

Physiopathologie de la sécrétion biliaire

Diapo 2

Fonctions hépatiques assurées par hépatocytes :

- Synthèse protéique (90% des protéines plasmatiques)
- Métabolisme des glucides et des lipides
- Détoxification (médoc et mol endogènes (bilirubine))
- Sécrétion biliaire (élimination et absorption intestinale des lipides)

- Hépatocyte est 1 cellule particulière dont le pôle apical est particulier (pôle canaliculaire). Il délimite des canalicules dans lesquelles sont sécrétées la bile. Un hépatocyte contient 2-3 pôles canaliculaires.
- Sécrétion de protéines vers le sang se fait au pôle baso-latéral.

Diapo 3 : Structure hépatique :

- Bile chemine en sens inverse du flux sanguin (de la veine centro-lobulaire vers l'espace porte, où elle est collectée par les canaux biliaires).
- Triade portale

Diapo 4 : Canaux Biliaires

- Canaux biliaires commencent à la bordure des espaces portes, au niveau des canaux de Hering. Puis formation d'un arbre biliaire de diamètre de + en + grand vers canal hépatique commun)
- Canaux proximaux sont les + petits (Hering et ductules).
- Petits canaux ne sont vus qu'à l'examen microscopique (biopsie ou échantillon opératoire du foie), tandis que les grands canaux peuvent être analysés par l'imagerie.

Diapo 5 : Arbre biliaire

Cf anat

- Canal cholédoque s'insère dans 2^{ème} duodénum par le sphincter d'Oddi

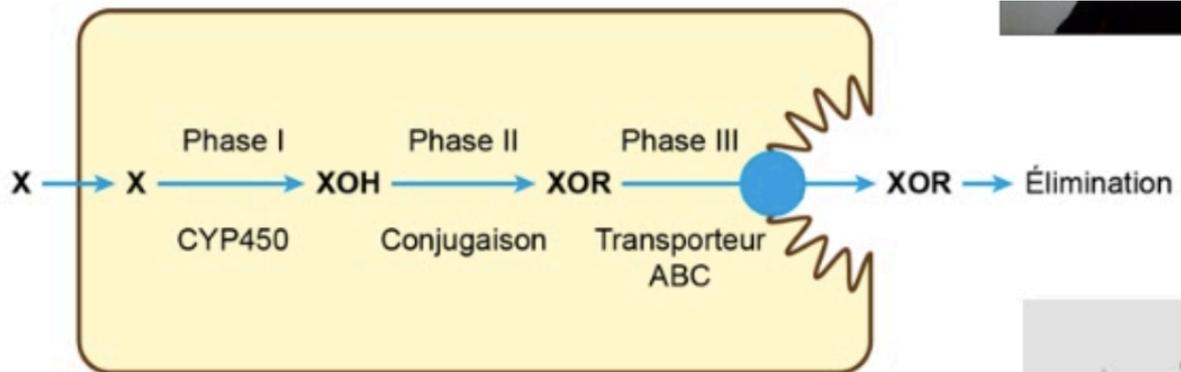
Diapo 6 : Flux biliaire

- Bile = + de 90% d'eau + constituants
- La sécrétion dans le canalicule des différents constituants va un gradient osmotique entraînant sécrétion d'eau dans le canalicule. Ce passage d'eau se fait par voie paracellulaire +++ ou aquaporines.
- Transport d'eau ne se fait que dans le sens de la sécrétion, au niveau des canalicules. En revanche, au niveau des ductules, le transport est bi-directionnel pour réguler le volum et le pH de la bile.
- Sécrétion biliaire a lieu pour 60% dans les hépatocytes : sécrétion canaliculaire (1 dpte des acides biliaires (gradient) et 1 flux canaliculaire indpt des acides biliaires (sécrétion d'autres constituants (conjugués d'anions organiques, etc...))
- 40% restants résultent d'une sécrétion ductulaire dans canaux biliaires et dans vésicule : absorption ou sécrétion d'eau + HCO₃⁻.

Diapo 7 : Fonction de détoxification :

Principales étapes de la détoxification

Molécules détoxifiées sont souvent lipophiles, entrent dans hépatocytes au pôle baso-lat (passivement ou via transporteurs), puis 2 phases de transformation pour les rendre + hydrophiles : 1 avec des enzymes de phase I (ajout de groupements hydroxyles, enzymes : CYP450 (hémoprotéines), 1 avec enzymes de phase II (phase de conjugaison : ajout de molécules hydrophiles (ex : glutation, glycine, torine, groupements acétyl, mathyl...). Ces molécules vont être transportées vers la bile par des protéines de phase III (ABC : 2x6 domaines tsmb, 2 domaines de liaison des nucléotides (ATP) permettant formation du pore pour transport du substrat).



Diapo 8 : Fonction de sécrétion biliaire

- Absorption intestinale des graisses alimentaires (caractère amphiphile)
- Excrétion de composés endogènes et de xénobiotiques (acides biliaires, CT, bilirubine, hormones ; médicaments, toxiques)

Diapo 9 : Mécanismes de sécrétion biliaire

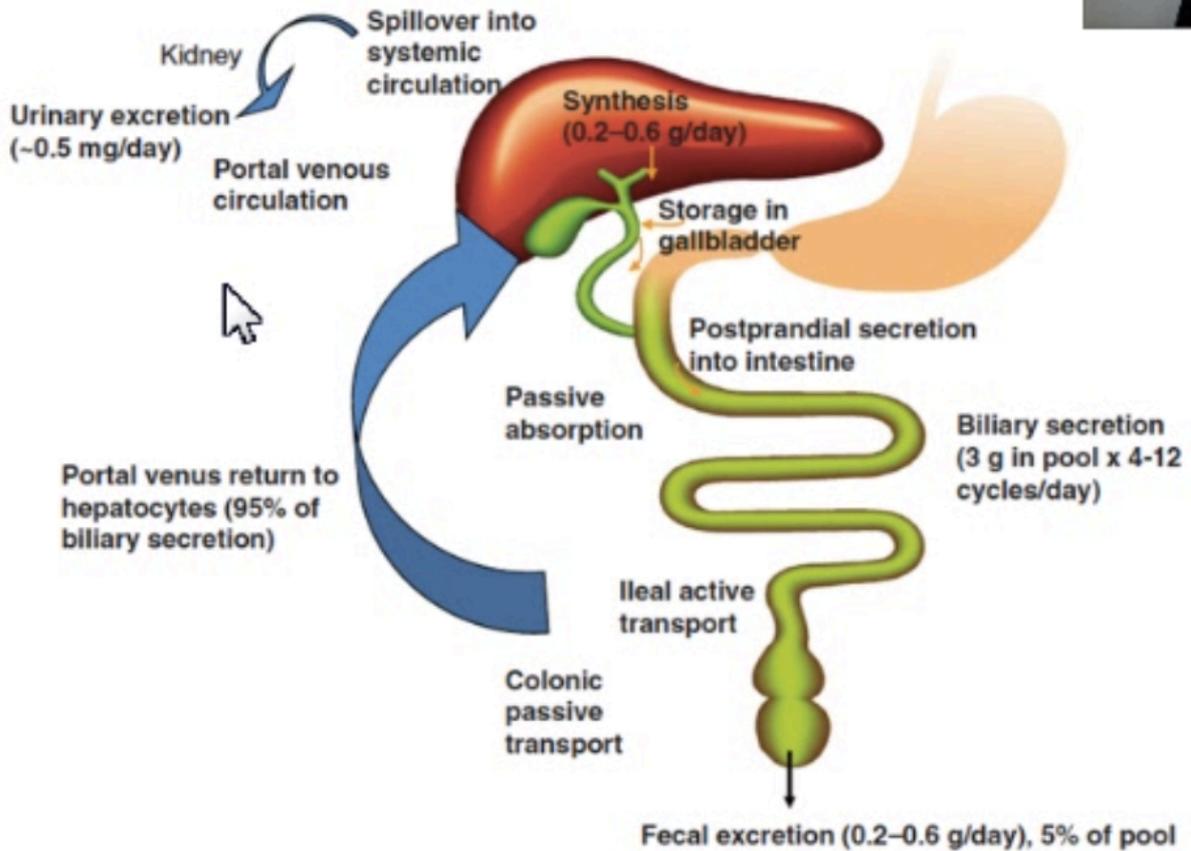
- Sécrétion canaliculaire : bile formée au pôle canaliculaire des hépatocytes. La sécrétion canaliculaire comprend une fraction dépendante et une fraction indépendante des acides biliaires
- Sécrétion épithéliale biliaire : sécrétion hydro-électrolytique et sécrétion de mucines

Les Acides biliaires

Diapo 11 : cycle entéro-hépatique des acides biliaires

- 23 types possibles d'acides biliaires
 - Sont des dérivés du CT. Ils subissent un cycle entéro-hépatique (seuls 2-4g d'acides biliaires sont synthétisés, en effet la grande majorité est absorbée par intestin et recyclée). Chaque acide biliaire fait 6-10 cycles/24h.
- 1) Synthèse dans canalicule biliaire + excrétion par gradient
 - 2) Transport jusqu'à la vésicule biliaire, pour stockage de la bile entre les repas
 - 3) Contraction de la vésicule biliaire (rôle de la cholécystoquinine), se déverse dans intestin
 - 4) Acides biliaires digèrent les graisses dans intestin (formation de micelles)
 - 5) Réabsorption dans le colon vers le foie

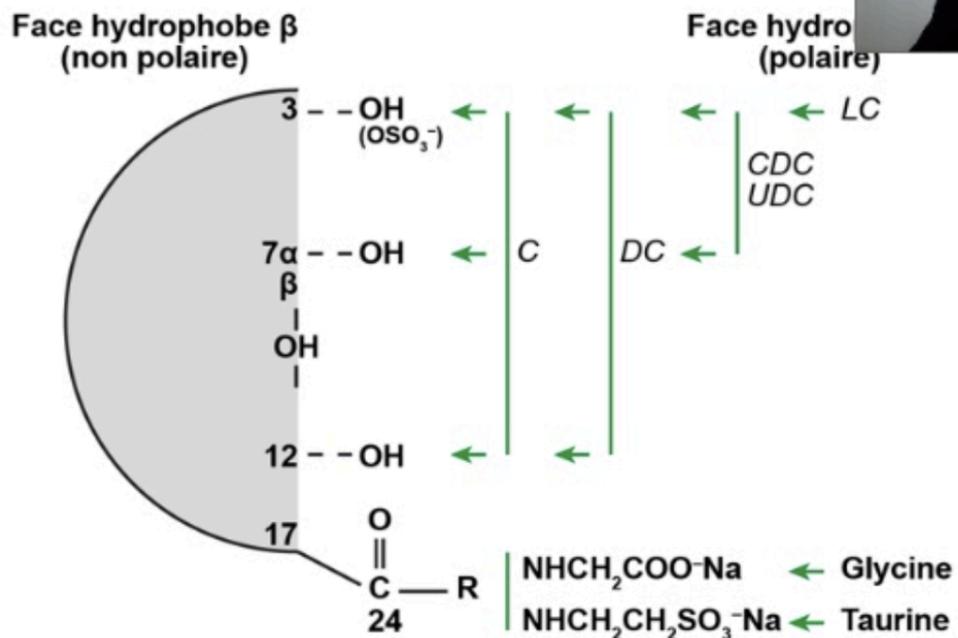
Les acides biliaires se retrouvent majoritairement dans les différents compartiments de ce cycle (foie, voies biliaires, intestin, veine porte)



Diapo 12 : Structure des acides biliaires

- Acides biliaires primaires C24 + groupements hydroxyles (synthétisés dans hépatocytes à partir du CT). CT est très hydrophobe +++, 4 cycles, C27 et 1 OH (3ème C). Acides biliaires se différencient : leur chaîne latérale est raccourcie de 4 carbones, la plupart des AB ont + d'un groupement hydroxyle (C3, C7, C12).
- Enzyme clé : CYP450 (hydroxylation (CYP 7A1) du CT en présence de NADPH, H+ pour former 7 hydroxycholestrol). Puis étapes suivantes pour réduire chaîne latérale (formation d'acide

cholique et acide chénodésoxycholique)



Diapo 13 : Synthèse des acides biliaires

- Dans intestin et iléon, sous effet des bactéries intestinales,

sont formés par déshydroxylation/déconjugaison les acide désoxycholique, acide lithocholique.

Diapo 14

- On aboutit à des molécules amphiphiles
- 99% des AB après synthèse, sont conjugués sur le C24 par addition d'une glycine ou d'une taurine.
- Degré d'hydrophobicité LCA>DCA>CDCA>CA>UDCA. Plus un AB est hydrophobe et + il risque de former des micelles et donc + il risque d'être toxique pour les membranes cellulaires.
- AB peuvent être selon leur pKa être protonés ou déprotonés.

Diapo 15 : composition du pool des AB

- AB primaires : cholique, désoxycholique
- AB secondaires :
- Dans Bile : cholate, chénodésoxycholate, deoxycholate
- Quasi tous conjugués (3/4 glycine, 1/4 taurine)

Diapo 16 / Nomenclature

Abbréviations	Acide biliaire	Sel biliaire	Hydroxyles
Primaires			
(G/T)CA	Acide (glyco/tauro)cholique	(glyco/tauro)cholate	3 α , 7 α , 12 α
(G/T)CDCA	A. (glyco/tauro)chénodésoxycholique	(glyco/tauro)chénodésoxycholate	3 α , 7 α
Secondaires			
(G/T)DCA	A. (glyco/tauro)désoxycholique	(glyco/tauro)désoxycholate	3 α , 12 α
(G/T)LCA	A. (glyco/tauro)lithocholique	(glyco/tauro)lithocholate	3 α
(G/T)UDCA	A. (glyco/tauro)ursodésoxycholique	(glyco/tauro)ursodésoxycholate	3 α , 7 β

Diapo 17 : transporteurs biliaires

Transporteur		Substrat	
Hépatocytaire – Canaliculaire			
ABCB1	Multidrug resistance 1	MDR1	export de cations organiques
ABCB11	Bile salt export pump	BSEP	export d'acides biliaires
ABCB4	Multidrug resistance associated protein 3	MDR3	export de phosphatidylcholine
ABCG5/G8			export de cholestérol
ABCC2	Multidrug resistance associated protein 2	MRP2	anions organiques (bilirubine, glutathion)
SLC4A2	Anion exchanger 2	AE2	échangeur chlorure / bicarbonate
Hépatocytaire – Basolatéral			
SLC10A1	Sodium-dependent taurocholate cotransporting polypeptide	NTCP	import d'acides biliaires
SLC01A2	Organic anion transporter	OATP	transport bidirectionnel d'anions organiques
ABCC3		MRP3	export d'a.biliaires et anions organiques
ABCC4		MRP4	export d'a.biliaires et anions organiques
Cholangiocytaire – Apical			
ABCC7	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	CFTR	canal chlore dépendant de l'AMPc
SLC4A2		AE2	échangeur chlorure / bicarbonate
Entérocytaire – Apical			
SLC10A2	Apical sodium-dependent bile acid transporter	ASBT	import d'acides biliaires
Entérocytaire – Intracellulaire			
FABP6	Ileum bile acid binding protein	IBABP	transport intracellulaire des a.biliaires
Entérocytaire – Basolatéral			

Diapo 18 : Récepteurs des acides biliaires

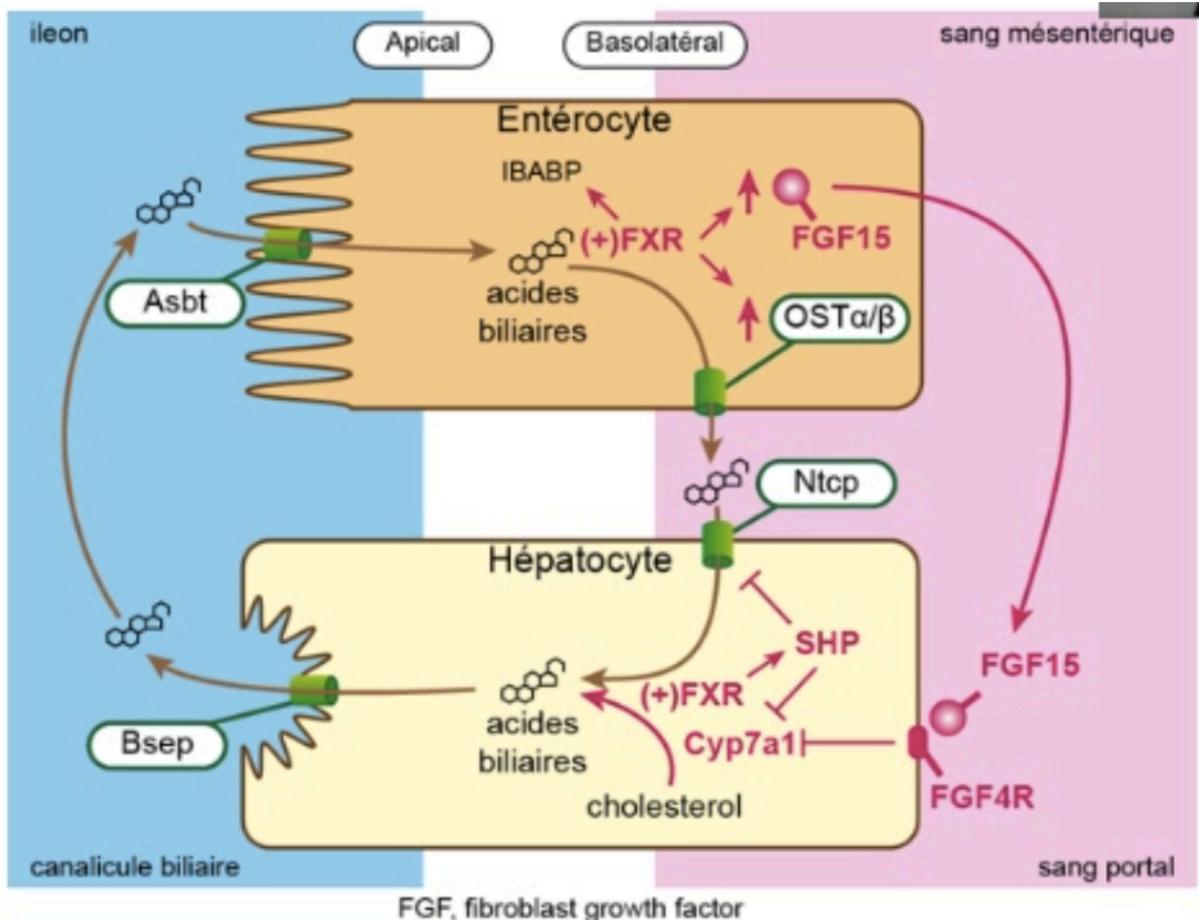
Recepteurs	Affinités	Localisation
Nucléaire : Farnesoid X receptor (FXR)	CDCA > LCA > DCA > CA	Hépatocytes, Entérocytes, Epithélium biliaire, Epithélium rénal
Transmembranaire : TGR5	LCA > DCA > CDCA > CA	Entérocytes, Epithélium biliaire, Macrophages
Nucléaire : Pregnane X receptor (PXR)	LCA	Hépatocytes, Entérocytes
Nucléaire : VDR	LCA	Entérocytes, Epithélium biliaire

TGR5 associé à la voie de AMPc
 VDR = vitamine D receptor

Diapo 19 : gènes régulés

- Fixation de FXR sur ADN pour régulation de expression de gènes (FGF15, SHP, BSEP, IBABP). SHP régule négativement CYP7A et NTCP.
- AB régulent de façon négative leur propre synthèse par l'intermédiaire de FXR et de SHP.

Diapo 20 : régulation de la synthèse des acides biliaires



Asbt est Na⁺ dépendant

CYP7A1 est régulée de plusieurs manières (cf schéma ci-dessus)

Diapo 21 : Composition de la bile

Eau + mol hydrophobes (acides biliaires, PL, CT), protéines, électrolytes, bilirubine

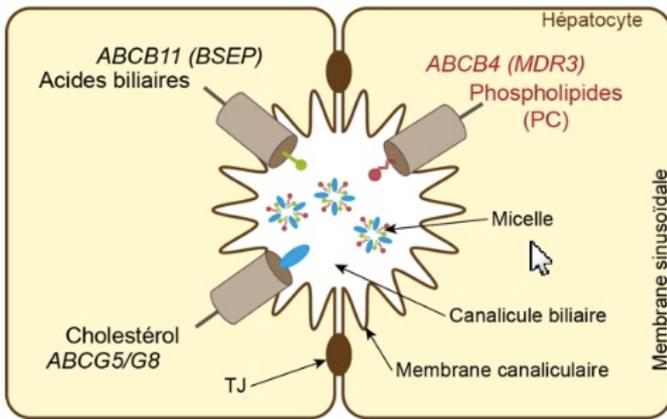
Diapo 22 : Structure des phospho-lipides (PL)

Essentiellement phosphatidylcholine côté EC (ester d'AG estérifié au glycérol et au phosphate)

Diapo 23 : Micelles et triangle de Small

- 1 des mécanismes de protection de arbre biliaire est la prise en charge dans des micelles mixtes (CT 5%, PL 25%) des AB 70%.
- En fonction de la concentration de ces 3 constituants, on a une phase micellaire et en dehors de cette phase (trop de CT, ou pas assez de PL) : pathologies (précipitation du CT etc..)

Diapo 24 : Transporteurs biliaires



TJ = jonction serrée

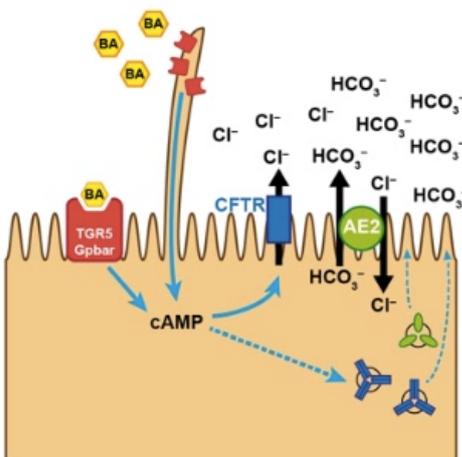
Dans canalicule, les différents constituants s'organisent en micelles.

Diapo 25 : autres transporteurs biliaires ->

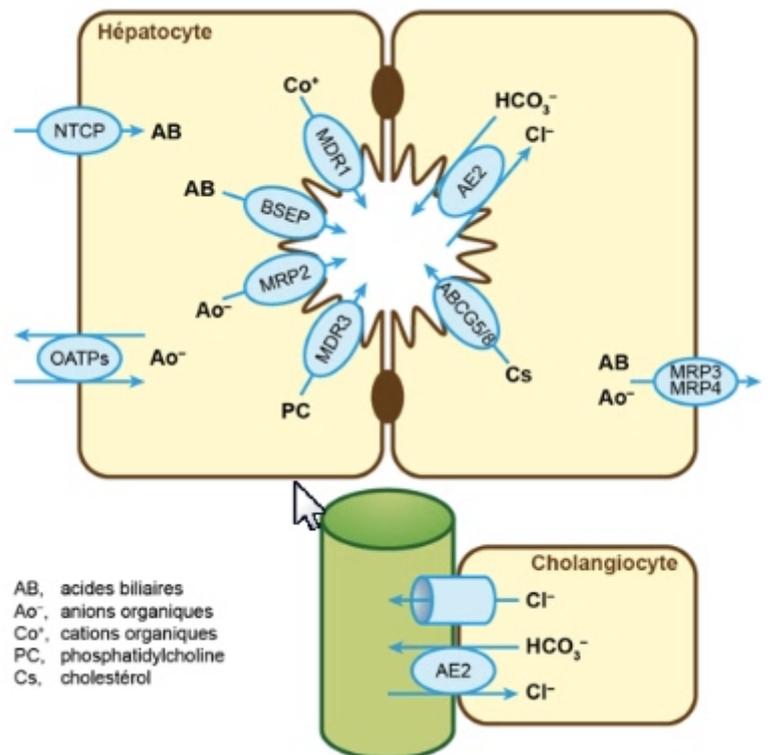
Bilirubine est un anion organique

Diapo 26 : régulation de la sécrétion de bicarbonates biliaires par TGR5

R mbaire au pôle apical des canaux biliaires.



Participe à stimulation de CFTR par AMPc pour échange de Cl-



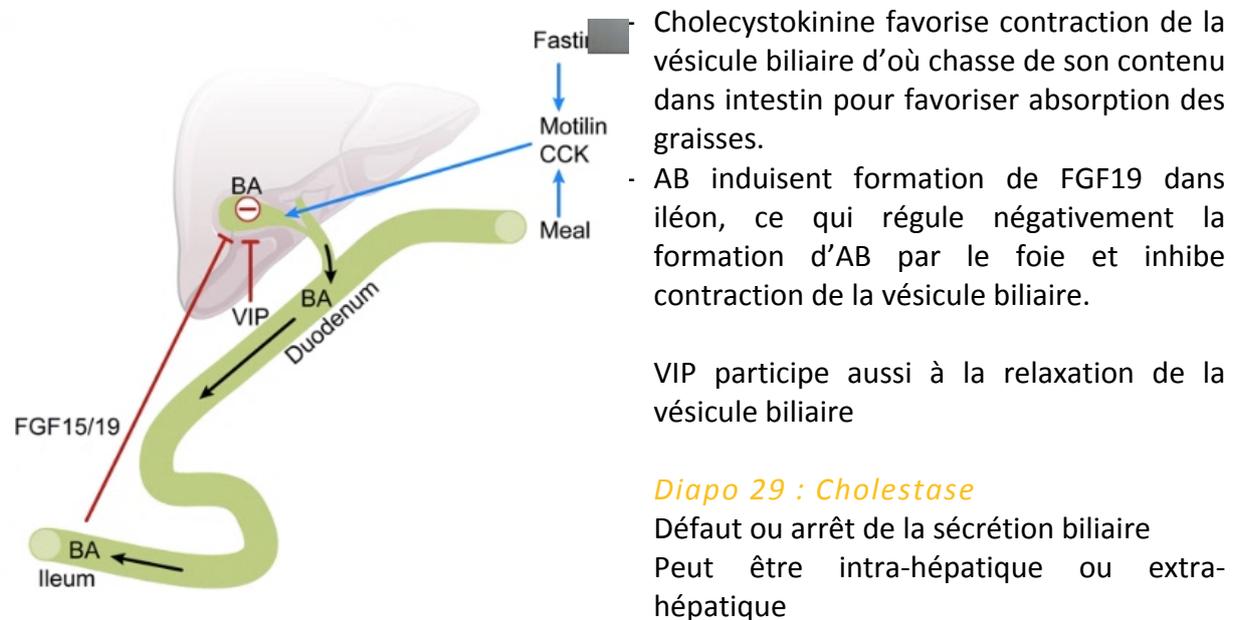
AB, acides biliaires
Ao⁻, anions organiques
Co⁺, cations organiques
PC, phosphatidylcholine
Cs, cholestérol

contre HCO₃⁻

Diapo 27 : protection de l'épithélium biliaire par les bicarbonates

Bicar favorisent passage des AB sous une forme non-protonée (sels)

Diapo 28 : régulation de la vidange vésiculaire



Diapo 29 : Cholestase

Défaut ou arrêt de la sécrétion biliaire
 Peut être intra-hépatique ou extra-hépatique

Induit des lésions des cellules hépatiques

Diapo 30 : cholestase intrahépatique familiale progressive

- Maladies génétiques AR
- Défaut de sécrétion canaliculaire donnant :
- Cholestase intra-hépatique familiale progressive de type 1 PFIC1 (touche transporteur des aminophospholipides, ATP8B1)
- PFIC2 touche transporteur d'AB, ABCB11, accumulation d'AB dans hépatocytes
- PFIC3 touche ABCB4 (transporteur de phosphatidylcholine)
- PFIC4 défaut des jonctions serrées (TJP2) d'où défaut de gradient, de sécrétion d'eau et donc risque de reflux de molécules toxiques

Diapo 31 : PFIC2

- Maladie AR : mutation du gène ABCB11 (BSEP)
- Concentration des AB faible dans la bile et élevée dans le sérum et dans le foie => destruction du foie (transplantation hépatique dans l'enfance obligatoire) et KC du foie

Diapo 32 : PFIC3

- Maladie AR : mutation du gène ABCB4 (MDR3) => défaut de phosphatidylcholine => réaction ductulaire
- Concentration des AB normale dans la bile et élevée dans le sérum

Diapo 33 : maladies biliaires/cholestatiques

- Lésions des petits canaux biliaires

- Cholangite biliaire primitive (CBP), MAI avec auto-Ac anti-mitochondries ciblant petits canaux biliaires
- Mucoviscidose : défaut de sécrétion d'eau et d'électrolytes
- Cholangite sclérosante primitive (CSP), inflammatoire touchant petits et grands canaux, lésions fibrosantes/sclérosantes des canaux
 - ⇒ Dans toutes ces maladies, il y a obstruction des canaux biliaires.
- Rechercher d'autres obstruction intra ou extra-hépatique des gros canaux (tumeurs...)

Diapo 34 : maladies biliaires/cholestatiques : mécanismes adaptatifs

Visent à protéger le foie de la surcharge en AB via FXR (qui freine la synthèse et favorise export par CSEP).

Diapo 35 : traitements des maladies biliaires (autres qu'obstructives)

- Il y a encore peu de temps, le seul tt était l'acide ursodésoxycholique : voie orale, remplace dans le pool des AB, les autres AB qui sont + hydrophobes => pool devient + hydrophiles => protection du foie et des voies biliaires
- Existe aussi des fibrates, Nor-UDCA, recombinant FGF19, inhibiteur d'ASBT

Bilirubine

Diapo 36 : métabolisme de la bilirubine

- 4 mg/kg/jour synthétisé
- Intermédiaire de dégradation de l'hème :
- 80% Hb (érythrocytes – vie de 120jours, dégradés dans rate)
- 20% hémoprotéines hépatiques (cytochromes) et musculaires (myoglobine)

Diapo 37 :

- Bilirubine est de grande taille, peu soluble
- Liée à albumine dans sang, captée par hépatocytes, conjuguée à acide glucuronique, éliminée dans bile (via ABCC2 ou NRP2), déconjuguée dans intestin par enzymes bactériennes pour donner urobilinogènes dont une partie est réabsorbée.

Diapo 38 : Synthèse de la bilirubine

- Propionate se voit rajouter les molécules de conjugaison
- Bilirubine diffère de l'hème car elle n'a plus le fer central

- Intermédiaire α -oxy – hème (hème oxygénase)
 - ⇒ Rupture du pont méthène α -> tétrapyrrole linéaire
 - ⇒ Réduction du pont méthène central

Obtention de biliverdine

- Hème oxygénase, enzyme microsomale dans rate et foie (hépatocytes, cellules de Kupffer) - HO-1 et HO-2 (forme prédominante)
- Biliverdine réductase, enzyme cytosolique => obtention de la bilirubine

Diapo 39 : Structure de la bilirubine

- Insoluble dans eau à pH physio
- Complexée à l'albumine dans le sérum

- Neurotoxicité
- Photoisomérisation -> rupture des liaisons hydrogène -> isomères plus solubles -> élimination dans la bile sous forme non conjuguée

Chez NN, ictère néo-natal est du à un défaut de son élimination car système immature, donc on fait photoisomérisation

Diapo 40 : Transport et conjugaison au glycuronate

- Albumine permet transport de la bilirubine non conjuguée dans circulation sanguine. Arrivée au pôle sinusoidal de hépatocyte, elle rentre via OATP. Elle est alors conjuguée à acide glucuronique (glucuronate) grâce à uridine-diphospho-glucuronyl-transferase. Ces conjugaisons ont lieu sur les groupements propioniques.

Diapo 42 : Uridine diphosphoglucuronyltransferase (UDPGT)

- Fixation de résidus glucidiques (glucuronate) aux chaînes latérales propionate pour donner mono et diglucuronides (forme prédominante)
- Enzyme microsomale
- Substrats : hormones, bilirubine, AB, xénobiotiques (enzyme de détoxification de phase III)
- 2 familles : UDPGT1 (A1 ou A2) et UDPGT2

Diapo 43 : structure du gène UGT1

- Bili-UGT1 codée par gène UDPGT1 qui peut former plusieurs isoformes (7 versions possibles de exon 1)

Diapo 44 : Excrétion canaliculaire de la bilirubine conjuguée

- Transportée dans la bile par le transporteur ABC canaliculaire ABCC2/MRP2
- Puis réduction de la bilirubine par les bactéries intestinales pour donner urobilinogène et stercobilinogène

Contenu en bilirubine des liquides biologiques :

- Plasma : bilirubinémie totale $\leq 20 \mu\text{mol/l}$
bilirubine non conjuguée $\geq 96\%$

- Urine : la bilirubine conjuguée, liée avec moins d'affinité à l'albumine, peut être excrétée dans l'urine

Diapo 45 : Défaut génétique de conjugaison de la bilirubine

- Bile : $\approx 350 \mu\text{mol/l}$ (bilirubine diglucuronide $> 80\%$)

- Liquide céphalorachidien $<$ serum

- Peau, conjonctive

	Syndrome de Crigler-Najar type I	Syndrome de Crigler-Najar type II	Syndrome de Gilbert
Bilirubinémie	350-850 $\mu\text{mol/L}$	$< 350 \mu\text{mol/L}$	$< 50 \mu\text{mol/L}$
Bile	Bilirubine non conjuguée en faible quantité	Bilirubine monoglucuronide $> 30\%$	Bilirubine monoglucuronide augmentée
Activé UGT hépatique	absente	très réduite	réduite
Transmission	autosomale récessive (ugt 1)	?	variant A(TA) ₇ TAA du promoteur e1*1
Prévalence	très rare	rare	fréquent (3-10% population)
Pronostic	Ictère nucléaire fréquent	Neurotoxicité rare	Bénin

Diapo 46 :

Hyperbilirubinémie (> 20 $\mu\text{mol/L}$)

- **Non conjuguée**
 - Excès de production: Hémolyse ou erythropoïèse inefficace
 - Défaut de conjugaison: Ictère physiologique du nouveau-né
Syndrome de Gilbert
Syndrome de Crigler-Najjar
- **Conjuguée ($\geq 50\%$)**
 - Syndrome de Dubin-Johnson (défaut génétique de mrp2)
 - Maladie biliaire obstructive ou non obstructive (cholestase)
 - Autres maladies de foie (hépatite, cirrhose)

Elévations $\geq 500 \mu\text{mol/L}$ → hémolyse ou insuffisance rénale associées

Valeur pronostique dans certaines maladies biliaires (cirrhose biliaire primitive) dans l'insuffisance hépatocellulaire

Diapo 47 : Tests de cholestase

- Tests fonctionnels (peu utilisés) de sécrétion biliaire : acides biliaires, lipides, bilirubinémie
- Testes de dommage cellulaire : phosphatases alcalines, 5'-nucléotidase, gamma-glutamyl-transférase
- Diagnostiques : phosphatases alcalines / gamma-GT
- Pronostique : bilirubinémie
- Thérapeutique : AB