

L'acide méthylmalonique et le diagnostic de la carence en vitamine B₁₂

Heinz Troxler^a, Martin Hersberger^a, Matthias Baumgartner^b

Kinderspital Zürich

^a Abteilung für Klinische Chemie und Biochemie, ^b Abteilung für Stoffwechsel und Molekulare Pädiatrie

Introduction

La vitamine B₁₂, également souvent appelée cobalamine, est une vitamine hydrosoluble contenant du cobalt. Elle est produite par certaines bactéries. Les organismes supérieurs, tels que les plantes et l'être humain, sont incapables de synthétiser cette molécule et doivent donc l'obtenir par l'ingestion d'aliments tels que les viandes, les œufs et les produits laitiers. Chez l'animal, la vitamine B₁₂ est synthétisée par des agents microbiens. La vitamine B₁₂ est essentielle à plusieurs égards au niveau métabolique. Sous sa forme de méthylcobalamine, elle est un cofacteur requis pour l'enzyme méthionine synthétase. Cette dernière catalyse la transformation de l'homocystéine en méthionine. La vitamine B₁₂, sous sa forme d'adénosylcobalamine, est également un cofacteur requis de l'enzyme méthylmalonyl-coenzyme A mutase, qui catalyse la transformation du méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA. Cette mutase est impliquée dans la dégradation de différents acides aminés, d'acides gras et du cholestérol.


Manifestations cliniques d'une carence en vitamine B₁₂

La carence en vitamine B₁₂ peut conduire à des lésions irréversibles du système nerveux qui précèdent les signes hématologiques de l'anémie pernicieuse. Une démyélinisation des nerfs périphériques donne lieu à un tableau de polyneuropathie avec hypoesthésie et paresthésies. Une démyélinisation au niveau de la moelle épinière peut conduire à une myélose funiculaire avec des troubles de la marche, des signes pyramidaux et des parésies. Le risque de développer une psychose ou une démence a été décrit lors de carence en vitamine B₁₂. Cette hypovitaminose peut également se traduire par des atteintes au niveau des épithéliums à prolifération rapide, tels que les muqueuses du tractus gastro-intestinal où elle inhibe la maturation cellulaire. La manifestation clinique est alors celle d'une glossite dite de «Hunter» caractérisée par une langue rouge et décapillée avec sensations de brûlures et la survenue éventuelle de diarrhées.

Problèmes liés à la détermination des taux sériques

La vitamine B₁₂ en circulation dans le sang se trouve principalement liée aux deux protéines de transport transcobalamine et haptocorrine. Seule la petite fraction liée à la transcobalamine (environ 10 à 25%) est biodisponible et donc biologiquement active. Le complexe transcobalamine associée à la vitamine B₁₂ est appelé holotranscobalamine. Les mesures des taux sériques de vitamine B₁₂ pour l'évaluation des réserves de vitamine B₁₂ ont une spécificité et une sensibilité limitées. Pour confirmer la présence d'une réelle carence en vitamine B₁₂, les dosages combinés de l'holotranscobalamine et des deux métabolites (acide méthylmalonique et homocystéine) peuvent contribuer à éclaircir la suspicion clinique d'hypovitaminose. Dans la carence en vitamine B₁₂, l'holotranscobalamine est abaissée et les concentrations des deux métabolites augmentent à la suite des perturbations touchant leur transformation en succinate et en méthionine.

L'acide méthylmalonique mesuré par spectrométrie de masse

Le méthylmalonyl-CoA est déterminé sous la forme d'acide méthylmalonique par spectrométrie de masse en chromatographie gazeuse (CG-SM) dans l'urine, le sérum ou le plasma. La figure 1  représente schématiquement le procédé de la mesure. La première étape consiste à extraire l'acide méthylmalonique et les autres acides organiques à l'aide d'un solvant, puis à procéder à leur dérivatisation chimique (Etape 1). Les acides sont ensuite séparés par chromatographie gazeuse et détectés immédiatement par spectrométrie de masse. L'extrait d'acides est transformé en vapeur dans l'injecteur (Etape 2), puis conduit dans un petit capillaire en verre de 25 mètres de long, dont la surface interne est recouverte d'un film liquidien. Les différents acides progressent à des vitesses différentes dans le système de capillaires de verre (Etape 3) avant de passer du chromatographe gazeux au spectromètre de masse. Les éluats y sont pesés, autrement dit la masse de chacune des différentes molécules d'acide y est mesurée (Etape 4), donc détectée.

Pour la détermination de l'acide méthylmalonique, le prélèvement et l'envoi au laboratoire spécialisé d'environ 5 ml d'urine (récipient sans additif) ou d'un millilitre de sérum/plasma sont requis. Les échantillons peuvent être envoyés à

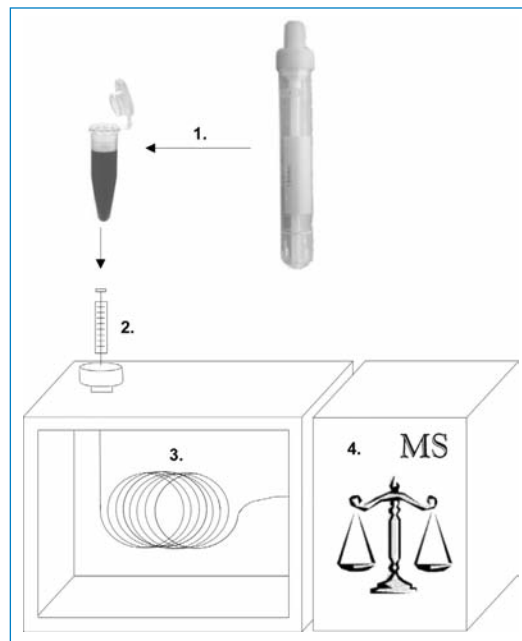


Figure 1
 Représentation schématique de la détermination de l'acide méthylmalonique.
 Etape 1: Extraction et dérivation.
 Etape 2: Injection.
 Etape 3: Séparation.
 Etape 4: Détection par spectrométrie de masse.

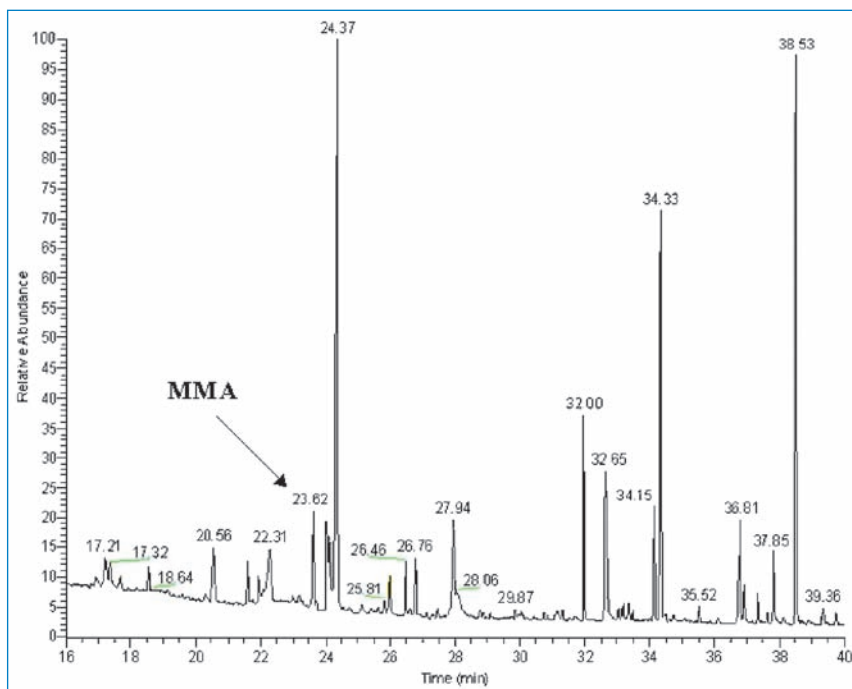



Figure 2
 Détermination de l'acide méthylmalonique par CG-SM.
 Profil des acides organiques (chromatogramme). L'acide méthylmalonique (MMA) apparaît à 23,62 minutes.

température ambiante (non réfrigérés) sous réserve qu'ils parviennent au laboratoire le jour suivant.

Les tests spectrométriques de masse ont pour principaux avantages leur grande spécificité et leur excellente sélectivité. La spectrométrie de masse analyse en effet une caractéristique très spécifique d'une substance, c'est-à-dire sa masse (poids). Le temps de rétention et le spectre de masse forment ensemble un critère très spécifique pour l'analyse. La sensibilité est également un atout positif de ce type de mesure. En outre, ce type d'analyse permet de détecter et de doser des quantités même très faibles de la substance à analyser. Les inconvénients de la méthode résident dans le coût élevé des analyses, qui se situe aux alentours de 180 points de taxation. Les coûts élevés des analyses sont dus au travail relativement important requis pour la préparation des échantillons et au prix des équipements (systèmes CG-SM).

Exemple: nourrisson d'une végétalienne

La figure 2  représente le profil des acides organiques (chromatogramme) dans l'urine d'un enfant en bas âge, dont la mère est végétalienne et nourrit son enfant exclusivement avec du lait maternel, ce qui a conduit à une carence en vitamine B₁₂. Les pics correspondent aux différentes composantes de l'urine. Le pic intense à 24,37 minutes correspond par exemple à l'urée et celui à 38,53 minutes à l'acide citrique. L'acide méthylmalonique a un temps de rétention de 23,62 minutes.

Quand faut-il mesurer l'acide méthylmalonique?

Il n'existe toujours pas d'«étalon or» pour la méthode de confirmation d'une carence en vitamine B₁₂. La mesure de l'acide méthylmalonique est encore sujette à controverse. Des valeurs légèrement augmentées d'acide méthylmalonique ne sont ainsi pas forcément pathologiques et ne justifient pas obligatoirement un traitement [1]. D'autre part, la présence d'une insuffisance rénale ou une hypovolémie [2] peuvent conduire à une augmentation de l'acide méthylmalonique dans le sang ou l'urine. Récemment, l'analyse de l'holotranscobalamine a suscité des échos positifs dans la littérature scientifique dans l'optique d'un diagnostic précoce d'hypovitaminose B₁₂ [3]. Contrairement à l'acide méthylmalonique, les taux d'holotranscobalamine ne sont pas influencés par une diminution de la fonction rénale.

En cas de suspicion de carence en vitamine B₁₂, la mesure de l'acide méthylmalonique est un test très sensible pour le dépistage précoce ou la

