peut citer :

.une obstruction des bronches qui de graves troubles respiratoires,

.l'obstruction des canaux biliaires

.l'obstruction des canaux pancréatiques

Atteinte multiviscérale



-Diagnostic : Il repose sur l'association entre: Les signes cliniques, le test à la sueur, la recherche moléculaire de la mutation .

Test à la sueur : dosage du Chlore : On dose les chlorures sudoraux dans la sueur recueillie après stimulation galvanique indolore au niveau de l'avant-bras chez l'enfant .

4/ Le cancer du pancréas :

C'est un cancer des personnes âgées, ayant de plus de 60 ans ; il n'existe pas de causes exactes mais on sait que sa fréquence dépend de plusieurs facteurs tels que : tabac , diète , produits chimiques, hérédité, diabète, pancréatite chronique....

Clinique : douleurs, ictère, diarrhée, vomissement, perte de poids rapide et progressive

Biologie : signe de cholestase,

CA 19-9 et ACE élevés : leur importance réside dans le suivi du traitement et du pronostic.

Le diagnostic est posé par l'échographie abdominale.