



جامعة جيلالي اليابس
كلية الطب طالب مراد

FACULTÉ DE MÉDECINE TALEB MOURAD

Exploration biochimique des proteines plasmatiques

Pr. B.ADDAD

Departement de Medecine
Faculte de Medecine de Sidi BelAbbes

Date 03/06/2025

Introduction

Les protéines représentent la plus grande partie des matières solides du plasma, pour la plupart synthétisées au niveau hépatique. Ce sont toutes des protéines globulaires endehors du fibrinogène, protéine fibreuse du plasma.

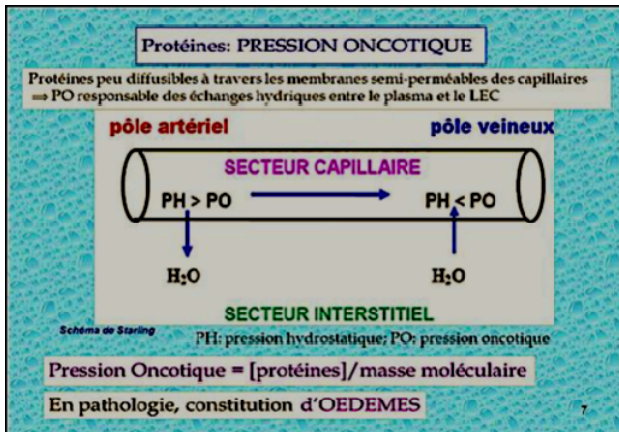
l'albumine qui est une holoprotéine , toutes les autres sont des hétéro protéines pouvant contenir des lipides (lipoprotéines), des métaux (métalloprotéines) et surtout des glucides, la plupart des protéines plasmatiques sont en effet des glycoprotéines.

Principales fonctions des protéines plasmatiques

1-Maintien de la pression oncotique :

Elle est principalement assurée par l'albumine et secondairement par les globulines. En effet, les protéines présentes en forte concentration et ayant un pH_i différent de celui du plasma (7.40), sont fortement ionisées et peuvent exercer une pression osmotique capable de retenir l'eau dans les vaisseaux. Une diminution de la pression oncotique est responsable de la sortie d'eau des vaisseaux vers le tissu interstitiel.

Principales fonctions des protéines plasmatiques



Principales fonctions des protéines plasmatiques

2-Transport de substances endogènes et exogènes :

Le transport de diverses substances endogènes et exogènes en dehors de sérum - albumine qui assure le transport de : la bilirubine, les acides gras, le calcium, les hormones et de nombreux médicaments. Certaines protéines sont spécialisées dans le transport spécifique d'un ligand : exp la transferrine transporte le fer, la céruloplasmine transporte le cuivre. Les protéines transporteuses d'hormones (hormone binding proteins) telles que la transcortine (cortisol binding protein).

Principales fonctions des protéines plasmatiques

3-L'inhibition des protéases plasmatiques :

L' α 1 antitrypsine, l' α 1 anti chymotrypsine et l' α 2 macroglobuline s'opposent à l'action de plusieurs protéases libérées lors de la réaction inflammatoire telles que l'élastase et la collagénase limitant l'action protéolytique sur le tissu conjonctif.

4- La coagulation :

Le fibrinogène constitue la principale protéine de la coagulation ayant un intérêt dans l'exploration des dysproteinémies.

Principales fonctions des protéines plasmatiques

5-L'immunité :

Assurée par les immunoglobulines et le système du complément sérique.

6-Rôle d'enzymes et cofacteurs d'enzymes.

7-Système tampon : Le système protéines/protéinates. Ce système est non négligeable car les protéines sont en forte concentration dans le plasma. En cas d'alcalose, les protéines libèrent des protons. En cas d'acidose, les protéines fixent des protons.

Méthodes d'études des protéines plasmatiques

Ces méthodes permettent d'obtenir une analyse simultanée de l'ensemble des protéines plasmatiques et de certaines fractions. Il existe des méthodes quantitatives, semi-quantitatives et qualitatives.

Dosage des protéines totales

La protéinémie (protidémie) correspond à la concentration des protéines totales (PT) dosées dans le plasma (ou le sérum). Elle s'exprime en g/l.

Conditions du prélèvement :

- Prélèvement sanguin se fait après un jeun d'environ 10 à 12h.
- Le prélèvement peut se faire sur tube hépariné (plasma), mais en cas d'électrophorèse.
- Le prélèvement doit être réalisé sur tube sec (sérum) pour éviter l'interférence du fibrinogène.

Méthode de dosage

La méthode colorimétrique de biuret est la plus utilisée .Cette méthode est simple et automatisable, peu onéreuse et stable. Par contre elle a l'inconvénient d'avoir un seuil de détectabilité (sensibilité) élevé, ce qui ne permet pas son dosage dans les liquides biologiques à faibles concentration en protéines.

Les valeurs normales des protéines plasmatiques :

- Adulte : 65 à 80 g/l.
- Prématuré : 40 à 60 g/l.
- Nouveau-né à terme : 50 à 70 g/l.
- Elles sont basses aussi chez la femme enceinte par hémodilution 60g/l.

Dosage de l'albuminémie :

La méthode de dosage est une méthode colorimétrique au vert de bromocrésol.

Les valeurs de référence sont de 35 à 50 g/L.

Fractionnement des différentes classes des Protéines plasmatiques

L'électrophorèse est une méthode de séparation basée sur la migration différentielle de particules chargées sous l'action d'un champ électrique.

La technique consiste à déposer quelques microlitres de sérum sur le support imprégné d'un tampon alcalin (pH 8.6), auquel les protéines s'ionisent comme des anions et migrent vers l'anode. On laisse migrer quelque temps en fonction du support choisi, ensuite on procède à une fixation et coloration. Après transparisation du support, la lecture photo densitométrique de la coloration de chaque bande donne le tracé classique, où apparaissent les cinq pics.

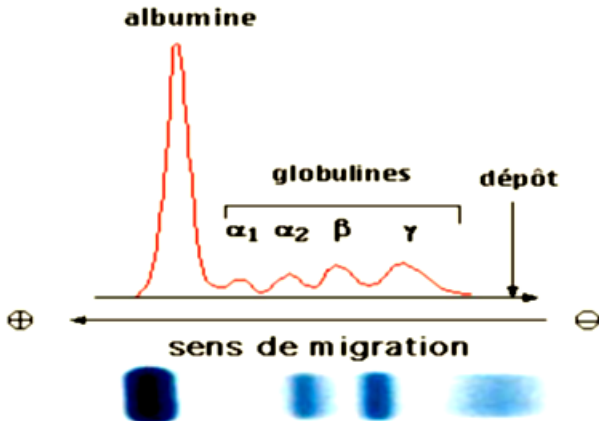
Electrophorèse des protéines ou protéinogramme

- Albumine protéine majoritaire du sérum
- Pré-albumine qui n'est pas le précurseur de l'albumine mais qui migre avant elle sur le gel (plus loin qu'elle). La pré-albumine porte également le nom de transthyrétine.
- Alpha 1 globulines : $\alpha 1$ antitrypsine, orosomucoïde
- Alpha 2 globulines : Haptoglobine
- Bêta globulines : Transferrine, Lipoprotéines de basse densité, Fraction C3 du complément
- Gamma globulines : Immunoglobulines : Ig G, A, M, D, E ; et la C-réactive protéine (CRP) qui va être visible uniquement en cas d'augmentation très importante, supérieure à 300 mg/L.

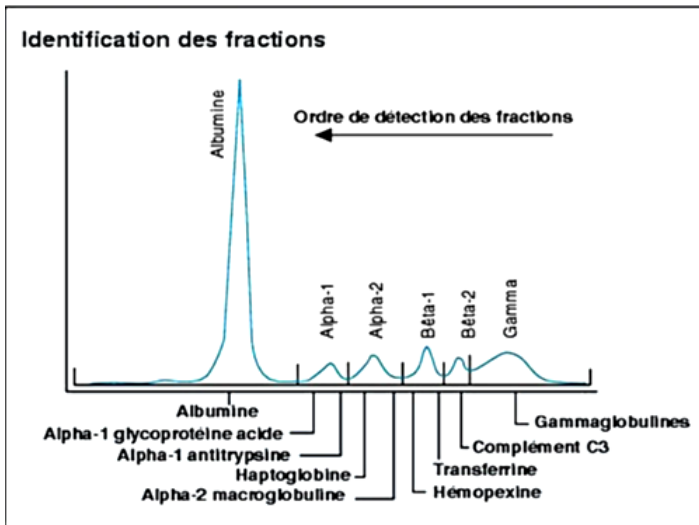
En électrophorèse capillaire : on aura 6 fractions : albumine, $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$, et γ globulines

La fraction bêta se divise en bêta 1 et bêta 2. La transferrine migre en bêta 1, le facteur C3 du complément migre en bêta 2 et la lipoprotéine de basse densité migre avec le groupe des albumines.

Electrophorèse des protéines ou protéinogramme



Electrophorèse des protéines ou protéinogramme



Electrophorèse des protéines ou protéinogramme

Fraction	%	g/L
Albumine	54 - 65%	38 - 46
α_1	1,1 - 3,7	0,8 - 2,6
α_2	8,5 - 15	6 - 10
β	8,6 - 15	6 - 10
γ	9,2 - 81	6,4 - 13

Pathologies des protéines ou dysproteinémies

IL peut s'agir :

- D'affections révélées par une perturbation de la concentration des protéines totales.
- D'affections révélées par perturbation du profil électrophorétique.
- D'affections révélées par les variations individuelles des différentes protéines plasmatiques.

Les hypoprotéinémies

définies par un taux de protides < 65 g/l.

1- Les hypoalbuminémies : elles sont provoquées par des défauts de synthèse ou par des déperditions d'origine diverses :

- Défaut de synthèse :

1- Des carences nutritionnelles : par défaut d'apport protéique.

- kwashiorkor et marasme.
- malabsorptions et mal digestions.
- cachexie cancéreuse.

2- Des atteintes hépatocellulaires graves : cirrhoses, ictères graves

- Déperditions :

- Par perte rénale : lors du syndrome néphrotique.
- Perte digestives au cours des entéropathies exsudatives.
- Perte cutanée dans les brûlures étendues.

Les hypoprotéinémies

2- Les hypogammaglobulinémies : elles peuvent être acquises ou congénitales

- Hypo gamma ou agammaglobulinémies acquises :
Les causes de diminutions sont comme ci-dessus pour l'albumine, les déperditions rénales ou digestives.
Pour les défauts de synthèse il peut s'agir d'hypo gamma iatrogène par radiothérapie ou traitement par les corticoïdes et immunosuppresseurs.
- Hypogamma ou agammaglobulinémies primitives.
Il peut s'agir d'un déficit touchant soit l'immunité cellulaire ou humorale.

Les hyperprotéinémies

sont définies par des taux > 75 g/L. elles résultent soit :

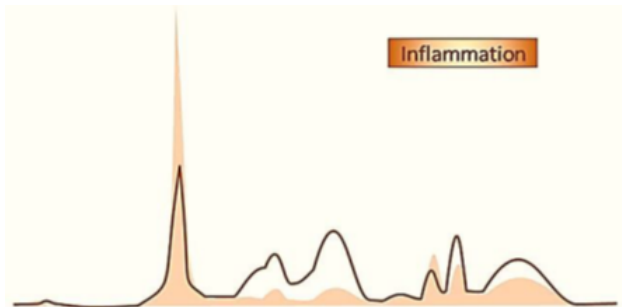
- D'une augmentation en quantité des immunoglobulines par une prolifération polyclonale (stimulation antigénique consécutive à une vaccination, une infection ou une maladie auto-immune) ou par prolifération monoclonale (pathologies malignes).
- D'une hyperfibrinémie qui s'observe surtout au cours d'un syndrome inflammatoire et peut aller jusqu'à 10 g/L (protéinémie = 85 g/L).
- D'une hémococoncentration liée à une déshydratation (hyperalbuminémie).

Les hyperglobulinémies

elles s'observent très fréquemment dans des affections diverses et l'augmentation des globulines à l'électrophorèse affecte plusieurs zones, soit la zone gamma exclusivement.

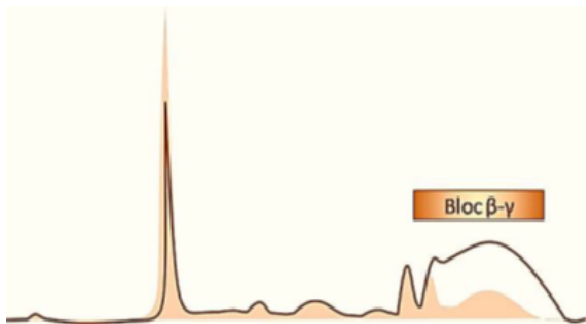
- Dans les inflammations aiguës ou chroniques et dans les infestations parasitaires :
on note une élévation concomitante des α_2 et des gammas globulines avec un profil inflammatoire à l'électrophorèse des protéines.
- Inflammation aiguë : augmentation des α_1 (α_1 antitrypsine, orosomucoïde et α_2).
- Inflammation chronique : augmentation des α_2 et γ globulines et diminution de l'albumine qui masque partiellement l'hyperprotidémie réactionnelle (taux des protéines totales normal).

Les hyperglobulinémies



Les hyperglobulinémies

Dans les cirrhoses : on retrouve le bloc $\beta\gamma$ en dos de chameau très caractéristique. Elle est due à l'augmentation des IgA et IgM qui dépasse celle des IgG et qui se positionne à l'électrophorèse entre les bêta et les gamma globulines, avec diminution de l'albumine des α et β globulines.

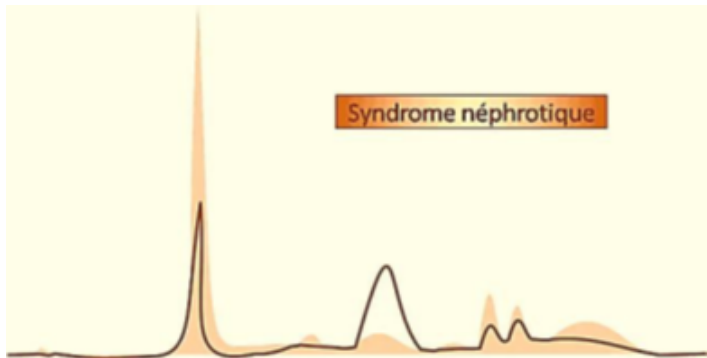


Les hyperglobulinémies

Dans le syndrome néphrotique : on retrouve diminution de l'albumine et de l'ensemble des globulines sauf α_2 macroglobuline et les β lipoprotéines responsable d'un pic en α_2 .

- Diminution de certaines fractions par fuite glomérulaire des molécules de petite taille :
 - ↓ pré albumine.
 - ↓ albumine.
 - ↓ α_1 antitrypsine et orosomucoïde migrant en α_1 .
 - ↓ de la transferrine migrant en β .
 - ↓ des IGG migrant en γ .
- Augmentation de la synthèse hépatique de macro protéines pour limiter la diminution de la pression oncotique et formation oedèmes.
 - ↑ A2 macroglobulines, haptoglobine
 - , de la synthèse des LDL migrant en α_2 .

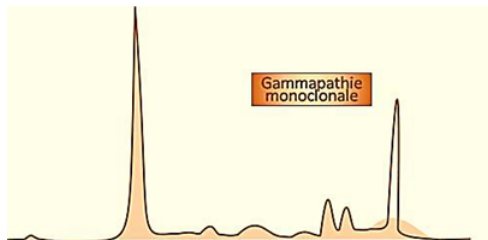
Les hyperglobulinémies



Les hyperglobulinémies

Les dysglobulinemies monoclonales : une dysglobulinémie monoclonale ou gammopathie monoclonale correspond à la synthèse d'une seule immunoglobuline par un clone cellulaire, qui peut être d'origine lymphocytaire ou plasmocytaire, en voie de multiplication anarchique.

Sur le tracé électrophorétique elle se traduit par une bande mince, étroite et très homogène, se traduisant sur la courbe densitométrique par un pic aigu et étroit, dit monoclonal.

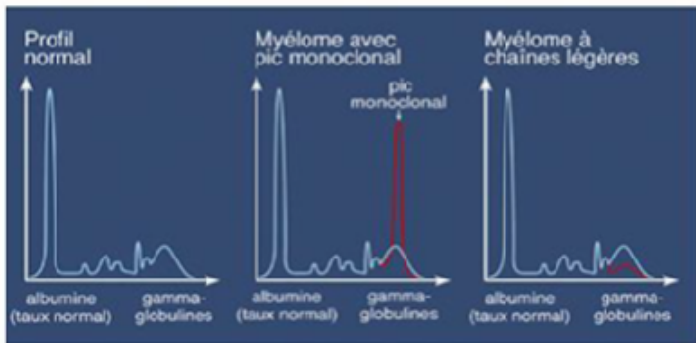


Les hyperglobulinémies

Le myélome plasmocytaire ou maladie de Kahler : C'est un cancer de la moelle osseuse. Il s'agit d'un plasmocyte médullaire malin, fréquente chez l'adulte de plus de 40 ans, surtout de sexe masculin. Cliniquement des douleurs osseuses, altération de l'état général. Radiologiquement présence de géodes osseuses, déminéralisation osseuse diffuse. Biologiquement une protidémie élevée (100 à 120 g/L), vitesse de sédimentation élevée, calcémie élevée. Par processus d'ostéolyse Le protéinogramme montre un pic monoclonal en zone γ et parfois β . Environ 15 à 20 p. cent des patients produisent uniquement la portion "chaînes légères" de l'immunoglobuline. On parle alors de chaînes légères libres également connues sous le nom de protéines de Bene-Jones. Lorsque des protéines à chaîne légère se retrouvent dans l'urine, elles s'accumulent dans les reins et causent des lésions.

Les hyperglobulinémies

Électrophorèse des protéines sériques



Les hyperglobulinémies

La macroglobulinémie de Waldenström :

C'est une hémopathie maligne qui atteint le sujet âgé. Les signes cliniques sont voisins de ceux évoquant la maladie de Kahler, avec présence de ganglions, troubles de la coagulation et une anémie. Biologiquement, une protidémie élevée, pic monoclonal en zone β , le typage montre qu'il s'agit d'une IgM.

Dans la moelle osseuse on retrouve une infiltration lympho-plasmocytaire ou reticulolymphoïde

Les hyperglobulinémies

Maladies des chaînes lourdes :

Ce sont des dysglobulinémies rares, dans lesquelles les plasmocytes monoclonaux ont perdu la faculté d'associer normalement les chaînes lourdes et légères. Les chaînes lourdes sont alors augmentées dans le sang. Biologiquement, augmentation de la protidémie, l'électrophorèse montre une large bande anormale en zone α_2 ou β liée aux chaînes lourdes. Le typage montre surtout une IgA Gammopathie bénignes : Avec profil du protéinogramme à type de myélome. L'évolution vers la malignité ne montre que 10 à 20% des cas. La surveillance a lieu par un dosage des immunoglobulines tous les trois mois.

Protéines de l'inflammation aigue

La protéine C réactive CRP :

Sa synthèse est hépatique, elle augmente sous l'action des cytokines pro-inflammatoires, principalement en réponse au médiateur IL-6. Sa demi-vie est courte d'environ 12 heures, son catabolisme a lieu par son adhérence aux parois des bactéries puis leurs destruction.

- La CRP est aussi un témoin précoce de l'efficacité thérapeutique, lors d'une antibiothérapie.
- La valeur normale varie de 0 à 6 mg/L.
- Au cours d'une inflammation aiguë, sa cinétique est rapide avec un délai de 6 à 10 heures, un maximum atteint à 24-36 heures et un retour à la normale en 3 à 4 jours (marqueur très précoce de la réaction inflammatoire et constitue un examen d'urgence dans certaines pathologies). Son augmentation est secondaire si récursive. La CRP augmente dans tous les processus inflammatoires sans exception.

Protéines de l'inflammation aigue

Orosomucoïde (ORO) :

C'est une $\alpha 1$ glycoprotéine très riche en sucres et en acide sialique, ce qui lui confère aussi le nom de glycoprotéine acide alpha 1. Sa synthèse est hépatique, elle a une demi-vie est d'environ 3 à 6 jours. Son catabolisme est hépatique. Son rôle est immunorégulateur, elle permet le recrutement d'autres protéines de la réponse inflammatoire. Elle assure le transporteur plasmatique (Médicaments, Hormones Stéroïdiennes).

- Sa valeur normale est de 0.6-1.2g/l.
- Elle augmente au cours des inflammations aiguës, subaiguës et chroniques, en particulier au cours du rhumatisme articulaire aigu de l'enfant ou maladie de bouillaud. Son pic est à environ 2 à 4 jours après le début d'un syndrome inflammatoire. L'ORO est utilisée comme un marqueur d'évolution vers la chronicité avec des concentrations qui restent souvent élevées dans ce contexte physiopathologique.

Protéines de l'inflammation aigue

Pro calcitonine (PCT) :

La pro calcitonine est un précurseur de la calcitonine, hormone produite par les cellules C de la thyroïde. Sa concentration sérique est $< 0,5 \mu\text{g/L}$. La pro calcitonine est une protéine du syndrome inflammatoire. Toutefois, sa concentration plasmatique est particulièrement élevée au cours de la phase aiguë des processus infectieux. Elle augmente dès la 3ème heure suivant le début de l'infection. Des concentrations $> 5 \mu\text{g/L}$ orientent vers une infection bactérienne quel que soit le syndrome inflammatoire qui peut être associé. Sa demi-vie de 24 heures et permet le suivi de l'évolution de la pathologie infectieuse. L'intérêt de son dosage s'observe particulièrement au cours des sepsis, méningites bactériennes et infections respiratoires.

Protéines de l'inflammation aigue

L'haptoglobine :

C'est une α_2 glycoprotéine capable de fixer l'hémoglobine d'où son nom. Elle est synthétisée par le foie et par les tissus en cours de régénération, elle a une demi vie de 3 à 6 jours avec un retour à la normale en 10 à 15 jours Son catabolisme a lieu dans les hépatocytes et les macrophages.

- Les valeurs normales sont de 1 à 2 g/L avec des valeurs très faible chez le nouveau-né.
- Les variations pathologiques sont :
 - Un abaissement voir effondrement dans les hémolyses, lors d'une insuffisance hépatique sévère et d'un déficit congénital.
 - Elévation dans les états inflammatoires, c'est un marqueur sensible de l'inflammation non spécifique, son taux peut s'élever jusqu'à 10g/l avec un pic à J3 (sa cinétique est très lente et suit de très près celle de l'orosomucoïde en réponse à un SI) mais n'a ni valeur diagnostique ni pronostique.

Protéines de l'inflammation aigue

La Ferritine :

La ferritine est une protéine représentant la forme principale des réserves en fer au niveau du foie et de la rate.

- Sa concentration sérique varie de 30 à 300 $\mu\text{g/L}$ chez l'homme et de 20 à 200 $\mu\text{g/L}$ chez la femme.
- L'intérêt de son dosage est principalement en rapport avec les troubles du métabolisme du fer. Bien que la ferritine augmente au cours des syndromes inflammatoires, elle ne constitue pas un marqueur biochimique majeur de l'inflammation.

Protéines de l'inflammation aigue

Fraction C3 du complément sérique :

La fraction C3 est située au niveau du tronc commun entre deux voies d'activation, directe et alterne. Sa concentration sérique est de 0,15 à 2 g/L. Cette protéine augmente au cours d'un syndrome inflammatoire avec une cinétique lente similaire à celle de l'haptoglobine ou de l'orosomucoïde. L'intérêt de doser cette protéine porte surtout sur sa diminution au cours d'un syndrome inflammatoire confirmé, qui indique la présence de complexes immuns circulants.

Protéines de l'inflammation aigue

Le fibrinogène :

Destiné essentiellement à se transformer en fibrine et à former le caillot au cours de la coagulation, le fibrinogène est également une glycoprotéine de la phase aigüe de l'inflammation. Sa synthèse est essentiellement hépatique, faiblement par les mégacaryocytes.

- Les valeurs normales sont de 2.5 à 3.5 g/l.
- L'intérêt de son dosage est mixte, dans tout processus inflammatoire, où son élévation accompagnera celle de la VS et les autres marqueurs de l'inflammation et en hémostase ou le TP explore particulièrement la fibrinoformation.

Les protéines négatives

Elles sont dites négatives car elles diminuent au cours d'un syndrome inflammatoire.

- Albumine (ALB) : L'ALB est décrite dans la partie dysprotéinémies. Son taux diminue au cours des syndromes inflammatoires chroniques.
- Transferrine (TSF) : Synthétisée par le foie, sa demi-vie est d'une semaine. Son rôle biologique consiste en le transport du fer sous forme d'ions ferriques (Fe^{3+}). Les valeurs normales sont de 2 à 4 g/L. La TSF diminue lors du syndrome inflammatoire chronique, sub aiguë ou aiguë sévère et varie parallèlement à la cinétique de l'albumine. L'intérêt de son dosage réside surtout dans le diagnostic des carences en fer qui peuvent accompagner un syndrome inflammatoire.

Les méthodes de dosage des protéines de l'inflammation

Le dosage quantitatif des protéines de l'inflammation fait appel aux techniques immunochimiques basées sur les réactions de type anticorps-antigène en milieux liquide. Les principales techniques utilisées sont :

- L'immuno-néphélémétrie (l'immuno-turbidimétrie) qui permet de détecter la formation de Complexes Immuns insolubles (CI). Ces CI provoquent une augmentation de la turbidité du milieu réactionnel. La turbidité est mesurée par le néphélomètre à rayon Laser.
- L'immunomarquage dont le principe est de fixer sur un des réactifs une substance qui permettra d'identifier l'immun complexe formé.