

Le bilan lipidique en 2016

D. BONNEFONT-ROUSSELOT¹

RÉSUMÉ

Le bilan lipidique consiste en un ensemble d'analyses permettant de mettre en évidence des anomalies du métabolisme des lipoprotéines, et d'en optimiser la prise en charge diététique et si besoin thérapeutique. Il peut constituer un préalable à des explorations plus spécialisées qui nécessitent un dialogue clinico-biologique et qui ne seront pas abordées dans cette revue. Après avoir traité du dosage des paramètres entrant dans l'exploration d'une anomalie lipidique (aspect du sérum, cholestérol total, triglycérides, cholestérol-HDL, cholestérol-LDL) ainsi que du dosage des apolipoprotéines A-I et B, sont évoquées des analyses complémentaires pouvant être pratiquées afin de compléter l'interprétation d'une dyslipidémie. Quelques perspectives d'évolution du bilan lipidique sont enfin abordées, à la lumière d'études internationales.

MOTS-CLÉS : cholestérol, dyslipidémies, lipoprotéines, méthodes de dosage, triglycérides.

I. - INTRODUCTION

Selon la nomenclature des actes de biologie médicale, l'exploration d'une anomalie lipidique (EAL) permet de mettre en évidence des anomalies du métabolisme des lipides appelées dyslipoprotéïnémies. Celles-ci se traduisent par des variations des concentrations circulantes des lipoprotéines, formes de transport des lipides dans le sang et/ou par l'existence de lipoprotéines anormales (1). L'EAL représente une première étape, éventuellement suivie d'une étude plus approfondie conduisant au typage de la dyslipoprotéïnémie afin de préciser la cause de l'anomalie métabolique et d'assurer une démarche diététique et/ou thérapeutique appropriée (2). Il faut noter que ce typage ultérieur ne se limite pas à identifier une hyperlipoprotéïnémie selon les critères de la classification de Fredrickson et Lees (3), mais caractérise aussi une hypolipoprotéïnémie ou la présence de lipoprotéines anormales.

Le bilan lipidique met en œuvre des analyses classiques pratiquées toutes inscrites à la nomenclature des actes de biologie médicale. Il constitue un préalable à une exploration plus spécialisée nécessitant un dialogue clinico-

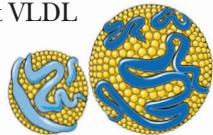
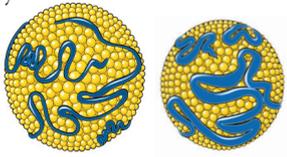
biologique. En-dehors de l'EAL usuelle, les dosages des apolipoprotéines A-I, B et de la Lp(a), ainsi que le lipoprotéinogramme sont susceptibles d'apporter un complément d'informations, notamment en présence d'hypertriglycéridémies importantes qui rendent certains dosages ou interprétations difficiles voire impossibles. Nous ne traiterons pas ici les explorations spécialisées, éventuellement dynamiques, permettant d'affiner le diagnostic des dyslipoprotéïnémies. Des évolutions possibles du bilan lipidique seront enfin discutées à la lumière d'études internationales.

¹ Service de Biochimie métabolique, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière-Charles Foix (AP-HP), 47-83 boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13.

Unité pédagogique de Biochimie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, 4 avenue de l'Observatoire, 75006 Paris.

UMR_S1166 Inserm ICAN - Université Pierre et Marie Curie, Bâtiment Benjamin Delessert, Hôpital de La Pitié, 83 boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13.

Tableau I - Classification des dyslipoprotéinémies familiales selon Fredrickson et Lees (3).

Type de dyslipidémie	Aspect du sérum (à jeun) Concentrations sériques de CT et TG	Fraction lipoprotéinique augmentée
I (hypertriglycéridémie exogène)	Lactescent (crémage) CT : N ou ↑ TG : ↑↑↑	Chylomicrons 
IIa (hypercholestérolémie essentielle)	Clair CT : ↑↑↑ TG : N	LDL 
IIb (hyperlipidémie mixte ou combinée)	Opalescent CT : ↑↑ TG : ↑↑	LDL et VLDL 
III (dysbetalipoprotéinémie)	Opalescent CT : ↑↑ TG : ↑↑	IDL 
IV (hypertriglycéridémie endogène)	Opalescent CT : N ou ↑ TG : ↑↑	VLDL 
V (hypertriglycéridémie mixte)	Opalescent à lactescent CT : N ou ↑ TG : ↑↑↑	Chylomicrons et VLDL 

CT : cholestérol total ; TG : triglycérides ; N : concentration sérique normale ; flèches vers le haut : concentration sérique augmentée.
Les schémas des lipoprotéines sont issus de Servier Medical Art, mis à disposition selon les termes de la licence Creative Commons Attribution 3.0 France.

II. - EXPLORATION D'UNE ANOMALIE LIPIDIQUE (EAL) ET SES CONDITIONS DE RÉALISATION

En 2014, la nomenclature des actes de biologie médicale (http://www.codage.ext.cnamts.fr/codif/nabm/index_presentation.php?p_site=AMELI) a défini l'EAL (code 0996, chapitre 13) comme un « ensemble indissociable des analyses suivantes : aspect du sérum, concentration de cholestérol total, de triglycérides, de cholestérol-HDL et calcul de la concentration de cholestérol-LDL ». L'EAL doit être réalisée chez un sujet à jeun depuis 12 heures et dans du sérum (4). Il faut souligner que les analyses effectuées dans du plasma (obtenu à partir de sang collecté dans un tube contenant de l'héparine ou de l'EDTA), parfois préconi-

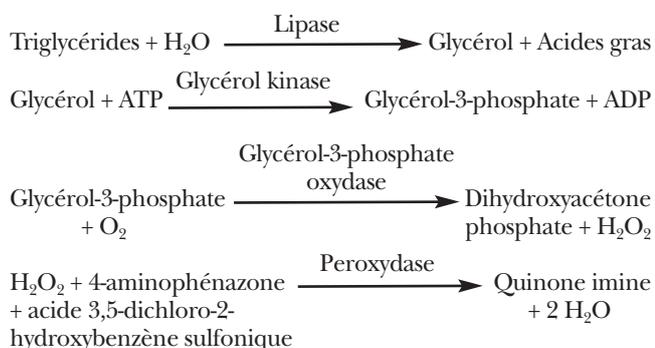
sées par les fournisseurs de réactifs, sous-estiment certains paramètres du bilan lipidique. En particulier, les anticoagulants abaissent la cholestérolémie de 2 à 4,5 % et jusqu'à 23 % en cas d'hyperlipidémie (4) ; la concentration sérique de cholestérol-HDL est en revanche peu modifiée, mais la sous-estimation pré-citée est critique pour le calcul et l'interprétation de la concentration de cholestérol-LDL.

Dans le cadre du dépistage d'une anomalie lipidique, les dosages du cholestérol total (CT) et des triglycérides (TG), lipides présents dans toutes les lipoprotéines mais en proportions différentes selon les classes de lipoprotéines, doivent toujours être réalisés simultanément ; la comparaison des résultats obtenus permet alors d'orienter vers un type ou un autre de dyslipoprotéinémie. Il convient

Le produit réactionnel (quinone imine) peut être dosé par colorimétrie en fonction du temps de la réaction (cinétique) ou au terme de celle-ci (point final) : c'est cette dernière approche qui est généralement choisie car elle est plus précise et moins coûteuse en réactifs (8). Si les réactions enzymatiques mises en œuvre pour l'hydrolyse des stérides et l'oxydation du cholestérol sont spécifiques (en raison de la trop faible concentration des autres stérols susceptibles d'interagir), la réaction de Trinder est sujette à des interférences en cas d'hémolyse, d'hyperbilirubinémie ou en présence de certaines substances réductrices comme l'acide ascorbique (9).

Si une hypertriglycéridémie accroît chez un sujet le risque de survenue d'une pancréatite aiguë, elle l'expose également à des complications cardio-vasculaires car elle est corrélée à une proportion accrue de LDL petites et denses connues pour leur « athérogénicité » (10). La valeur de la concentration de TG intervient également dans l'évaluation du C-LDL selon la formule de Friedewald (11). Il est donc nécessaire de disposer de mesures fiables afin de dépister efficacement une hypertriglycéridémie et de déterminer précisément la concentration en C-LDL. Ainsi, le NCEP a fixé un biais inférieur à 5 % et un coefficient de variation inférieur ou égal à 5 % pour cette analyse (12).

Le dosage des TG est fondé sur la mesure du glycérol libéré après action d'une lipase. Sa quantification consiste, après phosphorylation par une glycérol kinase et oxydation par la glycérol-3-phosphate oxydase, à mesurer le peroxyde d'hydrogène formé par la réaction de Trinder modifiée (13) :



Non seulement le glycérol provenant de l'hydrolyse des TG du sérum, mais aussi celui présent sous forme libre dans ce fluide, est ainsi dosé. Il faut donc se méfier de fausses hypertriglycéridémies liées à une hyperglycérolémie (14, 15). Les valeurs physiologiques du glycérol libre dépassent rarement 0,3 mmol/L (16), mais une élévation de sa concentration peut s'observer dans plusieurs circonstances pathologiques ou thérapeutiques :

- dans le déficit congénital en glycérol kinase, enzyme qui catalyse la conversion du glycérol en glycérol 3-phosphate. La glycérolémie peut alors atteindre des valeurs très élevées, supérieures à 10 mmol/L. Rare, de transmission récessive liée à l'X (le gène est situé sur le bras

court du chromosome X, au niveau de la région Xp21), le déficit est asymptomatique chez l'adulte et il est souvent diagnostiqué après plusieurs années de régime et de traitements inefficaces ; or cette pathologie ne nécessite ni traitement, ni surveillance particulière ;

- durant des troubles du rythme cardiaque et du diabète de type 2 déséquilibré, au cours desquels une glycérolémie allant jusqu'à 2-3 mmol/L peut être inconstamment observée ;
- lors de la prise de certains médicaments comme l'héparine (qui, en activant la lipoprotéine lipase, hydrolyse les triglycérides en libérant du glycérol), le glycérol (utilisé en osmothérapie lors de la prise en charge des œdèmes cérébraux, bien que le recours au mannitol ou autres solutions salines hypertoniques soit de plus en plus fréquent), les dérivés trinitrés, ... ;
- au cours de certains états physiologiques comme le jeûne.

Il revient alors au biologiste de détecter une fausse hypertriglycéridémie, notamment par l'aspect limpide du sérum (puisque un excès de glycérol ne modifie pas celui-ci), mais également par l'absence d'augmentation des VLDL ou pré- β lipoprotéines (lipoprotéinogramme). Un dosage du glycérol libre devra être pratiqué (grâce à un réactif dépourvu de lipase et donc ne permettant pas la libération de glycérol à partir des triglycérides) afin d'obtenir, par déduction du glycérol libre, la concentration de TG « vrais ». Si le biologiste ne dispose pas du réactif dosant spécifiquement le glycérol, il peut éventuellement détecter la présence de glycérol éliminé dans l'urine en quantifiant les « TG » urinaires, représentés par le seul glycérol ; mais cette approche ne permettra pas, bien sûr, de déterminer la concentration sérique réelle de TG.

C) Dosage du cholestérol-HDL

Le pronostic cardiovasculaire est très différent selon la part de cholestérol transporté par les deux fractions lipoprotéiniques majoritaires du sérum, HDL (anti-athérogènes) et LDL (athérogènes). Une concentration abaissée de C-HDL a été reconnue comme un facteur de risque cardiovasculaire indépendamment de la concentration de C-LDL (17) ; la valeur-seuil de C-HDL a toutefois été relevée en 2001 de 0,35 g/L (0,9 mmol/L) à 0,4 g/L (1 mmol/L) (18). En 2005, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé ou ANSM (alors Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, AFS-SAPS) mentionnait dans ses recommandations de « Prise en charge thérapeutique du patient dyslipidémique », qu'une concentration < 0,4 g/L (1 mmol/L) représente un facteur de risque cardiovasculaire à part entière ; à l'inverse, une concentration de C-HDL > 0,6 g/L (1,5 mmol/L) est considérée comme protectrice de ce risque (19). Afin d'assurer une fiabilité dans les valeurs de C-HDL, le NCEP a conseillé, pour les méthodes de dosage du C-HDL, un biais inférieur à 5 % et un coefficient de variation inférieur à 4 %.

La nomenclature des actes de biologie médicale prévoit un dosage du C-HDL « par une méthode enzymatique, standardisée et automatisable » ou un « dosage indirect du C-HDL dans le surnageant obtenu après précipitation des lipoprotéines contenant l'apolipoprotéine B » : aujourd'hui, le dosage direct est préférentiellement réalisé par les laboratoires (88 %) (20).

Les méthodes recourant à la précipitation dite « sélective » des lipoprotéines à apolipoprotéine B, sont moins employées pour le dosage du C-HDL : en effet, bien que simples à mettre en œuvre et peu coûteuses, elles nécessitent des précautions d'utilisation pour assurer leur fiabilité et ne sont pas totalement automatisables, ce qui diminue la reproductibilité inter-laboratoire. Leur principe est de précipiter sélectivement les VLDL et les LDL sériques grâce à un mélange de polyanions et de cations divalents ; il rend insoluble et agrège les lipoprotéines à apolipoprotéine B (VLDL et LDL), qui sont sédimentées lors d'une étape de centrifugation, puis le C-HDL est dosé dans le surnageant. Parmi les différents agents précipitants décrits (héparine/ Ca^{2+} ou Mn^{2+} , sulfate de dextran/ Ca^{2+} ou Mg^{2+} , acide phosphotungstique/ Mg^{2+} , PEG 6 000), l'acide phosphotungstique en présence d'ions Mg^{2+} avait été recommandé par la Société Française de Biologie Clinique (SFBC) et le Comité français de coordination des recherches sur l'athérosclérose et le cholestérol (ARCOL). La principale limitation de cette analyse est que la phase de séparation est manuelle, entraînant des coefficients de variation importants. En outre, certaines précautions doivent être respectées, notamment une centrifugation du sérum avec l'agent précipitant assurant un isolement correct après précipitation des lipoprotéines à apolipoprotéine B, et une séparation rapide du précipité de LDL-VLDL et du surnageant contenant les HDL, ce dernier devant être limpide.

Actuellement, les méthodes recommandées et les plus couramment utilisées sont des méthodes directes de dosage du C-HDL, dites techniques « homogènes », qui sont entièrement automatisées (21), ce qui les rend simples, précises et reproductibles. Dans ces méthodes, un premier réactif (R1) masque l'accessibilité des lipoprotéines possédant l'apolipoprotéine B au réactif du dosage du cholestérol (R2). En 1999, Egloff *et al.* (22) montraient que le réactif R1 contenait soit des sulfates d' α -cyclodextrine et de dextran (α -CD), soit des polyanions-détergents (PA-D), soit des anticorps anti- β -lipoprotéines (AC). Les méthodes α -CD et PA-D étaient linéaires pour des valeurs du C-HDL s'échelonnant de 0,35 à 2,3 g/L (0,9 à 6 mmol/L). La spécificité de ces méthodes avait été vérifiée en ajoutant des quantités variables de chylomicrons, VLDL et LDL isolés par ultracentrifugation séquentielle. Les résultats n'étaient pas modifiés par des ajouts de VLDL (TG < 7 g/L, soit 8 mmol/L pour α -CD et TG < 5,2 g/L, soit 6 mmol/L pour PA-D) et de LDL (C-LDL < 4,4 g/L, soit 11,5 mmol/L pour α -CD et C-LDL < 2,6 g/L, soit 6,7 mmol/L pour PA-D). Aucune interférence n'était constatée après addition de chylomicrons (TG < 11,7 g/L, soit 13,4 mmol/L). Actuellement, la plupart des laboratoires utilisent des

enzymes modifiées avec du polyéthylène glycol (PEG) (20). Ce type de méthode associe l' α -CD et des ions Mg^{2+} qui bloquent sélectivement les chylomicrons, les VLDL et les LDL, sans toutefois les précipiter. La spécificité d'action de la cholestérol esterase et de la cholestérol oxydase sur le C-HDL est ensuite assurée grâce à la liaison covalente du PEG avec ces enzymes, les empêchant d'accéder au cholestérol présent dans les lipoprotéines à apolipoprotéine B. La réaction colorée terminale repose sur la réaction du peroxyde d'hydrogène avec la 4-aminoantipyrine et un dérivé de la toluidine en présence de peroxydase (23).

En raison de l'apparition de nouvelles méthodes de dosage direct du C-HDL, l'ANSM a mis en place, entre 2004 et 2006, l'évaluation de 20 trousse de réactifs pour diagnostic sur 7 échantillons de sérum humain comprenant 0,2 g/L (0,56 mmol/L) à 0,9 g/L (2,46 mmol/L) de C-HDL (24). Le classement des méthodes prenait en compte les deux valeurs-seuils du C-HDL : 0,40 g/L (1 mmol/L) et 0,60 g/L (1,5 mmol/L), qui sont définies dans les recommandations sur la prise en charge du patient dyslipidémique. En effet, une erreur totale trop élevée sur les points du panel compris entre ces valeurs-seuils est susceptible de faire varier de 1 le nombre de facteurs de risque d'un patient et de ce fait, d'entraîner à tort un traitement ou l'absence de traitement pour celui-ci. Les résultats du rapport ont révélé que seulement 10 trousse testées répondaient aux critères fixés par le NCEP, cinq utilisant le principe d'immuno-inhibition, trois des polyanions et deux des accélérateurs détergents.

Plus récemment, Miller *et al.* (25) ont publié une comparaison de sept méthodes de dosage direct du C-HDL. Six d'entre elles respectent les critères fixés par le NCEP quant à l'erreur totale lorsque les sujets ne sont pas dyslipidémiques ; dans le cas contraire, aucune n'atteint ces objectifs en raison du manque de spécificité des méthodes à l'égard des lipoprotéines anormales. Stepman *et al.* (26) ont rapporté une différence pouvant atteindre 7 % entre deux méthodes testées, avec des biais souvent en relation avec la concentration de C-HDL.

Par ailleurs, il est précisé dans la nomenclature des actes de biologie médicale que, lorsque le dosage du C-HDL est < 0,30 g/L (0,77 mmol/L), le biologiste pourra contrôler ce résultat en pratiquant et cotant, à son initiative, le dosage de l'apolipoprotéine A-I en indiquant le motif de sa réalisation. En effet, le rapport de la Haute Autorité de Santé émis en 2008 (27) précise qu'il n'y pas lieu de contrôler systématiquement le C-HDL par un dosage de l'apolipoprotéine A-I.

D) Détermination du cholestérol-LDL

Le C-LDL est un élément clé du bilan lipidique, puisque les recommandations de l'ANSM prennent en compte sa valeur pour déterminer la prise en charge du risque cardiovasculaire d'un patient (note de cadrage de la Haute Autorité de Santé de juin 2015) (28). Ainsi, en prévention primaire, une fois le risque cardiovasculaire

global estimé, un traitement hypolipémiant est débuté si la concentration cible de C-LDL n'est pas atteinte après 3 mois de respect de règles hygiéno-diététiques (19), avec pour objectif de réduire d'autant plus le C-LDL (témoin de la présence de LDL, particules athérogènes) que le nombre de facteurs de risque du sujet est grand. Dans l'attente d'un outil d'évaluation du risque cardiovasculaire validé en France, celle-ci se fait en additionnant le nombre de facteurs de risque associés à sa dyslipidémie chez un individu (Tableau II). Ainsi, les valeurs cibles de LDL-C sont les suivantes :

- aucun facteur de risque : C-LDL < 2,20 g/L (5,7 mmol/L) ;
- un facteur de risque : C-LDL < 1,90 g/L (4,9 mmol/L) ;
- deux facteurs de risque : C-LDL < 1,60 g/L (4,1 mmol/L) ;
- plus de deux facteurs de risque : C-LDL < 1,30 g/L (3,4 mmol/L) ;
- haut risque cardiovasculaire (antécédents de maladie cardiovasculaire ; diabète de type 2 associé à une atteinte rénale ou à au moins 2 facteurs de risque cardiovasculaire ; risque > 20 % de faire un événement coronarien dans les 10 ans) : C-LDL < 1 g/L (2,6 mmol/L).

En prévention secondaire, pour les patients considérés à haut risque cardiovasculaire, le traitement médicamenteux est donc préconisé dès que possible, toujours en association aux règles hygiéno-diététiques, avec pour objectif un C-LDL < 1 g/L (2,6 mmol/L).

Par conséquent, une détermination la plus exacte possible du C-LDL s'impose. Rappelons que la méthode de référence est une méthode de β -quantification, non réalisée en routine ; elle se déroule en trois étapes : 1) ultracentrifugation du sérum à la densité de 1,006 (élimination des chylomicrons et VLDL de la phase supérieure) et dosage du cholestérol dans la phase sous-nageante (contenant *Intermediate Density Lipoproteins* (IDL), LDL, HDL et lipoprotéine Lp(a)) ; 2) précipitation des lipoprotéines contenant l'apoB dans ce sous-nageant (soit, IDL, LDL et Lp(a)), par addition d'un mélange héparine/Mn²⁺ ; 3) quantification du cholestérol dans la fraction supérieure (HDL). La concentration du C-LDL est alors calculée en soustrayant la concentration de cholestérol avant et après l'étape de précipitation (29). La fraction de C-LDL isolée par β -quantification contient donc également du cholestérol porté par les IDL et la Lp(a), lipoprotéines également athérogènes et dont la concentration peut être augmentée chez certains patients. Les caractéristiques souhaitables pour la détermination du C-LDL, définies par le NCEP, correspondent à un biais et un coefficient de variation inférieurs ou égaux à 4 % (12).

Comme indiqué dans la nomenclature des actes de biologie médicale, lorsque la triglycéridémie est < 3,4 g/L (3,9 mmol/L), le C-LDL est calculé par la formule de Friedewald (C-LDL = CT - C-HDL - C-VLDL) (11), le cholestérol lié aux VLDL étant estimé par TG/2,2 quand les éléments de la formule sont exprimés en mmol/L, ou par

Tableau II - Facteurs de risque cardiovasculaires associés à la dyslipidémie et devant être pris en compte pour le choix de l'objectif thérapeutique selon la valeur de C-LDL (19).

Facteurs de risque

- Âge

- Homme de 50 ans ou plus
- Femme de 60 ans ou plus

- Antécédents familiaux de maladie coronaire précoce

- Infarctus du myocarde ou mort subite avant 55 ans chez le père ou un parent du 1^{er} degré de sexe masculin
- Infarctus du myocarde ou mort subite avant 65 ans chez la mère ou un parent du 1^{er} degré de sexe féminin

- Tabagisme (actuel ou arrêté depuis moins de 3 ans)

- Hypertension artérielle permanente, traitée ou non

- Diabète de type 2, traité ou non

- C-HDL < 0,40 g/L (1 mmol/L), quel que soit le sexe

Facteur protecteur

C-HDL \geq 0,60 g/L (1,5 mmol/L) : soustraire alors "un risque" au score de niveau de risque.

Exemple : une femme de 60 ans ayant une concentration de C-HDL égale à 0,70 g/L (1,8 mmol/L) est considérée comme sans facteur de risque.

TG/5 s'ils sont exprimés en g/L. Les valeurs ainsi obtenues sont corrélées à celles obtenues par la β -quantification ; cette dernière, inapplicable en pratique quotidienne, est donc remplacée par ce calcul. Selon les Annales du contrôle de qualité des analyses de biologie médicale, la détermination du C-LDL par calcul était, en 2014, la méthode la plus répandue (82 %) dans les laboratoires de biologie médicale français (20). Toutefois, il est impératif de respecter la limitation de la valeur des TG à 3,9 mmol/L ; en effet, l'estimation de la concentration de C-VLDL serait faussée pour une concentration supérieure ou avec des échantillons comportant des chylomicrons. Ces échantillons hypertriglycéridémiques présenteraient en effet des VLDL enrichies en TG, donc de composition anormale, pouvant conduire à une surestimation du C-VLDL et ainsi à une sous-estimation du C-LDL (30). Par ailleurs, l'équation de Friedewald ne peut pas être utilisée chez les patients atteints d'hyperlipoprotéïnémie de type III (Tableau I), dyslipoprotéïnémie rare, caractérisée par une augmentation de la concentration des lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL) dont le rapport TG/Cholestérol est plus faible que celui des VLDL, aboutissant ainsi à une surestimation du C-LDL.

Martin *et al.* (31) ont proposé une nouvelle méthode de calcul du C-LDL, utilisant un facteur ajustable pour le rapport TG/C-VLDL (en remplacement du rapport fixe de 5/1 utilisé dans la formule de Friedewald lorsque les concentrations sont exprimées en g/L), qui conduirait au reclassement d'une fraction des patients. Cette approche

améliorerait l'évaluation du C-LDL lorsque celui-ci est situé dans la zone de 0,7 à 1 g/L (1,8 à 2,6 mmol/L), et que la triglycéridémie est > 1 g/L (1,1 mmol/L). Toutefois, ce nouveau mode de calcul, évalué dans une cohorte de 23 055 patients dont le C-LDL était également mesuré par la méthode de référence (β -quantification), surestime le C-LDL (alors que la formule de Friedewald le sous-estime) (32) ; il n'est donc pas certain qu'il améliore significativement la pratique clinique.

En raison de l'impossibilité de calculer le C-LDL quand la triglycéridémie est > 3,4 g/L (3,9 mmol/L), la nomenclature des actes de biologie médicale précise que « la formule de Friedewald ne peut plus être appliquée et que le biologiste peut réaliser et coter à son initiative :

- soit le dosage de l'apolipoprotéine B,
- soit le dosage de C-LDL par une méthode directe enzymatique automatisable »,
- un commentaire sur le compte rendu devant alors indiquer le motif de réalisation de l'un de ces deux actes.

Nous détaillerons plus loin le dosage de l'apolipoprotéine B qui permet, dans les conditions où la formule de Friedewald n'est plus applicable, d'estimer la concentration de particules pro-athérogènes. Toutefois, le rapport de la Haute Autorité de Santé (27) suggère qu'en présence d'une hypertriglycéridémie, des mesures hygiéno-diététiques soient initiées afin de diminuer la concentration en TG, permettant ainsi de calculer la concentration en C-LDL lors d'un bilan ultérieur.

Les méthodes de dosage direct du C-LDL (méthodes « homogènes ») mettent en œuvre, comme pour le C-HDL, des réactifs masquant dans un premier temps certaines lipoprotéines (chylomicrons, VLDL et HDL) et permettant dans un deuxième temps aux seules LDL de réagir avec les enzymes intervenant dans le dosage du cholestérol. Elles permettent d'obtenir des incertitudes de mesure plus faibles que celles obtenues par l'équation de Friedewald (qui cumule les incertitudes obtenues pour les trois dosages pris en compte dans le calcul) et ont l'avantage d'être automatisables et de ne pas être sujettes à interférence jusqu'à des concentrations en triglycérides de 10 g/L (11,4 mmol/L) (33, 34). Il est cependant recommandé de ne plus utiliser le dosage direct de C-LDL au-delà d'une valeur de 6 g/L (6,8 mmol/L) de TG (27).

Les méthodes actuelles peuvent globalement se répartir en deux groupes :

- celles ayant pour principe de bloquer les lipoprotéines autres que les LDL, afin que seul le cholestérol porté par les LDL soit dosé par une réaction enzymatique ;
- celles impliquant une catalase, dont le principe est d'oxyder dans un premier temps le cholestérol associé aux lipoprotéines autres que les LDL, l'utilisation de l'enzyme permettant de dégrader le peroxyde d'hydrogène formé lors de cette réaction, puis seul le cholestérol des LDL subit les réactions enzymatiques, autorisant son dosage spécifique. Ces méthodes « homogènes », automatisées totalement, présentent l'avantage de mesurer

précisément le C-LDL et de mieux contrôler la durée et la température de réaction (35, 36).

Comme pour le dosage du C-HDL, Miller *et al.* (25) ont étudié la variabilité des différentes méthodes de dosage du C-LDL. Alors que les critères du NCEP sont généralement respectés sur des échantillons normolipidémiques (biais observé par rapport à la méthode de référence compris entre -6,8 et +1,1 %, ce qui peut notamment s'expliquer par l'usage du sérum pour le dosage direct de C-LDL et du surnageant après ultracentrifugation et précipitation pour la méthode de référence), aucune méthode ne satisfait ces critères pour les échantillons dyslipidémiques (biais observé par rapport à la méthode de référence compris entre -11,8 % et +4,1 %). Toutefois, pour des patients hypertriglycéridémiques tels que des diabétiques (TG > 2 g/L, soit 2,3 mmol/L), Hirany *et al.* ont confirmé que les biais (par rapport à la méthode de référence) obtenus avec la méthode de dosage direct du C-LDL étaient < 1 %, alors que les biais obtenus avec la formule de Friedewald pouvaient atteindre 8 % (37). En pratique, les méthodes de dosage direct sont généralement fiables (38) et permettent de doser le C-LDL jusqu'à des concentrations de TG d'environ 7 g/L (8 mmol/L) (39).

E) Dosage des apolipoprotéines A-I et B

Du fait de leur spécificité de répartition dans les lipoprotéines, les apolipoprotéines A-I (apoA-I) et B (apoB) sont respectivement de bons marqueurs des lipoprotéines HDL anti-athérogènes et des LDL et VLDL athérogènes. Il faut noter que le dosage de l'apoB concerne très majoritairement l'apoB100 ; l'apoB48, retrouvée sur les lipoprotéines transporteuses de TG exogènes (c'est-à-dire les chylomicrons et leurs produits de l'hydrolyse de TG par la lipoprotéine lipase (*remnants*)), est en proportion beaucoup plus faible. Les dosages des apolipoprotéines A-I et B (non inclus dans l'EAL), automatisés, reposent sur des méthodes turbidimétriques ou néphélométriques mettant en jeu une réaction immunologique (antigène-anticorps) en milieu liquide. Une standardisation internationale a été initiée par l'*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC), aboutissant pour chaque apolipoprotéine au choix d'un standard primaire unique. Elle a été relayée en France par l'ARCOL, la Société Française de Biologie Clinique (SFBC) et le Syndicat de l'Industrie du Diagnostic *In Vitro* (SFRL) (40). Cette standardisation a permis une amélioration très sensible de la qualité des résultats et la proposition de ces dosages dans l'exploration des anomalies du métabolisme lipidique, en complément des analyses précédemment décrites, notamment lors de difficultés ou impossibilités rencontrées lors des mesures du C-HDL et/ou du C-LDL, ou lors de vérifications souhaitées. Toutefois, la Haute Autorité de Santé a restreint, en septembre 2008, la réalisation des dosages d'apolipoprotéines à certaines situations (27).

Ainsi, le dosage de l'apoA-I (code 1603, chapitre 13) sera utile pour contrôler des valeurs basses de C-HDL (< 0,30 g/L, soit 0,77 mmol/L) ou s'il y a suspicion d'une

interférence analytique (immunoglobuline monoclonale ou hyperbilirubinémie), et de façon plus spécifique, dans le cas de maladies génétiques rares (maladie de Tangier, dyslipidémies d'origine génétique,...) ou de formes extrêmes de dyslipidémies complexes (sur prescription médicale). De même, le dosage de l'apoB (code 1602, chapitre 13) est conseillé en cas d'hypertriglycéridémie élevée ($> 3,4$ g/L ou $3,9$ mmol/L) rendant impossible l'application de la formule de Friedewald pour le calcul du cholestérol-LDL. Il convient de mentionner que dans ces conditions, avec l'apoB (en g/L), le cholestérol total et les triglycérides (en mmol/L), le C-LDL pourrait être calculé grâce la formule établie par Planella *et al.* ($C\text{-LDL} = (0,41 \times CT) - (0,32 \times TG) + (1,70 \times apoB)$) (41), mais celle-ci ne figure pas dans la nomenclature des actes de biologie médicale. Hormis ce cas d'hypertriglycéridémie, le dosage de l'apoB est indiqué, sur prescription médicale, dans le cas de maladies génétiques rares (dyslipidémies d'origine génétique,...) et de formes extrêmes de dyslipidémies complexes. Dans les cas de diabète, de syndrome métabolique, de résistance à l'insuline, de dyslipidémies génétiques, le rapport de la Haute Autorité de Santé, établi en 2008 (27), souligne l'intérêt de l'utilisation du dosage de l'apoB et éventuellement du rapport apoB/apoA-I, chez les patients. Plusieurs études avaient en effet révélé que l'apoB pouvait constituer un meilleur marqueur de risque cardiovasculaire que le C-LDL (42-44). Une méta-analyse incluant 233 455 sujets et 22 950 événements cardiovasculaires a montré que l'apoB, comparativement au C-LDL, était plus fortement associée au risque cardiovasculaire (risque relatif : 1,25 (intervalle de confiance 95 % : 1,18-1,33)) (45).

F) Valeurs usuelles

Des valeurs usuelles et pathologiques des lipides sériques sont rapportées dans le **tableau III**, selon les

recommandations américaines du NCEP *Adult Treatment Panel III* (46). Cette classification n'aborde pas les valeurs usuelles des apoA-I et B. Par comparaison, la classification de Fredrickson et Lees (**Tableau I**) (3) ne fait pas référence à la nature primitive (génétique) ou secondaire des dyslipidémies et ne donne aucune indication sur le C-HDL ni sur les apolipoprotéines. Les limites de la classification de Fredrickson tiennent au fait qu'elle ne recense qu'incomplètement les hyperlipidémies et que certaines situations ne sont pas prises en considération telles que les hypo α -lipoprotéïnémies familiales (par exemple, la maladie de Tangier, dont la cause est une déficience en apoA-I avec une diminution du C-HDL), les anomalies de la synthèse des apoB ou les élévations de la lipoprotéine(a).

En pratique, les valeurs dites de référence correspondent à des limites descriptives obtenues dans un échantillon de population et elles varient en fonction de l'âge et du sexe (**Tableau IV**). Elles ont été établies à partir de la cohorte nancéenne Stanislas (9, 47-49) ; ce sont des limites descriptives déterminées dans une population de sujets supposés sains, sélectionnés selon les critères suivants : à jeun depuis 12 heures, sans obésité, fumant moins de 11 cigarettes par jour, consommant moins de 44 g d'alcool par jour (soit 0,5 L de vin), ne prenant pas de médicaments et, pour les femmes, de contraceptifs oraux ; les femmes enceintes ont également été exclues.

Chez un patient sans facteur de risque, le bilan lipidique suivant est considéré comme normal :

C-LDL $< 4,1$ mmol/L (1,60 g/L)

Triglycérides $< 1,7$ mmol/L (1,5 g/L)

C-HDL > 1 mmol/L (0,40 g/L)

En cas de valeurs anormales une confirmation est nécessaire.

Tableau III - Valeurs des lipides sériques selon les recommandations américaines (46).

Lipide sérique	Valeurs g/L (mmol/L)	Niveau de risque
Cholestérol total	< 2 ($< 5,2$) 2-2,39 (5,2-6,1) $\geq 2,4$ ($\geq 6,2$)	Normal Limite Élevé
Triglycérides	$< 1,5$ ($< 1,7$) 1,55-1,99 (1,7-2,2) 2-4,99 (2,3-5,6) ≥ 5 ($\geq 5,7$)	Normal Limite Élevé Très élevé
Cholestérol-HDL	$< 0,4$ ($< 1,0$) $> 0,6$ ($> 1,5$)	Élevé Bas
Cholestérol-LDL	< 1 ($< 2,6$) 1-1,29 (2,6-3,3) 1,3-1,59 (3,4-4,0) 1,6-1,89 (4,1-4,8) $\geq 1,9$ ($\geq 4,9$)	Normal Légèrement augmenté Limite Élevé Très élevé

Tableau IV - Valeurs de référence des paramètres du bilan lipidique en fonction de l'âge et du sexe (9, 47-49).

CHOLESTÉROL				
ÂGE	HOMME		FEMME	
	g/L	mmol/L	g/L	mmol/L
4-9 ans	1,16-2,32	3,00-6,00	1,22-2,43	3,15-6,30
10-14 ans	1,16-2,35	3,00-6,10	1,20-2,35	3,10-6,10
14-18 ans	1,12-2,16	2,90-5,60	1,16-2,39	3,00-6,20
18-25 ans	1,20-2,39	3,10-6,20	1,20-2,39	3,10-6,20
25-35 ans	1,31-2,70	3,40-7,00	1,31-2,51	3,40-6,50
35-45 ans	1,41-2,82	3,65-7,30	1,31-2,62	3,40-6,80
45-55 ans	1,51-2,93	3,90-7,60	1,37-2,98	3,55-7,70
55-65 ans	1,54-2,90	4,00-7,50	1,70-2,93	4,40-7,60
CHOLESTÉROL-LDL				
ÂGE	HOMME		FEMME	
	g/L	mmol/L	g/L	mmol/L
4-9 ans	0,89-1,54	2,30-4,00	0,79-1,45	2,05-3,75
10-14 ans	0,73-1,56	1,90-4,05	0,71-1,49	1,85-3,85
15-19 ans	0,44-1,35	1,15-3,50	0,62-1,62	1,60-4,20
20-29 ans	0,64-1,72	1,65-4,45	0,58-1,60	1,50-4,15
30-39 ans	0,79-1,70	2,05-4,40	0,68-1,72	1,75-4,45
40-49 ans	0,67-1,72	1,75-4,45	0,93-1,64	2,40-4,25
50-59 ans	0,93-1,76	2,40-4,55	0,93-1,62	2,40-4,20
60-69 ans	0,98-1,66	2,55-4,30	1,00-1,78	2,60-4,60
> 70 ans	1,02-1,74	2,65-4,50	0,83-1,64	2,15-4,25
CHOLESTÉROL-HDL				
ÂGE	HOMME		FEMME	
	g/L	mmol/L	g/L	mmol/L
4-14 ans	0,37-0,85	0,95-2,20	0,35-0,85	0,90-2,20
14-18 ans	0,37-0,81	0,95-2,10	0,33-0,93	0,85-2,40
18-45 ans	0,33-0,81	0,85-2,10	0,41-0,85	1,05-2,20
> 45 ans	0,31-0,73	0,80-1,90	0,41-0,95	1,05-2,45
TRIGLYCÉRIDES				
ÂGE	HOMME		FEMME	
	g/L	mmol/L	g/L	mmol/L
4-10 ans	0,22-1,23	0,25-1,40	0,26-1,23	0,30-1,40
10-14 ans	0,22-1,32	0,25-1,50	0,26-1,40	0,30-1,60
14-20 ans	0,22-1,45	0,25-1,65	0,26-1,36	0,30-1,55
20-40 ans	0,26-1,58	0,30-1,80	0,22-1,27	0,25-1,45
40-60 ans	0,35-1,58	0,40-1,80	0,31-1,67	0,35-1,90
apoA-I				
ÂGE	HOMME		FEMME	
	g/L		g/L	
4-10 ans	1,11-2,05		1,06-2,04	
10-14 ans	1,16-1,98		1,1-1,89	
14-18 ans	1,0-1,88		0,95-1,99	
18-25 ans	1,03-1,85		1,09-2,06	
25-35 ans	1,20-1,88		1,15-2,15	
35-45 ans	1,11-2,08		1,40-2,10	
45-55 ans	1,23-1,94		1,14-2,06	
apoB				
ÂGE	HOMME		FEMME	
	g/L		g/L	
4-10 ans	0,54-1,40		0,56-1,28	
10-14 ans	0,49-1,26		0,52-1,3	
14-18 ans	0,53-1,19		0,50-1,20	
18-25 ans	0,53-1,19		0,54-1,39	
25-35 ans	0,56-1,67		0,61-1,35	
35-45 ans	0,68-1,64		0,58-1,35	
45-55 ans	0,82-1,65		0,72-1,64	

Tout sujet ayant un cholestérol-LDL > 1,60 g/L (4,1 mmol/L) ou au moins un facteur de risque cardiovasculaire, doit bénéficier d'une prise en charge diététique, afin de modifier son mode de vie et son alimentation. Les objectifs thérapeutiques en fonction du nombre de facteurs de risque cardiovasculaire et de la valeur de cholestérol-LDL ont été exposés plus haut. Toutefois, ils ne s'appliquent pas à l'hypercholestérolémie familiale pour laquelle le risque vasculaire élevé peut justifier un traitement plus précoce.

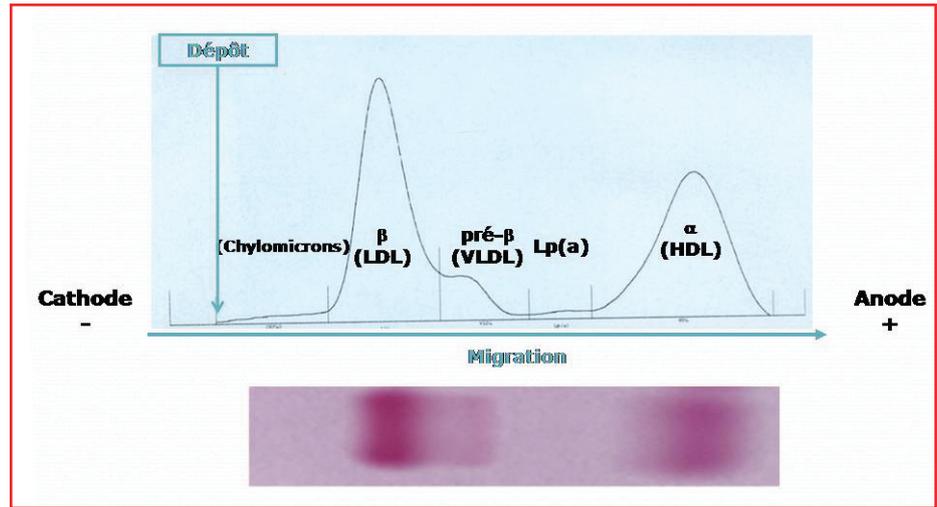


Figure - Lipoprotéinogramme d'un sujet normolipidémique obtenu après électrophorèse du sérum dans un gel d'agarose et coloration par le Fat Red.

III. - ANALYSES COMPLÉMENTAIRES DU BILAN D'EXPLORATION USUELLE

Il s'agit d'analyses ne figurant pas à la nomenclature des actes de biologie médicale, mais pouvant être effectuées pour compléter l'interprétation d'une dyslipidémie.

A) Dosage de la lipoprotéine Lp(a)

La lipoprotéine Lp(a) est composée d'une apolipoprotéine (a), homologue au plasminogène, liée à l'apoB d'une LDL par un pont disulfure. Dosée par des méthodes immunologiques recourant à un anticorps anti-apo(a) spécifique, sa concentration sérique est essentiellement génétiquement contrôlée, et la lipoprotéine Lp(a) constitue un facteur de risque athérogène (indépendant des autres facteurs de risque) lorsque sa concentration est > 0,30 g/L (50). Les traitements usuels qui abaissent le C-LDL, à l'exception du traitement par l'acide nicotinique (aujourd'hui retiré du marché français), ont peu d'effet sur la concentration en Lp(a).

La concentration de cholestérol réellement transportée par les LDL (C-LDL « vrai ») est calculée par la formule de Dahlen (51) qui prend en considération le cholestérol porté par la Lp(a), représentant 30 % de la lipoprotéine : $C-LDL = CT - C-HDL - C-VLDL - C-Lp(a)$. Cette formule est applicable dans les mêmes conditions que la formule de Friedewald (absence de chylomicrons et $TG < 3,9$ mmol/L ou $3,4$ g/L) : soit, selon que les éléments du calcul sont exprimés en g/L ou en mmol/L, respectivement $C-LDL = CT - C-HDL - (TG/5) - 0,3 Lp(a)$ et $C-LDL = CT - C-HDL - (TG/2,2) - 0,75 Lp(a)$. Toutefois, la modification de la formule de Friedewald afin de prendre en compte la concentration de Lp(a) dans le calcul du C-LDL ne semble pas améliorer l'évaluation du risque de maladie ischémique (52). La proportion de cholestérol lié à la Lp(a), pris en considération dans le dosage direct du C-LDL varie selon les méthodes utilisées (71 % à 87 % par la méthode Kyowa [α -cyclodextrine et dextran] ; 80 %

à 91 % par la méthode Daiichi [polyanions-détergents]) (30).

B) Lipoprotéinogramme (ou lipidogramme)

Le lipoprotéinogramme est une méthode de séparation électrophorétique des principales classes de lipoprotéines sériques. Il permet d'apprécier, de manière beaucoup plus aisée que la méthode de référence (ultracentrifugation), les proportions relatives des fractions lipoprotéiniques comparativement à un sérum normolipidémique. Les lipoprotéines sont séparées en fonction de leur charge (dépendante de la proportion de protéines) et sont révélées par un colorant spécifique des lipides. Il s'agit d'une analyse qualitative ou pseudo-quantitative des lipoprotéines (mesure densitométrique du colorant fixé par les lipides des lipoprotéines et non pas proportions réelles des lipoprotéines). La migration des fractions dans un gel d'agarose permet de mettre en évidence : les éventuels chylomicrons restant dans le puits de dépôt (normalement absents du sérum d'un sujet à jeun), les β -lipoprotéines (correspondant aux LDL), les pré- β -lipoprotéines (équivalent des VLDL), éventuellement la Lp(a) si sa concentration est suffisamment élevée, et les α -lipoprotéines (correspondant aux HDL) (Figure). L'intérêt de cette analyse est d'aider dans les cas d'interprétation délicate de l'exploration du métabolisme des lipoprotéines. Ainsi, en cas d'hypertriglycéridémie, le lipoprotéinogramme permet d'établir si l'élévation des TG circulants est liée à une augmentation de la proportion de pré- β -lipoprotéines (VLDL) et/ou à la persistance anormale de chylomicrons après 12 h de jeûne (types IV, I ou V de la classification de Fredrickson et Lees) (3) (Tableau I). Le lipoprotéinogramme contribue également, devant une augmentation concomitante de CT et de TG, à la différenciation des types IIb (fréquent) et type III (rare), ce dernier étant caractérisé par la présence d'une bande dite *broad β* (β large), correspondant aux IDL, lipoprotéines dont la densité est intermédiaire entre celle des VLDL et celle des LDL. Enfin, le lipoprotéinogramme permet la mise en évi-

dence de lipoprotéines particulières telles que la LPX dans les syndromes de cholestase (cette dernière indication n'étant bien sûr pas nécessaire pour le diagnostic).

IV. - PERSPECTIVES D'ÉVOLUTION DU BILAN LIPIDIQUE

Une note de cadrage de la Haute Autorité de Santé, datant de juin 2015 (28), précise les conditions de prise en charge de l'hypercholestérolémie pure et de l'hyperlipidémie mixte, et rappelle les recommandations françaises, qui se distinguent des recommandations européennes et américaines. En France, dans l'attente d'un outil d'évaluation du risque cardiovasculaire, trois niveaux de risque cardiovasculaire peuvent être définis chez un individu :

- faible : aucun facteur de risque associé à la dyslipidémie ;
- intermédiaire : au moins un facteur de risque associé à la dyslipidémie ;
- élevé :
 - antécédents de maladie cardiovasculaire avérée (prévention secondaire),
 - diabète de type 2 à haut risque cardiovasculaire (atteinte rénale ou ≥ 2 facteurs de risque),
 - risque $> 20\%$ de survenue d'un événement coronarien dans les 10 ans.

Nous avons vu les seuils de C-LDL pour la mise en œuvre des règles hygiéno-diététiques et/ou d'un traitement hypolipémiant.

Les recommandations européennes précisent l'objectif thérapeutique en fonction de la concentration de LDL-C suivant des niveaux de risque différents de ceux proposés dans les recommandations françaises (53) :

- faible : le LDL-C cible doit être $< 1,90$ g/L (4,9 mmol/L) ;
- modéré : le LDL-C cible doit être $< 1,15$ g/L (3,0 mmol/L) ;
- élevé : le LDL-C cible doit être < 1 g/L (2,6 mmol/L) ;
- très élevé : le LDL-C cible doit être $< 0,70$ g/L (1,8 mmol/L) ou réduit d'au moins 50 %.

Le traitement hypolipémiant sera débuté :

- en cas de non atteinte du C-LDL cible après suivi des règles hygiéno-diététiques chez les sujets à risque faible ou modéré ;
- d'emblée pour les sujets à risque élevé ou très élevé.

Les recommandations américaines (54) se démarquent des autres recommandations par l'absence de ciblage de C-LDL, arguant du fait que les niveaux cibles de C-LDL n'auraient pas été utilisés comme critère d'efficacité dans les essais cliniques randomisés sur les traitements hypolipémiants (en prévention primaire et secondaire). Cependant, les variations de C-LDL peuvent être mesurées pour évaluer la réponse et l'observance du traitement et des règles hygiéno-diététiques. Par ailleurs, les objectifs de concentration de C-LDL, fixés par les recommandations européennes (53), sont plus stricts que ceux qui avaient

été proposés par l'AFSSAPS (24). Une homogénéisation des pratiques pourrait être envisagée dans le futur et pourrait avoir des répercussions sur les analyses composant le bilan lipidique.

L'évaluation du cholestérol non-HDL (défini par : CT - C-HDL) pourrait être envisagée comme élément du bilan lipidique. Toutefois, selon le rapport de 2008 (27), la Haute Autorité de Santé ne pouvait pas conclure quant à l'utilisation du dosage du cholestérol non-HDL en pratique clinique. Elle considérait que ce dernier pourrait éventuellement être utilisé comme objectif secondaire et que des études cliniques complémentaires étaient souhaitables. Ce rapport indiquait aussi que l'utilisation de l'apoB pourrait être examinée en tant que facteur de risque cardiovasculaire supplémentaire, afin de l'incorporer ou non dans l'évaluation du risque chez des patients présentant un diabète ou un syndrome métabolique. Ridker (55) pense néanmoins que les difficultés d'évaluation du C-LDL pourraient être évitées en s'orientant vers cette mesure de cholestérol non-HDL, à la fois à des fins de criblage et pour l'évaluation thérapeutique. En effet, le cholestérol non-HDL ne dépend pas de l'estimation du C-VLDL et représente la mesure du cholestérol porté par les lipoprotéines à apoB, athérogènes (31) (VLDL, IDL, LDL, Lp(a)). Notons que le calcul du cholestérol non-HDL est indépendant de la triglycéridémie et pourrait donc être effectué sur un bilan non à jeun.

Des réflexions portent justement sur la réalisation d'un bilan lipidique non à jeun. En effet, la question de l'implication des TG dans le risque cardiovasculaire est importante (56). Ainsi, Assman *et al.* (57) ont étudié le risque d'infarctus du myocarde lié à une dyslipidémie n'impliquant pas le C-LDL. Dans ce but, 823 hommes âgés de 23 à 65 ans, ayant eu un premier infarctus myocardique, ont été comparés avec 823 sujets témoins de l'étude PROCAM, exempts de cette pathologie et appariés sur l'âge, le sexe, le tabagisme, le diabète, la pression artérielle et le C-LDL. Le risque de survenue d'infarctus du myocarde chez les hommes présentant des concentrations sériques de TG supérieures ou égales à 1,5 g/L (1,7 mmol/L) était 1,4 fois plus élevé par rapport à ceux dont la triglycéridémie était inférieure à cette valeur. Par ailleurs, chez 302 430 sujets (dont 12 785 manifestaient une maladie coronarienne), il a été montré que l'hypertriglycéridémie à jeun était liée à l'augmentation du risque d'infarctus du myocarde en analyse univariée, mais pas en analyse multivariée (58). Dans une étude prospective de 7 587 femmes et 6 394 hommes de la population générale de Copenhague, âgés de 20 à 93 ans et suivis pendant plus de 25 ans, des concentrations sériques élevées de TG non à jeun étaient associées à un risque accru d'infarctus cardiaque, de maladie ischémique et de décès, tant chez les hommes que chez les femmes (59). Les TG « non à jeun » constitueraient potentiellement un facteur de risque indépendant (60) ; ainsi, l'augmentation du risque associé à un accroissement de 1 g/L (1,14 mmol/L) de la concentration en TG était de 2,12 (1,66-2,70) en analyse univariée ($p = 0,001$) et de 1,67 (1,18-2,35) en analyse multivariée ($p = 0,004$) ; en

revanche, la différence n'était pas significative si l'on considérait les TG à jeun (1,11 [0,92-1,34] en analyse multivariée, $p = 0,30$). Cependant, bien qu'elle puisse constituer un élément d'estimation du risque cardiovasculaire (61), la mesure des TG en période post-prandiale n'est pas encore standardisée et il n'existe pas de valeur seuil. Des méthodologies fiables permettant d'évaluer les différents composants des lipoprotéines riches en TG en période post-prandiale s'avèreraient donc très utiles (61). La mesure de l'apoB48 (présente sur les chylomicrons et leurs *remnants*) est difficile car sa concentration est beaucoup plus faible que celle de l'apoB100. Une proposition pourrait être de quantifier le « cholestérol résiduel », par mesure du CT en période post-prandiale et en soustrayant le C-HDL et le C-LDL, afin d'apprécier le risque cardiovasculaire (56, 61). Ce paramètre inclut l'ensemble des lipoprotéines riches en TG, non seulement VLDL et chylomicrons mais aussi leurs *remnants* (62). Il a été montré qu'une augmentation de 1 mmol/L du cholestérol résiduel ainsi calculé était associée à une multiplication par 2,8 du risque de maladie ischémique (63).

IV. - CONCLUSION

Les dyslipidémies, et plus particulièrement les hypercholestérolémies, sont impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires. L'EAL permet de déterminer la part de cholestérol transporté par les fractions lipoprotéiniques athérogènes (C-LDL) et antiathérogènes (C-HDL), et la valeur de C-LDL entre directement dans les critères retenus par la Haute Autorité de Santé dans la prise

en charge des patients, en prévention primaire comme secondaire. Le C-LDL reste donc le paramètre recommandé pour la prise en charge des dyslipidémies, sur la base d'études observationnelles et d'essais cliniques (64). En France, le C-LDL est majoritairement calculé (avec respect impératif des conditions d'application de la formule de Friedewald) et il faut souligner qu'il peut ainsi être surestimé par rapport aux méthodes de dosage direct, de manière d'autant plus importante que la valeur de C-LDL est élevée (65). Une telle surestimation peut donc avoir des conséquences sur la prise en charge thérapeutique du patient dyslipidémique. Même si un cadre de dosage de l'apoB en France a été établi par la Haute Autorité de Santé, il est intéressant de noter que l'apoB est un indicateur du nombre de particules athérogènes, ce qui pourrait faire considérer l'apoB comme un meilleur marqueur pronostique de risque cardiovasculaire que le C-LDL, en particulier chez des sujets diabétiques ou « insulino-résistants » (64). Toutefois, qu'il s'agisse de l'apoB, du cholestérol non-HDL ou de la Lp(a), il est encore nécessaire de disposer d'essais randomisés et contrôlés avant de pouvoir les définir comme cibles pour l'optimisation des traitements hypolipémiants.

Remerciements : l'auteur remercie le Pr Eric Bruckert, chef du service d'Endocrinologie-Métabolisme des Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière-Charles Foix, pour sa relecture du manuscrit ainsi que les Drs Randa Bittar et Fouzi Mestari pour leurs discussions sur les valeurs de référence dans le cadre de l'EAL.

Conflit d'intérêt : aucun.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Ferrières J, Ruidavets JB, Perret B, Dallongeville J, Arveiler D, Bingham A, *et al.* Prévalence des dyslipidémies dans un échantillon représentatif de la population française. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005 ; **98** : 127-32.
- (2) Bonnefont-Rousselot D, Legrand A. Mise en évidence et exploration des dyslipoprotéinémies. In : Biochimie médicale : marqueurs actuels et perspectives. Durand G, Beaudoux JL, Paris : *Lavoisier* ; 2011 (2^{ème} édition), chap. 9, 139-64.
- (3) Fredrickson DS, Lees RS. A system for phenotyping hyperlipoproteinemia. *Circulation* 1965 ; **31** : 321-7.
- (4) Sassolas A, Cheillan D, Drai J, Bondon PJ, Cartier R. Peut-on prélever le bilan lipidique sur héparine ? *Ann Biol Clin* (Paris) 2004 ; **62** : 583-6.
- (5) Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM), Biochimie, mars 2012.
- (6) Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. The Expert Panel. *Arch Intern Med* 1988 ; **148** : 36-69.
- (7) Current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States: a report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. *Clin Chem* 1988 ; **34** : 193-201.
- (8) Srisawasdi P, Kroll MH, Lolekha PH. Advantages and disadvantages of serum cholesterol determination by the kinetic *vs* the end point method. *Am J Clin Pathol* 2007 ; **127** : 906-18.
- (9) Steinmetz J. Cholestérol total. In : *Références en biologie clinique*. Siest G, Henny J, Schiele F (Eds), Paris : *Elsevier* ; 1990 : 193-209.
- (10) Malloy MJ, Kane JP. A risk factor for atherosclerosis: triglyceride-rich lipoproteins. *Adv Intern Med* 2001 ; **47** : 111-36.
- (11) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972 ; **18** : 499-502.
- (12) Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. The National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. *Clin Chem* 1995 ; **41** : 1414-20.
- (13) Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem* 1982 ; **28** : 2077-80.
- (14) Walmsley TA, Potter HC, George PM, Florkowski CM. Pseudo-hypertriglyceridaemia: a measurement artefact due to glycerol kinase deficiency. *Postgrad Med J* 2008 ; **84** : 552-4.
- (15) Backes JM, Dayspring T, Moriarty PM. Pseudohypertriglyceridemia—verifying the hypertriglyceridemic patient. *J Clin Lipidol* 2013 ; **7** : 182-3.
- (16) Fodor E, Hellerud C, Hulting J, Karlson-Stiber C, Abrahamsson L, Nyström T, *et al.* Glycerol kinase deficiency in adult hypoglycemic acidemia. *N Engl J Med* 2011 ; **364** : 1781-2.
- (17) Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment Panel II). *JAMA* 1993 ; **269** : 3015-23.
- (18) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment Panel III). *JAMA* 2001 ; **285** : 2486-97.
- (19) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) (2005). Prise en charge thérapeutique du patient dyslipidémique, mars 2005.
- (20) Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM), Biochimie, février 2014.
- (21) Warnick GR, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clin Chem* 2001 ; **47** : 1579-96.
- (22) Egloff M, Légise D, Duwillard L, Steinmetz J, Boyer MJ, Ruelland A, *et al.* Évaluation multicentrique sur différents automates d'analyses de trois méthodes de dosage direct du cholestérol-HDL. *Ann Biol Clin* 1999 ; **57** : 561-72.
- (23) Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T, Uekama K, Kayahara N, *et al.* Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated α -cyclodextrin. *Clin Chem* 1995 ; **41** : 717-23.
- (24) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) (2007). Rapport du contrôle de marché des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de dosage du cholestérol-HDL, juin 2007.
- (25) Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, Bachmann LM, Caudill SP, Dziekonski A, *et al.* Seven direct methods for measuring HDL and LDL cholesterol compared with ultracentrifugation reference measurement procedures. *Clin Chem* 2010 ; **56** : 977-86.
- (26) Stepman HC, Tiikkainen U, Stöckl D, Vesper HW, Edwards SH, Laitinen H, *et al.* Measurements for 8 common analytes in native sera identify inadequate standardization among 6 routine laboratory assays. *Clin Chem* 2014 ; **60** : 855-63.
- (27) Haute Autorité de Santé. Rapport sur la place des dosages des apolipoprotéines A-I et B dans le bilan lipidique, septembre 2008, 106 pages.
- (28) Haute Autorité de Santé. Hypercholestérolémie pure et hyperlipidémie mixte : prise en charge, juin 2015, 19 pages.
- (29) Nakamura M, Kayamori Y, Iso H, Kitamura A, Kiyama M, Koyama I, *et al.* LDL cholesterol performance of beta quantification reference measurement procedure. *Clin Chim Acta* 2014 ; **431** : 288-93.
- (30) Contois JH, Warnick GR, Sniderman AD. Reliability of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B measurement. *J Clin Lipidol* 2011 ; **5** : 264-72.
- (31) Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, Toth PP, Kwiterovich PO, Blumenthal RS, *et al.* Comparison of a novel method *vs* the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA* 2013 ; **310** : 2061-8.
- (32) Meeusen JW, Lueke AJ, Jaffe AS, Saenger AK. Validation of a proposed novel equation for estimating LDL cholesterol. *Clin Chem* 2014 ; **60** : 1519-23.
- (33) Benlian P, Cansier C, Hennache G, Khallouf O, Bayer P, Duron F, *et al.* Comparison of a new method for the direct and simultaneous assessment of LDL- and HDL-cholesterol with ultracentrifugation and established methods. *Clin Chem* 2000 ; **46** : 493-505.
- (34) Bayer P, Veinberg F, Couderc R, Cherfils C, Cambillau M, Cosson C, *et al.* Évaluation multicentrique de quatre méthodes de dosage direct du cholestérol-LDL. *Ann Biol Clin* (Paris) 2005 ; **63** : 27-41.
- (35) Sugiuchi H, Irie T, Uji Y, Ueno T, Chaen T, Uekama K, *et al.* Homogeneous assay for measuring low-density lipoprotein cholesterol in serum with triblock copolymer and α -cyclodextrin sulfate. *Clin Chem* 1998 ; **44** : 522-31.
- (36) Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin Chem* 2002 ; **48** : 236-54.
- (37) Hirany S, Li D, Jialal I. A more valid measurement of low-density lipoprotein cholesterol in diabetic patients. *Am J Med* 1997 ; **102** : 48-53.
- (38) Ragland BD, Konrad RJ, Chaffin C, Robinson CA, Hardy RW. Evaluation of a homogeneous direct LDL-cholesterol assay in diabetic patients: effect of glycemic control. *Clin Chem* 2000 ; **46** : 1848-51.
- (39) Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Comparison of LDL cholesterol concentrations by Friedewald calculation and direct measurement in relation to cardiovascular events in 27,331 women. *Clin Chem* 2009 ; **55** : 888-94.
- (40) Steinmetz J, Cacès E, Couderc R, Beucler I, Legrand A, Henny J. Valeurs de référence des apolipoprotéines A-I et B. Contribution à la standardisation internationale. Travail collaboratif entre la SFBC et le SFRL. *Ann Biol Clin* 1997 ; **55** : 451-4.
- (41) Planella T, Cortés M, Martínez-Brú C, González-Sastre F, Ordóñez-Llanos J. Calculation of LDL-cholesterol by using apolipoprotein B for classification of nonchylomicronemic dyslipemia. *Clin Chem* 1997 ; **43** : 808-15.
- (42) Barter PJ, Ballantyne CM, Carmena R, Castro Cabezas M, Chapman MJ, Couture P, *et al.* Apo B versus cholesterol in estimating cardiovascular risk and in guiding therapy: report of the thirty-person/ten-country panel. *J Intern Med* 2006 ; **259** : 247-58.
- (43) Ballantyne CM, Raichlen JS, Cain VA. Statin therapy alters the relationship between apolipoprotein B and low-density lipoprotein cholesterol and non-high-density lipoprotein cholesterol targets in high-risk patients: the MERCURY II (Measuring Effective Reductions in Cholesterol Using Rosuvastatin) trial. *J Am Coll Cardiol* 2008 ; **52** : 626-32.
- (44) Martínez-Hervas S, Real JT, Priego MA, Carratalá A, Sniderman AD, Carmena R, *et al.* Establishing cut-off values for apolipoprotein B and non-HDL-C according to LDL-C values in a South European population. *Int J Clin Pract* 2013 ; **67** : 81-8.

- (45) Sniderman AD, Williams K, Contois JH, Monroe HM, McQueen MJ, de Graaf J, *et al.* A meta-analysis of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B as markers of cardiovascular risk. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2011 ; **4** : 337-45.
- (46) National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation* 2002 ; **106** : 3143-421.
- (47) Visvikis S. Triglycérides. In : Références en biologie clinique. Siest G, Henny J, Schiele F (Eds), Paris : Elsevier ; 1990 : 609-24.
- (48) Steinmetz J, Dardaine T. Cholestérol des HDL. Variations biologiques et valeurs de référence. In : Interprétation des examens de laboratoire. Valeurs de référence et variations biologiques. Siest G, Henny J, Schiele F (Eds), Basel : Karger ; 1981 : 155-69.
- (49) Steinmetz J, Parsy D. Apolipoprotéines A-I et B. In : Références en biologie clinique. Siest G, Henny J, Schiele F (Eds), Paris : Elsevier ; 1990 : 107-21.
- (50) Lamon-Fava S, Diffenderfer MR, Marcovina SM. Lipoprotein(a) metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2014 ; **25** : 189-93.
- (51) Dahlen G. Incidence of Lp(a) lipoprotein among populations. In : Lipoprotein(a). Scanu AM (Ed.), Academic Press, San Diego (CA) ; 1990 : 51-171.
- (52) Cantin B, Lamarche B, Després JP, Dagenais GR. Does correction of the Friedewald formula using lipoprotein(a) change our estimation of ischemic heart disease risk? The Quebec Cardiovascular Study. *Atherosclerosis* 2002 ; **163** : 261-7.
- (53) European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, *et al.* ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J* 2011 ; **32** : 1769-818.
- (54) Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, *et al.* 2013 ACC/AHA Guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014 ; **129** : S1-45.
- (55) Ridker PM. LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions. *Lancet* 2014 ; **384** : 607-17.
- (56) Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet* 2014 ; **384** : 626-35.
- (57) Assmann G, Cullen P, Schulte H. Non-LDL-related dyslipidaemia and coronary risk: a case-control study. *Diab Vasc Dis Res* 2010 ; **7** : 204-12.
- (58) Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, *et al.* Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA* 2009 ; **302** : 1993-2000.
- (59) Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA* 2007 ; **298** : 299-308.
- (60) Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA* 2007 ; **298** : 309-16.
- (61) Borén J, Matikainen N, Adiels M, Taskinen MR. Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor. *Clin Chim Acta* 2014 ; **431** : 131-42.
- (62) Ooi TC, Nordestgaard BG. Methods to study postprandial lipemia. *Curr Vasc Pharmacol* 2011 ; **9** : 302-8.
- (63) Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Jørgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2013 ; **61** : 427-36.
- (64) Dallmeier D, Koenig W. Strategies for vascular disease prevention: the role of lipids and related markers including apolipoproteins, low-density lipoproteins (LDL)-particle size, high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA₂) and lipoprotein(a) (Lp(a)). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2014 ; **28** : 281-94.
- (65) Reignier A, Sacchetto E, Hardouin JB, Orsonneau JL, Le Carrer D, Delaroche O, *et al.* Évaluation d'une méthode de dosage direct du LDL-cholestérol et de son impact potentiel en termes de prise en charge thérapeutique. *Ann Biol Clin (Paris)* 2014 ; **72** : 593-8.