

EXPLORATIONS BIOCHIMIQUES DES PROTEINES PLASMATIQUES

3e Année de Médecine UEI4- Cours de Biochimie

Dr S. ZATOUT

Plan

I. INTRODUCTION.

II. MÉTHODES D'EXPLORATION.

II.1. DOSAGE DES PROTEINES TOTALES.

II.2. ETUDE DES FRACTIONS PROTÉIQUES : ELECTROPHORÈSE II.

III. ÉTUDE DES PRINCIPALES PROTÉINES SÉRIQUES.

III.1. ALBUMINE.

III.2. α_1 GLOBULINES.

III.3. α_2 GLOBULINES.

III.4. β -GLOBULINES.

III.5. γ GLOBULINES :

I. INTRODUCTION :

Une protéine est une macromolécule biologique composée d'enchainements d'acides aminés unis solidement par des liaisons peptidiques.

Il y a dans le plasma sanguin 60-80 gr de protéines par litre. Ces protéines sont extrêmement variées par leur structure, forme, masse moléculaire, lieu de synthèse, lieu de captation et destruction, vitesse de renouvellement, fonctions biologiques et comportement en pathologie.

Presque toutes les protéines plasmatiques à l'exception de l'albumine (holoprotéine) contiennent une fraction glucidique fixée à la chaîne polypeptidique (glycoprotéines hétéroprotéine).

II. MÉTHODES D'EXPLORATION :

a) Dosages des protéines totales.

b) Étude des fractions protéiques : – Électrophorèse.

c) Dosage spécifique des protéines :

– Recherche de syndromes biologiques : profil protéique.

– Dosage de marqueurs biologiques isolés.

II.1. DOSAGE DES PROTEINES TOTALES

▪ Prélèvement

Sujet à jeun depuis au moins 10-12h

Sang : -Tube sec = dosage sérique

-Tube hépariné = dosage plasmatique possible sauf pour l'électrophorèse.

Eviter la pause prolongée du garrot → hémococoncentration (artéfact).

Méthodes colorimétriques (Réaction du biuret)

▪ Valeurs normales :

Pour l'adulte 60 -80 g/l pour le sérum.

Dans le plasma les résultats sont majorés fibrinogène (2 – 4 g/l)

▪ Variations physiologiques :

Variations avec l'âge :

- prématuré : 40g/l

- nouveau-né : 60g/l, avec chute à 45-50g/l au bout de 4 jours

- nourrisson (2 ans) : 60g/l

- après 70 ans : 65g/l par diminution de l'albumine et/ou des Ig.

Changement de position : repos allongé => debout ↑ 30min qui suivent.

Grossesse : 60g/l par hémodilution et diminution de l'albumine et/ou des Ig.

Médicaments : effets variables.

▪ Variations pathologiques : Dysprotéinémies :

Affections accompagnées de perturbations quantitatives des protéines sériques.

Soit diminution soit augmentation des concentrations plasmatiques de protéines ou de groupes protéiques.

Hypoprotéinémie : < 60 g/l

Éliminer d'abord une hémodilution

Défaut d'apport par malnutrition, dénutrition ou malabsorption intestinale (entéropathie, maladie cœliaque, insuffisance pancréatique).

Défaut de synthèse (insuffisance hépatique).

Augmentation des pertes :

- . D'origine rénale (syndrome néphrotique, glomérulonéphrite)
- . D'origine cutanée (brûlures)
- . D'origine digestive (entéropathie exsudative)
- . Perte tissulaire (hémorragies)

Catabolisme exagéré : cachexie, corticoïdes.

Hyperprotéinémie : > 80 g/l

Éliminer d'abord une hémococoncentration (pertes liquidiennes, déshydratation)

Hyperglobulinémie : augmentation de synthèse d'une protéine ou un groupe de protéines.

⊠gammapathie monoclonale :

Maladie de Kahler : augmentation IgA, IgG.

Maladie de Waldenström : augmentation IgM.

II.2. ETUDE DES FRACTIONS PROTÉIQUES : ELECTROPHORÈSE

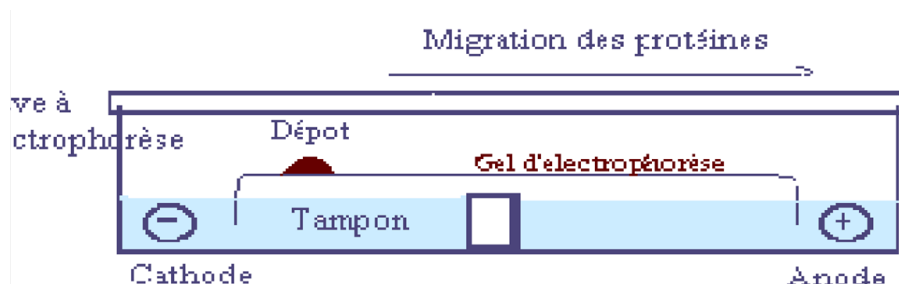
▪ Principe :

Méthode de fractionnement des protéines sur un support solide (acétate de cellulose) ou gel (agarose...).

Séparation des molécules chargées (ionisées) sur un support imprégné d'une solution tampon (pH défini) et soumises à un champ électrique.

Migration avec une vitesse proportionnelle à la charge.

- Caractère amphotère des protéines (+) (-) selon le pH
- Pour être chargée, le pH du milieu doit être éloigné du pI de la protéine.
- Électrophorèse des protéines réalisée à pH alcalin (8,6) → charge globale (-) → migration vers le pôle (+).

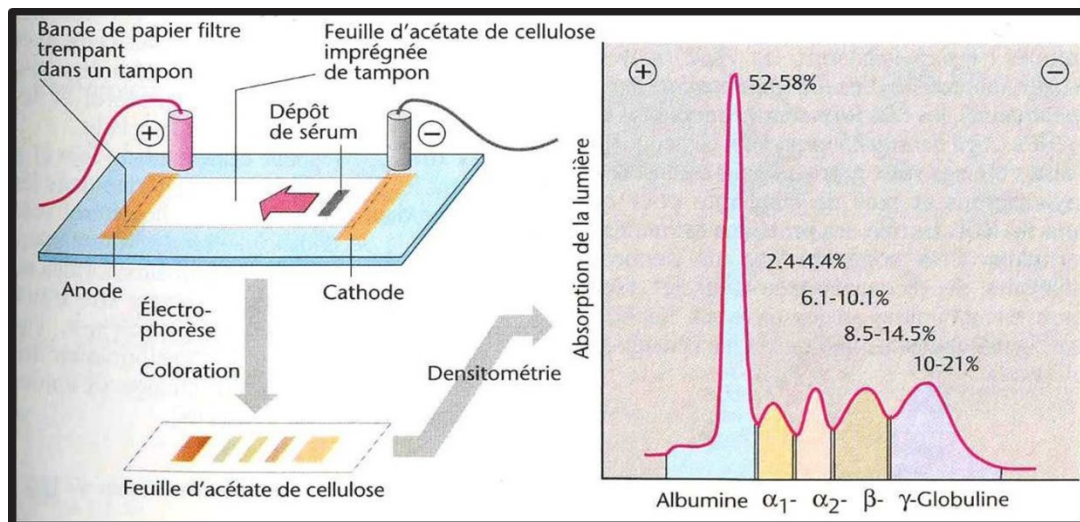


▪ ETAPES :

-Déposer quelques microlitres de sérum sur le support.

Laisser migrer durant un temps.

Fixation et coloration par la suite



Séparation sous forme de bandes révélées par différents colorants :

- L'amidoschwarz(noir)
- Le rouge Ponceau
- Le bleu de Coomassie

La lecture photodensitométrique de la coloration de chaque bande donne le tracé classique où apparaissent des pics.

L'intégration de la surface de chaque pic conduit enfin à un pourcentage de chaque fraction, traduit aussi en gramme/litre si le taux des protéines totales a été donné à l'appareil.

▪ INTERET :

Objectiver des anomalies propres à chaque groupe $\uparrow \downarrow$ absence de pic.

Méthode qualitative semi-quantitative.

Le seul intérêt diagnostique = dépistage d'une gammopathie monoclonale.

Au plan évolutif et pronostique = surveillance des patients (technique sensible et reproductible) :

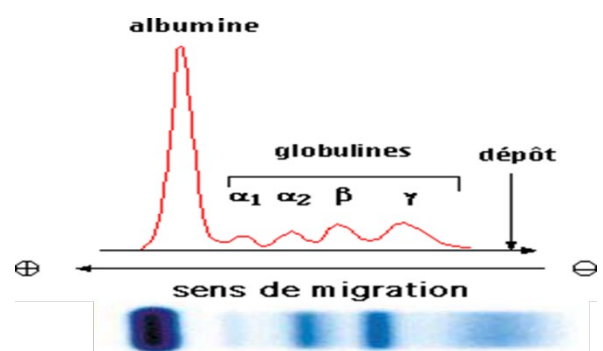
- Inflammation
- Atteinte hépatique ou rénale
- Immunologie

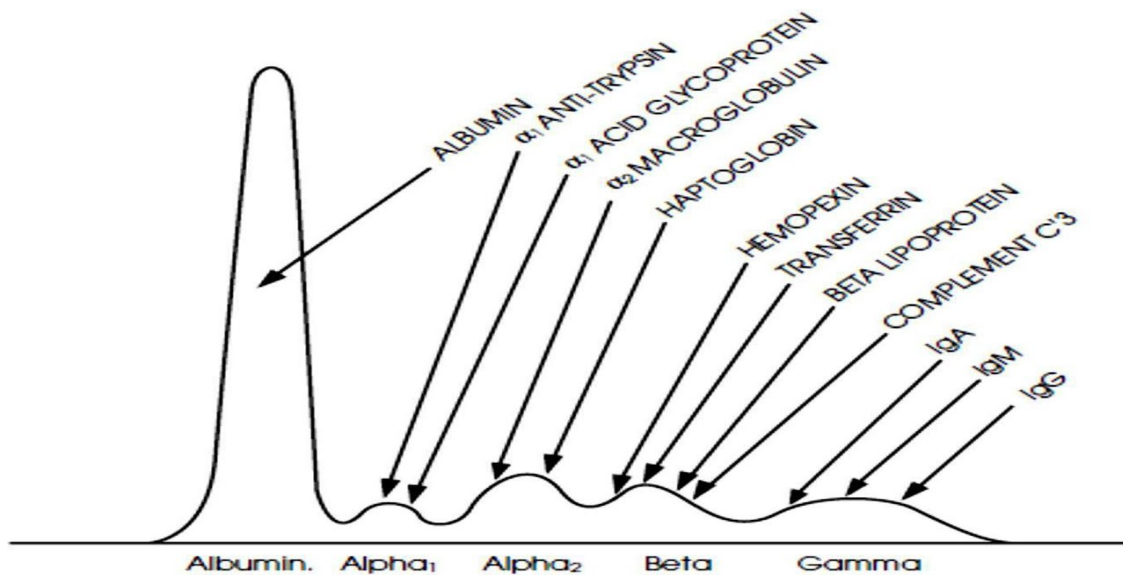
▪ Résultats :

5 à 6 fractions selon le support.

Profil électrophorétique (protidogramme)

Graphique + concentration chiffrée.





▪ Valeurs Normales des fractions protéiques :

FRACTION	PROTÉINES	% ET CONCENTRATIONS
Albumine	Albumine	60–65 % (37–54 g/l)
α 1-globulines	α 1-antitrypsine, orosomucoïde	3–5 % (2–4 g/l)
α 2-globulines	céruléoplasmine, α 2-macroglobuline, haptoglobine, α-lipoprotéines	6-10 % (4–7 g/l)
β -globulines	Hémopexine, transferrine, CRP	8–12 % (6–9 g/l)
γ-globulines	IgG, IgA, IgM, IgD, IgE	11–19% (8–13,5g/l)

▪ Interprétation :

• Hypoprotéinémies :

- Malnutrition
- Syndrome néphrotique.
- Hépatite aiguë.
- Cirrhose du foie
- Hypogammaglobulinémie

• Hyperprotéinémies

- Syndrome inflammatoire.
- Hypergammaglobulinémie polyclonale
- Hypergammaglobulinémie monoclonale

III. ÉTUDE DES PRINCIPALES PROTÉINES SÉRIQUES :

III.1. ALBUMINE :

C'est la protéine majeure du plasma : 55-60 % des protéines totales.

C'est une holoprotéine globulaire de masse moléculaire de 66kDa.

Synthèse exclusivement hépatique.

Maintien de la pression oncotique du plasma.

Transport plasmatique de ligands variés.

▪ Variations pathologiques :

1- Anomalies acquises :

Hyper albuminémie : - hémocentration - une perfusion d'albumine

Hypo albuminémie :

Carence d'apport en AA	-malnutrition prolongée -malabsorption
Diminution de la synthèse hépatique	-Crises inflammatoires -maladies hépatique chroniques
Catabolisme excessif	-stress -diabète non contrôlé
Pertes	-glomérulonéphrite -syndrome néphrotique -entéropathies exsudatives -brulures
Bisalbuminémies transitoires	Trt antibiotique β -lactamines -faux kyste du pancréas fistulisé dans les espaces interstitiels

▪ Variations pathologiques :

2- Anomalies génétiques :

Analbuminémie de Bennhold :

Ces individus sont incapables d'assurer la synthèse d'albumine.

A l'électrophorèse pas de pic d'albumine.

Bisalbuminémie héréditaire :

Coexistence de 2 formes d'albumines différentes (2 gènes différents).

Cette anomalie est découverte à l'électrophorèse.

Sans traduction pathologique et bien supportée.

L'expression des gènes est codominante de transmission autosomique.

III.2. α 1 GLOBULINES :

C'est une fraction hétérogène qui contient principalement, l' α -1 antitrypsine et l' α -1 glycoprotéine acide(orosomucoïde).

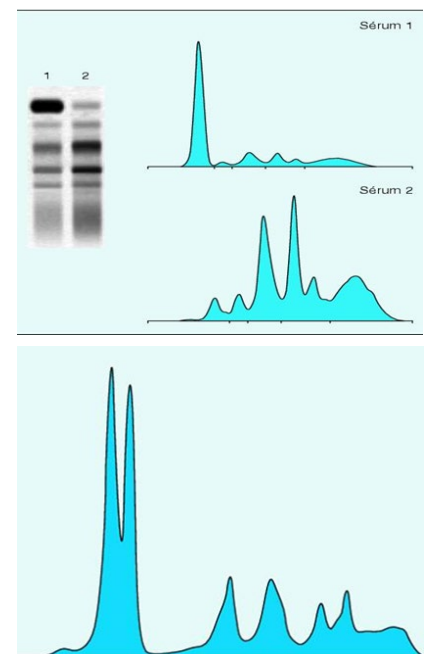
Alpha glycoprotéine d'origine hépatique.

Elle présente une action anti-protéasique.

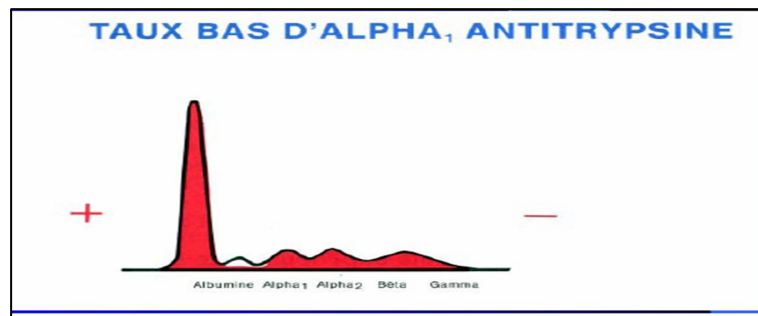
▪ **Variations physiologiques :** Augmente pendant la grossesse et lors de la prise d'oestroprogestatifs.

▪ **Variations pathologiques :**

Augmentation : Lors de la phase aiguë de la réaction inflammatoire.



Diminution : Au cours d'emphysèmes, des déficits très importants en alpha1-antitrypsine ont été observés dans ces maladies génétiques. (Absence d'inhibition naturelle de l'élastase leucocytaire → destruction des structures pulmonaires)
1 antitrypsine est le constituant principal des α 1globulines : elle en représente 90 %.



III.2. α 1 GLOBULINES :

a. l'alpha-1 antitrypsine :

Glycoprotéine d'origine hépatique.

Elle présente une action anti-protéasique.

- **Variations physiologiques :** Augmente pendant la grossesse et lors de la prise d'oestroprogestatifs.
- **Variations pathologiques :**

Augmentation : Lors de la phase aiguë de la réaction inflammatoire.

Diminution : Au cours d'emphysèmes, des déficits très importants en alpha1-antitrypsine ont été observés dans ces maladies génétiques. (Absence d'inhibition naturelle de l'élastase leucocytaire → destruction des structures pulmonaires)

b. Orosomucoïde ou alpha1glycoprotéine acide :

C'est une protéine de la phase aiguë de la réaction inflammatoire (PRI+)

- **Variations pathologiques :**

Diminution :

États de malnutrition

Insuffisances hépatiques sévères

Syndrome néphrotique

Entéropathies exsudatives

Augmentation :

Réaction inflammatoire aiguë (rhumatisme articulaire aigu chez l'enfant)

Lésions tissulaires (infarctus du myocarde)

Certains néoplasies malignes

III.3. α 2 GLOBULINES :

Représentées par l'alpha-2 macroglobuline (A2M), l'haptoglobine (Hp) et la céruloplasmine.

Haptoglobine	α 2macroglobuline	céruloplasmine
Glycoprotéine Capte Hb intravasculaire sous forme de complexes Hp-Hb - PRI+ -Valeur est plus élevée chez la femme/homme	- Glycoprotéine de haut poids moléculaire Peut se lier avec diverses molécules : ions, hormones Elle possède un rôle anti-protéasique. Valeur plus élevée chez le NNé	- protéine de transport et de redistribution du cuivre. - PRI+ - possède l'activité d'une oxydase où le cuivre serait le coenzyme

a. Haptoglobine :

▪ Variations pathologiques :

Diminution : - hémolyse intravasculaire aigue et chronique.

- insuffisance hépatique.

Augmentation : - Dans tout syndrome inflammatoire aigu (acute phase protein) très sensible, non spécifique.

- syndrome néphrotique : liée à une synthèse hépatique accrue et à une rétention (partielle) du fait qu'elle ne franchit pas facilement la membrane glomérulaire pathologique.

b 2. α macroglobuline:

▪ Variations pathologiques :

Augmentation :

- Syndrome néphrotique (caractéristique) : par synthèse hépatique compensatoire.

- Inflammation aigue non spécifique.

c. La Céruléoplasmine :

▪ Variations pathologiques :

Augmentation : - Inflammation aigue non spécifique (acute phase protein)

- grossesse stimulation de la synthèse par les œstrogènes.

Diminution : - Maladie de WILSON : héréditaire, synthèse d'une protéine de structure anormale ne fixe plus le Cu^{++} qui sera transporté par ALB, avec surcharge et dépôts tissulaires.

III.4. β -GLOBULINES :

a. La fraction bêta-1 globulines :

Cette fraction contient principalement la transferrine, l'hémopexine et les bêta-lipoprotéines

Transferrine :

▪ Variations pathologiques :

Augmentation : - Carences en fer (anémies ferriprives)

- hémorragies aigues

- imprégnation oestrogénique

Diminution : - surcharge en fer (hémochromatose)

- inflammation aiguë et chronique, (Acute phase protein)

b. La fraction bêta-2 globulines :

Elle renferme les fractions du complément C3 et les IgA.

FRACTIONS	DIMINUTIONS	AUGMENTATIONS
Fraction C3 du complément	Disparition de la fraction C3 dans les sérums prélevés plus de 24H avant l'analyse.	- Inflammation - Œstrogènes

III.5. γ GLOBULINES :

Elle correspond aux immunoglobulines (Ig) prépondérantes IgG, IgA et IgM et celles de très faibles concentrations de classe IgD et IgE.

Ce sont des glycoprotéines. Ce sont les agents de l'immunité humorale, ce sont des protéines douées d'activité anticorps.

▪ Variations physiopathologiques :

Hypoimmunoglobulinémies < 6 g/l s'observe dans :

L'hypogammaglobulinémie du nourrisson (physiologique).

Les déficits immunitaires primitifs isolés ou portant sur les IgA, IgG ou IgM de l'enfant ou de l'adulte.

Les déficits secondaires (traitement immunosuppresseur, corticoïdes, chimiothérapie ou radiothérapie)

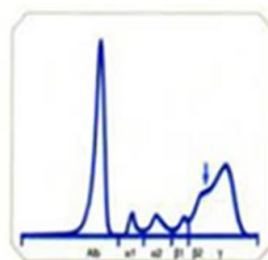
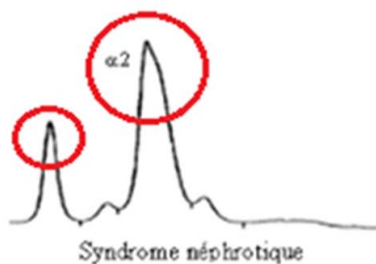
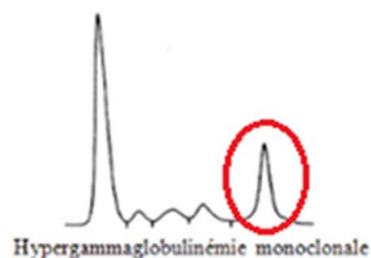
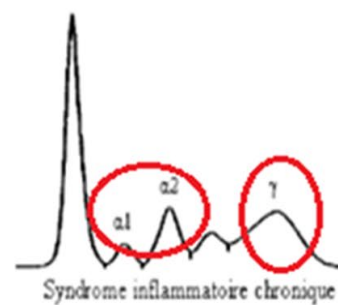
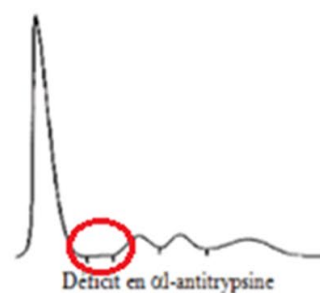
Le myélome à chaînes légères, caractérisé par une protéinurie de Bence-Jones très importante, et une répression de synthèse des IgG, IgA et IgM.

Hyperimmunoglobulinémies : > 15 g/l peut être :

- ❖ **D'origine polyclonale** : Dans les pathologies infectieuses, auto-immunes ou hépatiques.
- ❖ **D'origine monoclonale** :

Dans les gammopathies malignes (myélome multiple ou maladie de Kahler, maladie de Waldenström), les gammopathies associées à une leucémie lymphoïde chronique.

Les gammopathies sans signification clinique (MGUS ou monoclonal gammopathy of undetermined significance) ; dans ce contexte, la quantification de la protéine monoclonale par intégration à l'électrophorèse fait partie du suivi semestriel puis annuel d'une gammopathie.



Bloc bêta-gamma :
Profil cirrhotique

