



PCEM1

THÈME VI : LE MILIEU INTÉRIEUR

SOMMAIRE

3 BIOPHYSIQUE

L'eau - les solutions	6
La diffusion	13
Les propriétés colligatives des solutions	18
Les propriétés électriques des solutions micromoléculaires	26
Les phénomènes de surface	33
pH des solutions tampons et des ampholytes	38
Le diagramme de Davenport	43
Les potentiels d'électrodes	50
Les solutions macromoléculaires	54
Équilibre de Donnan	62
L'électrophorèse sur support	69
Applications médicales	72

76 BIOCHIMIE

Introduction à la Biochimie clinique	77
Exploration biochimique du métabolisme hydrominéral	84
Exploration biochimique des composés azotés non protéiques	96
Exploration biochimique des protéines plasmatiques	103
Exploration du métabolisme acido-basique	116
Exploration fonctionnelle du métabolisme glucidique	123
Exploration du métabolisme des lipoprotéines	127
Exploration biochimique des enzymes sériques	131

139 HISTOLOGIE EMBRYOLOGIE

Histologie du sang	140
L'hématopoïèse	156

167 HÉMATOLOGIE

Physiologie de l'hémostase	168
----------------------------	-----

PCEM1

THÈME VI : LE MILIEU INTÉRIEUR

BIOPHYSIQUE

Responsable de la coordination de l'enseignement de Biophysique du thème VI : **Pr Ag Aida MHIRI**

Liste des enseignants ayant contribué à l'élaboration et à la mise à jour de ce document

Pr Sadok MTIMET (que DIEU ait son âme). ; Pr Mohamed Faouzi BEN SLIMENE ; Pr Neila CHAHED
Pr Fatma ESSAFI ; Mr Mohamed GHEZAIEL ; Mme Radhia CHEKIR ; Mr Béchir BEN LAMINE ;
Mme Saida GHRAB ; Pr Ag Aida MHIRI ; Mme Ilhem MEZNI

En collaboration avec tout le personnel technique et administratif de la section de Biophysique
de la Faculté de Médecine de Tunis depuis sa création.

SOMMAIRE

La Biophysique du thème VI s'intéresse au milieu intérieur de notre organisme, constitué essentiellement de solutions composées de solvant et de solutés micro et macromoléculaires. Ainsi nous distinguerons deux parties :

- LES SOLUTIONS MICROMOLECULAIRES
- LES SOLUTIONS MACROMOLÉCULAIRES

Nous verrons dans l'ordre les chapitres suivants:

CHAPITRE I : L'eau - les solutions

CHAPITRE II : La diffusion

CHAPITRE III : Les propriétés colligatives des solutions

CHAPITRE IV : Les propriétés électriques des solutions micromoléculaires

CHAPITRE V : Les phénomènes de surface

CHAPITRE VI : pH des solutions tampons et des ampholytes

CHAPITRE VII : Le Diagramme de DAVENPORT

CHAPITRE VIII : Les potentiels d'électrodes

CHAPITRE IX: La physico-chimie des macromolécules

- Introduction à la physico-chimie

- Les phénomènes électrocinétiques

- La Flocculation

- La solubilité des protéines

CHAPITRE X : Le phénomène de DONNAN

CHAPITRE XI : L'électrophorèse sur support

CHAPITRE XII: Applications médicales

TRAVAUX PRATIQUES :

- Conductivité des solutions électrolytiques

- pH des solutions tampons

Prérequis

Programme de Physique de terminale de l'enseignement secondaire.

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- Connaître les propriétés physico-chimiques de l'eau et son rôle dans l'organisme.
- Définir les différents types de concentrations d'une solution.
- Établir la relation entre l'activité et la concentration d'une solution.
- Établir et appliquer la loi de la diffusion.
- Définir les différents types de membranes.
- Calculer la pression osmotique d'une solution.
- Calculer l'abaissement cryoscopique d'une solution.
- Expliquer le schéma de STARLING.
- Définir et calculer la concentration équivalente
- Définir la conductivité et la conductivité équivalente d'un électrolyte.
- Expliquer la théorie des électrolytes.
- Définir la tension superficielle
- Connaître la formule de la surpression dans une goutte d'eau
- Connaître la formule de la surpression dans une bulle
- Définir une substance tensioactive
- Expliquer le rôle du surfactant
- Calculer le pH d'une solution.
- Définir le pouvoir tampon d'une solution.
- Définir un ampholyte.
- Tracer schématiquement un diagramme de Davenport avec au moins l'isobare normale et la droite d'équilibration normale du CO_2 et placer le point représentatif de l'état normal.
- Placer sur le diagramme le point représentatif de l'état d'un sujet qui présente un trouble et discuter son état de déséquilibre acido-basique par rapport au sujet normal.
- Proposer, à partir de la position du point représentatif de l'état du sujet sur le diagramme, les notions de trouble initial et de processus de compensation.
- Représenter la droite d'équilibration du CO_2 du sujet anémique.
- Définir le potentiel électrocinétique d'une macromolécule.
- Définir l'équilibre de DONNAN.
- Établir la relation de DONNAN. Calculer les concentrations.
- Expliquer l'électrophorèse sur support (principe et applications).
- Expliquer la filtration glomérulaire.
- Expliquer la dialyse et l'épuration extrarénale.

PREMIÈRE PARTIE

LES SOLUTIONS MICROMOLECULAIRES

CHAPITRE I : L'EAU - LES SOLUTIONS

À- L'EAU

I- L'EAU: MILIEU BIOLOGIQUE

Les organismes vivants contiennent une grande proportion d'eau.

La méduse, invertébré marin, est constituée de 97% d'eau.

Les bactéries sont constituées de 30% d'eau.

Entre ces deux limites se situe l'homme. La masse de l'eau chez l'adulte est environ égale à 2/3 de la masse corporelle soit à peu près 60%. Cette quantité d'eau varie avec l'âge, elle tend à diminuer avec la vieillesse, elle augmente chez le sujet maigre et diminue chez le sujet obèse étant donné que la graisse contient très peu d'eau.

Cette eau se répartit en deux compartiments:

- * L'eau intracellulaire à l'intérieur des cellules.
- * L'eau extracellulaire à l'extérieur des cellules, elle se répartit sur deux milieux : le plasma et l'espace interstitiel.

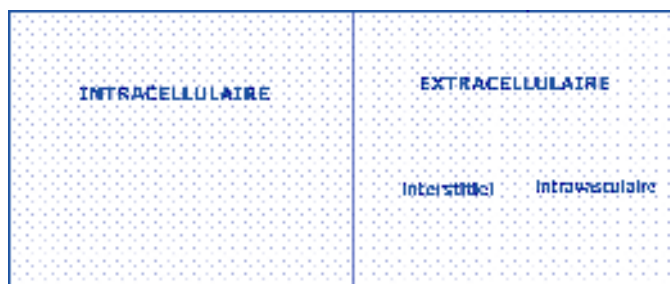


Fig 1 : Répartition de l'eau dans l'organisme

Ces 60% de la masse corporelle se répartissent de la manière suivante :

- * 40% constituent l'eau intracellulaire.
- * Les 20% qui restent se répartissent en deux compartiments extracellulaires:
 - Le compartiment vasculaire.
 - Le milieu interstitiel.

Chez l'homme, il est possible d'explorer chacun de ces compartiments par la **méthode de dilution**.

Pour explorer un compartiment, on suppose qu'il n'y a pas d'échanges entre ce compartiment et l'extérieur. On détermine le volume V d'un compartiment, en injectant dans ce compartiment une petite quantité m_{inj} d'un produit de volume v_{inj} dont la valeur est négligeable devant V , de telle sorte que $V+v_{inj}$ soit sensiblement égal à V et de concentration massique (ou activité radioactive) c_{inj} tel que:

$$m = v_{inj} \times c_{inj}$$

Ce produit va se diluer dans l'ensemble du secteur dont le volume devient $V+v_{inj} \approx V$, sa concentration va devenir c .

En tenant compte de la conservation de la masse injectée, on peut écrire:

$$m = v_{inj} \times c_{inj} = c \times V$$

Par cette méthode, on peut déterminer le volume de la masse sanguine c'est-à-dire le volume du compartiment vasculaire en injectant un produit qui reste dans les vaisseaux. Le produit injecté est un colorant par exemple : le **bleu Evans** ou le **cardio-green**.

Pour déterminer le volume plasmatique, on peut utiliser:

- * Des hématies marquées au chrome radioactif $^{51}\text{Cr}^*$.
Pour cela, on fait un prélèvement d'hématies chez un malade, on les marque et on les lui réinjecte. Quand la dilution homogène est réalisée, connaissant l'activité du produit injecté et son volume, on refait un prélèvement dont on détermine l'activité.

- * La sérum-albumine marquée à l'iode ^{131}I .

Soit A_0 , l'activité radioactive dans le volume injecté v et A , l'activité radioactive dans le volume à déterminer V ; on a :

$$V = \frac{A_0}{A} v$$

- * Pour explorer l'eau totale de l'organisme, on injecte un produit qui traverse toutes ses parois. Ce produit peut être de l'eau lourde (D_2O), de l'eau tritiée (Tr_2O) ou de l'**urée marquée**.

- * Pour la détermination du volume du compartiment **extracellulaire** (plasmatique + interstitiel), on utilise du mannitol ou de l'inuline qui traversent la paroi vasculaire, mais ne traversent pas la paroi cellulaire.

- * La différence entre les volumes de l'eau totale et extracellulaire donne le volume du compartiment **intracellulaire**.

REMARQUE : Pour le choix des substances injectées, nous devons respecter quelques conditions : telles que le produit injecté doit être non toxique, facile à doser, il doit être à élimination lente et non métabolisable....

II- STRUCTURE DE LA MOLÉCULE D'EAU

L'étude de la diffraction des rayons X par les molécules d'eau montre qu'elles ont une structure symétrique. Chaque molécule est constituée d'un atome d'Oxygène lié à deux atomes d'Hydrogène (H_2O) ; la liaison O-H est covalente (Fig 2a), La distance O-H est égale à 0,958Å. Cette liaison covalente est polarisée, car l'oxygène et l'hydrogène ont des électronégativités différentes. Le nuage électronique est déplacé vers l'oxygène qui est plus électronégatif que l'Hydrogène ; chaque atome d'Hydrogène porte une charge électrique égale à $+0,6e$ et l'atome d'Oxygène porte une charge $-2,0e$.

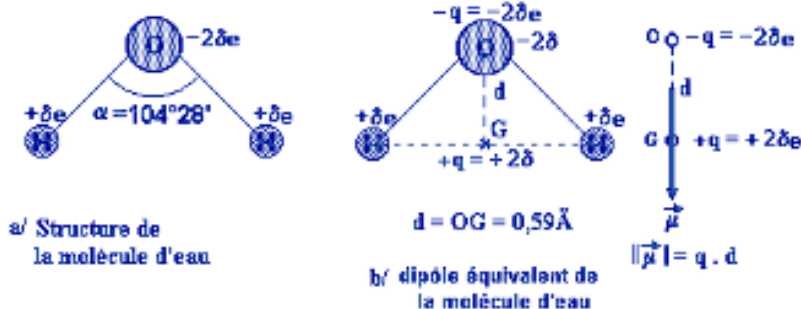


Fig 2 : Structure et dipôle équivalent de la molécule d'eau

On peut assimiler la molécule d'eau (Fig 2b) à un dipôle électrique $[-q] \rightarrow [+q]$; $-q$ est la charge portée par l'Oxygène, $+q$ est la charge portée au centre de gravité des deux Hydrogènes ; $d = 0,59 \text{ \AA}$ est la distance séparant ces deux charges.

Le moment dipolaire est $\vec{\mu} = q \times d$.

* Dans le système international (SI) μ s'exprime en **C.m**

* Si q est en unités électrostatiques c.g.s (u.e.s.c.g.s), d en cm ; μ s'exprime en **Debye (D)**.

$1 \text{ D} = 1/3 \cdot 10^{-29} \text{ C.m}$; pour l'eau $\mu = 1,84 \text{ D}$.

Il existe un champ électrique créé par ce dipôle qui explique:

- * Les liaisons intermoléculaires dans l'eau.
- * Les liaisons de l'eau avec les électrolytes.
- * Les dipôles induits.

II- 1- LA LIAISON HYDROGÈNE

Dans la molécule d'eau, **H** porte une charge $+$ e. Il peut entrer en liaison avec un autre atome à condition que:

- * Cet atome soit très **électronégatif**.
- * l'atome dispose de **doublets électroniques libres**.

Entre deux molécules d'eau voisines, il va y avoir formation d'une liaison entre l'Hydrogène de l'une et l'Oxygène de l'autre : c'est la liaison d'hydrogène

II- 2- ASSOCIATION DE MOLÉCULES D'EAU ENTRE ELLES.

L'eau existe sous forme solide, liquide ou gaz. La structure de l'eau diffère selon son état :

- * À l'état solide, la structure de l'eau est tétraédrique (Fig 4).



Fig 4 : Structure tétraédrique de l'eau solide

- * À l'état liquide, la structure de l'eau n'est que partiellement conservée. L'agitation thermique va rompre les liaisons H.

III- PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DE L'EAU

L'eau sert de référence pour plusieurs propriétés.

III- 1- MASSE VOLUMIQUE

La masse volumique d'un corps est le rapport de la masse de ce corps sur son volume ; elle est fonction de la température. Pour les liquides en général, lorsque la température augmente, la masse volumique diminue, car : l'agitation thermique augmente, les particules s'éloignent les

unes des autres et le volume augmente.

Pour l'eau, la variation de la masse volumique avec la température est différente.

- * Lorsque la température passe de 0°C à 4°C , la masse volumique augmente (au lieu de diminuer). L'agitation thermique rompt quelques-unes des liaisons hydrogène, ce qui va permettre de rapprocher les molécules les unes des autres d'où l'augmentation de ρ .
- * À partir de 4°C , la masse volumique diminue lorsque la température augmente. L'agitation thermique augmentant, va éloigner les molécules d'eau les unes des autres et entraîner la diminution de ρ .

III- 2- CHALEUR SPÉCIFIQUE

On appelle chaleur spécifique c , la quantité de chaleur nécessaire pour élever la température de 1° . c s'exprime en calories par degré et par gramme. c est en Joule par degré et par kilogramme dans le système international.

La calorie est la quantité de chaleur nécessaire pour élever la température de 1 gramme d'eau de $14,5$ à $15,5^\circ\text{C}$. Pour l'eau, elle est de $1 \text{ cal/g} \cdot ^\circ\text{C}$.

Cette valeur est la plus élevée de tous les corps connus. Dans l'organisme, il y a un grand pourcentage d'eau, qui joue, tenant compte de cette propriété, un rôle considérable dans la **régulation thermique**. Il faut beaucoup de chaleur pour élever la température de quelques degrés; et lors d'un refroidissement du milieu extérieur, l'eau peut restituer une grande quantité de chaleur.

III- 3- CHALEUR DE VAPORISATION OU CHALEUR LATENTE «L»

C'est la quantité de chaleur **L** en calories qu'il faut fournir à 1g de liquide pour le transformer, à une température donnée **T**, en vapeur saturante.

Pour l'eau à 37°C , **L = 580 cal/g**. C'est une valeur très élevée qui joue un rôle important dans la régulation thermique des êtres vivants.

III- 4- COEFFICIENT DE VISCOSITÉ η

La viscosité est la résistance, qui résulte de forces de frottement, que trouve une substance pour traverser une autre, elle s'exprime en **Poiseuille (Pl)** dans le système international et en **poise** dans le système c.g.s (la notion de viscosité est traitée dans le thème 9).

$1 \text{ Pl} = 10 \text{ Poises}$

Pour l'eau ; $\eta = 0,01 \text{ Poise}$ à 20°C

III- 5- TENSION DE SURFACE σ

Si un liquide a une surface S , pour augmenter sa surface d'une quantité ΔS , il faut fournir une énergie ΔW proportionnelle à sa surface telle que :

$$\Delta W = \sigma \cdot \Delta S$$

σ est le coefficient de tension superficielle, c'est l'énergie qu'il faut fournir pour que la surface augmente d'une unité.

σ s'exprime en **Joule.m⁻²** dans le système **SI**, en **erg.cm⁻²** ou en **dyne.cm⁻¹** (**erg.cm⁻² = 1dyne.cm⁻¹**) dans le système cgs.

Pour l'eau, $\sigma = 0,073 \text{ J.m}^{-2} = 73 \text{ dynes.cm}^{-1}$ ou 72 erg.cm^{-2} est une valeur élevée (à titre indicatif, pour le benzène $\sigma = 29 \text{ dynes.cm}^{-1}$). (La notion de tension superficielle viscosité est traitée dans le thème 8)

III-6- CONSTANCE DIÉLECTRIQUE ϵ_r

La constante diélectrique de l'eau ou permittivité relative $\epsilon_r = 80$ est une valeur élevée qui s'explique par l'existence du dipôle permanent H_2O . Elle explique de façon macroscopique cette organisation dipolaire.

IV- PROPRIETES SOLUBILISANTES DE L'EAU

L'eau hydrate les molécules de soluté et dissocie les électrolytes

IV-1- HYDRATATION

La molécule d'eau s'associe avec toute autre particule chargée : c'est l'hydratation ou solvation.

Les ions attirent l'extrémité du pôle hydrique de signe opposé au leur. Cette attraction est d'autant plus forte que le champ électrique est important c'est-à-dire si l'ion est petit. L'ion en solution va donc voir son diamètre augmenter (Fig 6). Pour calculer ultérieurement la mobilité de l'ion, il faut tenir compte de cette couronne d'eau qui l'entoure et qui modifie sa mobilité intrinsèque.

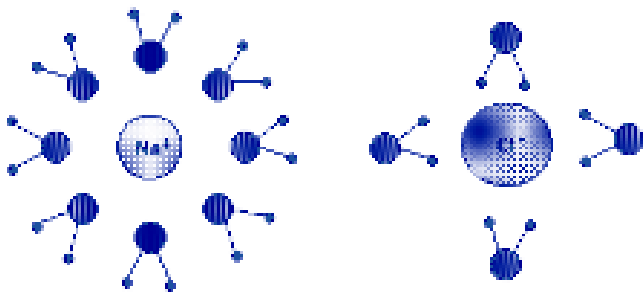


Fig 6 : Action de l'eau sur les électrolytes. Solvation des ions

IV-2- DISSOCIATION DES ÉLECTROLYTES

L'eau pure ne conduit pas le courant. Un électrolyte en solution conduit le courant. La dissolution d'un corps entraîne sa dissociation d'où la création de porteurs de charges. Le porteur de charge préexiste et il est libéré lors de la dissolution.

Dans l'organisme, l'eau constitue le solvant majeur pour les électrolytes et les substances organiques.

- * Pour les électrolytes, il y a des liaisons ioniques qui interviennent.
- * Pour les substances organiques, deux cas sont à distinguer :
 - Les molécules à configuration polaire: Exemples: ROH , RCOOH , RCH=O , RNH_2 . Ceci permet aux diffé-

rentes molécules de s'associer avec l'eau. C'est le cas des substances dites hydrophiles. Elles sont solubles dans l'eau.

- Les molécules apolaires qui sont des substances hydrophobes. Ces substances ont tendance à se regrouper et leur solubilité est essentiellement liée à la liaison H. C'est le cas de certaines solutions macromoléculaires

V- AUTRES PROPRIÉTÉS

- **Diffusion** : Les ions comme les molécules dispersées dans l'eau vont pouvoir se déplacer dans l'eau et diffuser d'un compartiment à un autre.
- **Transfert à travers une paroi** : L'eau va pouvoir traverser toutes les parois.
- **Rôle d'inertie** : Deux facteurs interviennent:
 - * La conductibilité thermique de l'eau.
 - * Sa chaleur massique étant élevée, l'eau va absorber une grande quantité de chaleur pour élever sa température d'une faible valeur.
- **Rôle d'élimination** : L'eau s'évapore par la peau et par les poumons.
- **Divers** : L'eau intervient dans le métabolisme : hydrolyse et biosynthèse avec formation d'eau. L'eau permet de maintenir constant le pH de l'organisme. L'eau intervient dans la formation de radicaux libres lors des irradiations par des radiations ionisantes (Thème 7)...

B- LES SOLUTIONS

I- GÉNÉRALITÉS

Une solution est un mélange homogène à l'échelle moléculaire entre deux ou plusieurs corps différents.

Une solution ne comprend qu'une seule phase et s'oppose aux systèmes dispersés, constitués de deux phases: l'une d'elles (phase dispersante) contenant l'autre (phase dispersée) à l'état de particules plus ou moins fines.

Dans une solution on distingue le solvant (le plus abondant) et les corps dissous ou solutés.

Si la phase dispersante est un liquide et la phase dispersée est un gaz, il s'agit d'écumis ou mousse. Si la phase dispersée est un liquide, il s'agit d'une émulsion. Si la phase dispersée est un solide, il s'agit d'une solution vraie, d'une solution colloïdale ou d'une suspension.

Selon la taille et la nature des particules dispersées, on distingue:

I- 1 - LES SOLUTIONS MICROMOLÉCULAIRES

Les particules dispersées pour ces solutions sont constituées d'atomes, de molécules ou d'ions. Leur taille est inférieure à 10 Å et le nombre d'atomes par particule ne dépassant pas 103. Ces solutions traversent le papier filtre, dialysent et sont invisibles au microscope et à l'ultramicroscope.

I- 2- LES SOLUTIONS COLLOÏDALES OU MACROMOLÉCULAIRES

Elles sont constituées de molécules ou polymères, le nombre d'atomes par particule est de 103 à 109 et la taille est de 10-3 à 0,1µ. Ces solutions traversent le papier filtre, ne dialysent pas, sont invisibles au microscope, mais généralement visibles à l'ultramicroscope.

I- 3- LES SUSPENSIONS

Leur diamètre est supérieur à $0,1\mu$; le nombre d'atomes par particule est supérieur à 109. Elles ne traversent pas le papier filtre et sont visibles au microscope. Exemple: suspension d'hématies.

Le sang est un mélange de ces trois types de solutions.

II- EXPRESSION QUANTITATIVE D'UNE SOLUTION

II- 1- CONCENTRATION MASSIQUE : C

La concentration massique (c) est la **masse de soluté par unité de volume de la solution**; c s'exprime en g.L^{-1} . Si m est la masse du soluté et V le volume de la solution, on a :

$$c = \frac{m}{V}$$

Cette concentration est très utilisée en médecine ; exemple la concentration massique de l'urée dans le sang est : $c = 0,3 \text{ g.L}^{-1}$.

II- 2- CONCENTRATION MOLAIRE OU MOLARITÉ

C'est le **nombre de moles de soluté par unité de volume** de la solution. Si le nombre de moles de soluté est n et V le volume de la solution, la molarité C s'écrit :

$$C = \frac{n}{V} = \frac{m}{M \cdot V} = \frac{c}{M}$$

m/V étant la concentration massique c

- * L'équation aux dimensions de C est : $[C] = [V^{-1}] = \text{L}^{-3}$
- * C s'exprimera en mol.L^{-1} .
- * Le nombre de moles n est le rapport de la masse sur la masse molaire d'où
- * M peut être une masse molaire moléculaire ou ionique (qui est sensiblement égale à la masse molaire atomique puisque l'ion et l'atome ont des masses sensiblement égales).

II- 3- MOLALITÉ

Elle est peu utilisée, c'est le nombre de moles par kg de solvant.

II- 4- NORMALITÉ

C'est le nombre de moles de fractions acides ou basiques par litre de solution. Elle est indiquée, comme la molarité par un nombre suivi de la lettre N.

II- 5- CONCENTRATION ÉQUIVALENTE

Les électrolytes, initialement neutres, se dissocient en ions positifs et en ions négatifs. Les quantités d'électricité positive et négative ainsi produites sont égales en valeur absolue.

Si z est la valence d'une espèce d'ion, une mole de cette espèce transporte une charge électrique égale à : $z.N.e$; e étant la charge de l'électron et $N.e$ est la charge de N électrons qui, par définition est égale à **1 Faraday** ; on dit qu'une mole d'ions donne z équivalents (N est le nombre d'Avogadro).

Soit **1 Faraday** = $6,023 \cdot 10^{23} \cdot 1,6 \cdot 10^{-19} \text{C}$ = 96.500C

La **concentration équivalente** d'une solution est le nombre d'équivalents par litre. Elle est définie pour une espèce d'ions donnée.

La masse d'une espèce d'ion qui transporte 1 Faraday et qui correspond à **1 équivalent (1 Eq)** est donc égale à $\frac{M}{z}$; M est la masse molaire ionique

Si c est la concentration massique de cette espèce d'ions; la concentration équivalente est C_e telle que :

$$C_e = \frac{c}{M} = \frac{c}{M} \cdot z$$

Pour une solution donnée, la somme des concentrations équivalentes des espèces d'ions chargés positivement est **égale** à la somme des concentrations équivalentes des espèces d'ions chargés négativement, car **une solution est électriquement neutre**.

On définit également la **concentration équivalente d'un électrolyte** comme étant la concentration équivalente de l'une des espèces d'ions qu'il donnerait s'il était totalement dissocié. Si un électrolyte a une concentration molaire C et si une mole donne n_a anions de valence z_a et n_c cations de valence z_c , la concentration équivalente de cet électrolyte est :

$$C_e = C \cdot n_a \cdot z_a = C \cdot n_c \cdot z_c$$

II- 6- OSMOLARITÉ

II-6-1- NOTION D'OSMOLE

Les particules de soluté dans une solution peuvent être des molécules non dissociées ou des ions (provenant des molécules dissociées) ; ce sont des particules cinétiquement actives appelées encore osmoles.

II-6- 2- OSMOLARITÉ D'UNE SOLUTION

II-6- 2- 1- Définition

L'osmolarité d'une solution est le nombre de moles de particules cinétiquement actives (ou osmoles) par unité de volume.

Une mole de particules est un ensemble contenant N_a particules ; N_a étant le nombre d'Avogadro.

$$\text{Osmolarité} = \frac{\text{nombre d'osmoles}}{\text{Volume}}$$

Unité :

Étant donné que l'osmolarité est le rapport d'un nombre (donc sans unité) et d'un volume ; l'équation aux dimensions de l'osmolarité est :

[osmolarité] = L^{-3} ; d'après les conventions internationales, l'osmolarité s'exprimera en **moles par litre (mol.L^{-1})**.

II-6- 2- 2- Expression

Considérons un électrolyte qui se dissocie partiellement avec un degré de dissociation α . Si chaque molécule qui se dissocie donne p particules.

Avec :

$$\alpha = \frac{\text{nombre de moles dissociées}}{\text{nombre de moles total}}$$

- * Si n est le nombre de moles de soluté introduites, on aura alors $\alpha.n$ moles dissociées et $n - \alpha.n$ moles non dissociées.
- * Les $\alpha.n$ moles dissociées donnent lieu à $p.\alpha.n$ moles d'ions dans la solution.
- * Le nombre total de moles de particules qui est le

nombre d'osmoles est la somme du nombre de moles non dissociées et du nombre de moles d'ions formés ; soit :

$$n - \alpha \cdot n + p \cdot \alpha \cdot n = n [1 - \alpha + p \cdot \alpha] = n [1 + \alpha(p - 1)]$$

non dissociées dissociées

On pose $i = 1 + \alpha(p - 1)$

i est, par définition, le **coefficient d'ionisation** qu'il ne faut pas confondre avec le **degré de dissociation** α .

L'osmolarité s'écrit alors, pour un soluté de concentration massique c et de masse molaire M et de degré d'ionisation i :

$$\text{Osmolarité} = \frac{c}{M} \cdot i = C \cdot i = C [1 + \alpha(p - 1)]$$

II-6- 2- 3- Osmolarité d'une solution contenant plusieurs solutés

Si dans une solution on a plusieurs solutés, caractérisés chacun par une osmolarité : le nombre total de moles de particules cinétiquement actives en solution est égal à la somme de toutes les particules cinétiquement actives; ou : l'osmolarité totale est égale à la somme des osmolarités de chacun des solutés.

$$\text{Osmolarité} = \sum \text{Osmolarités} = \sum \frac{c}{M} \cdot i = C \cdot i$$

Les solutions ont des propriétés, tel que les propriétés colligatives (cryoscopie, pression osmotique ...) les propriétés électriques, pH ... qui obéissent à des lois où intervient la concentration.

L'application de ces lois n'est cependant rigoureuse que si la dilution du soluté dans ces solutions est très grande donc la concentration est très faible.

En dehors de ce cas, et pour rétablir la validité de ces lois simples, il faut remplacer la notion de **concentration** par la notion d'**activité**.

L'activité A d'une solution est donc la valeur de la concentration idéale C qui donnerait la même propriété cryoscopique, osmotique ... à cette solution.

Dans l'expression de ces lois, la concentration doit être remplacée par l'activité. On définit un coefficient d'activité γ tel que:

$$A = \gamma \cdot C \quad (C = \text{molarité} ; A = \text{activité molaire})$$

$$\text{ou } a = \gamma \cdot c \quad (c = \text{concentration massique} \\ a = \text{activité massique})$$

Le coefficient γ n'a pas d'unité, il est inférieur à 1 et tend vers 1 quand la concentration de la solution est faible.

III- ACTIVITÉ D'UNE SOLUTION

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1

Pour mesurer les volumes des différents compartiments hydriques de l'organisme, on utilise la méthode de dilution avec des substances adéquatement choisies.

a/ Pour déterminer le volume de l'eau totale de l'organisme, on utilise par exemple l'urée marquée ou l'eau tritiée.

b/ Pour déterminer le volume de l'eau extracellulaire on utilise par exemple le mannitol ou l'inuline qui sont des molécules de masses molaires élevées : de quelques milliers de grammes.

c/ Pour déterminer l'eau plasmatique, on utilise par exemple des hématies marquées au ^{51}Cr ou de l'albumine marquée à l'iode ^{131}I .

1/ Associer à chaque cas (a ; b ; c) une ou plusieurs des propositions suivantes :

A/ La substance traverse la paroi vasculaire, mais ne traverse pas la paroi cellulaire.

B/ La substance ne doit pas être toxique.

C/ La substance doit être à élimination lente.

D/ La substance diffuse dans tout l'organisme.

E/ La substance ne traverse ni la paroi vasculaire ni la paroi cellulaire

F/ La substance est facile à doser.

G/ La substance peut être métabolisable.

2/ Si v_{inj} est le volume, c_{inj} est la concentration du produit injecté et c , la concentration de ce produit après dilution, écrire l'expression qui permet le calcul du volume V recherché.

3/ Comment peut-on déterminer le volume du liquide intracellulaire et celui du liquide interstitiel.

Test 2.

La molécule d'eau H_2O est dite polaire, elle est équivalente au point de vue électrique à un dipôle de moment dipolaire $\mu = 1,9$ Debyes. Sachant que dans la molécule d'eau, la distance O-H est $0,96\text{\AA}$ et que l'angle entre les deux liaisons O-H dans la molécule d'eau est $\alpha = 104^\circ 28'$.

1/ Tracer un schéma du dipôle équivalent de la molécule d'eau.

2/ Calculer la valeur de la charge q .

On donne : $1 \text{ Debye} = 1/3 \cdot 10^{-29} \text{ C.m}$; $\cos 52^\circ 14' = 0,61$

Test 3.

Entre les ions Na^+ et Cl^- du chlorure de sodium existent des forces électriques.

1/ Quelle est la loi qui régit ces forces électriques dans un milieu de permittivité $\epsilon = \epsilon_r \cdot \epsilon_0$

2/ Comparer les normes de ces forces électriques dans le cas où les ions se trouvent dans l'air $\epsilon_r = 1$ et dans le cas de l'eau $\epsilon_r = 80$. Conclusion.

3/ Ecrire l'équation aux dimensions de ϵ , ϵ_0 et ϵ_r

Test 4.

À la température ambiante (20°C), un adulte au repos, produit environ 2000 kilocalories par jour dont 21 % sont éliminés par la respiration cutanée.

Sachant qu'à 20°C , il n'y a pas de perte d'eau de l'organisme par transpiration, calculer la quantité d'eau amenée à la surface de la peau pendant 24 heures. On donne : chaleur latente de vaporisation $L = 796 - 0,695.T$ (cal.g^{-1})

Test 5.

1/ Quelle est la concentration massique et la molarité des solutions suivantes :

a/ $NaCl$ à 9 g.L^{-1} ; $Na = 23 \text{ g.mol}^{-1}$; $Cl = 35,5 \text{ g.mol}^{-1}$

b/ Urée à 18 g.L^{-1} ; $M = 60 \text{ g.mol}^{-1}$

c/ Glucose à 54 g.L^{-1} ; $M = 180 \text{ g.mol}^{-1}$.

2/ Calculer la molarité et la normalité de :

a/ Une solution de HCl à 12 g.L^{-1} .

b/ Une solution de H_2SO_4 à 49 g.L^{-1}

c/ H_2SO_4 $0,1N$; on donne : $H = 1 \text{ g.mol}^{-1}$; $S = 32 \text{ g.mol}^{-1}$; $O = 16 \text{ g.mol}^{-1}$

Test 6.

Les concentrations de K^+ sont : 5 mmol.L^{-1} dans le plasma et 70 mmol.L^{-1} dans le sang total. L'hématocrite du sujet est $0,44$. Calculez la concentration de K^+ dans les érythrocytes.

Test 7.

Une solution aqueuse contient uniquement Cl^- , HCO_3^- , Na^+ et K^+ ; Les concentrations de Cl^- , Na^+ et K^+ sont respectivement 100, 95 et 19 mmol.L⁻¹.

1- Calculer la concentration molaire **C** de HCO_3^- .

2- Que devient **C** si on remplace HCO_3^- par SO_3^{2-} .

Test 8.

Pour obtenir une solution **S** de composition suivante en mmol.L⁻¹ :

[Cl⁻] = 90 ; [Na] = 100 ; [SO₄] = 10 ; [K⁺] = 10 ; on dispose de :

A/ de chlorure de sodium ; B/ de sulfate de sodium et C/ de chlorure de potassium solide.

Calculer, pour chaque sel, la masse correspondante qu'on doit dissoudre pour obtenir un litre de solution. On donne les masses molaires en g.mol⁻¹ :

Ca	Mg	Na	K	H	C	O	S	Cl
40	24	23	39	1	12	16	32	35,5

Test 9.

1/ Soit une solution électrolytique contenant un soluté de concentration massique **c**, de masse molaire **M** ; chaque molécule de ce soluté donne **n_a** anions de valence **z_a** et **n_c** cations de valence **z_c**.

Ecrire l'expression de la concentration équivalente de cette solution.

2/ Calculer la concentration équivalente des composés suivants :

Composé	M (g.mol ⁻¹)	c (g.L ⁻¹)
a/ Na ⁺	23	3,25
b/ Ca ⁺⁺	40	0,1
c/ Cl ⁻	35,5	4,26
d/ Urée	60	0,3
e/ NaCl	58,5	9,0
f/ CaCl ₂	111	0,222

Test 10.

Traitement de l'anémie :

Les médicaments prescrits pour lutter contre l'anémie contiennent l'élément fer. C'est le cas de deux préparations pharmaceutiques dont l'une se présente sous forme d'ampoules buvables et la deuxième sous forme de comprimés.

* Une ampoule buvable de 5 ml contient 177 mg de chlorure de fer II.

* Un comprimé contient 105 mg d'ion fer II.

1- Déterminer la concentration molaire des ions Fe⁺⁺ dans une ampoule buvable.

2- Lequel des deux médicaments est plus riche en fer ?

On donne les masses molaires du Fe : 56 g.mol⁻¹ et celle du Cl : 35,5 g.mol⁻¹.

CHAPITRE II : LA DIFFUSION

I- DÉFINITION

La diffusion est le transport de matière dû à l'agitation thermique, c'est-à-dire au mouvement Brownien des molécules. Il existe donc une relation étroite entre les phénomènes de diffusion et la température.

La diffusion est importante en Biologie parce qu'elle est responsable en partie du mouvement moléculaire entre les différents compartiments du milieu intérieur.

La diffusion est à la base de ce qu'on appelle les propriétés colligatives des solutions :

- * pression osmotique

- * cryoscopie

C'est un phénomène général que l'on retrouve au contact de deux corps différents : qu'ils soient à l'état gazeux, liquide ou solide.

II- MISE EN ÉVIDENCE

II-1- DIFFUSION DES GAZ

Soit deux ballons identiques communiquant entre eux par l'intermédiaire d'un robinet contenant (Fig1) :

- * H_2 dans le ballon supérieur.

- * CO_2 dans le ballon inférieur.

Les pressions des deux gaz sont respectivement P et P' et l'ensemble du système est maintenu à la température constante.

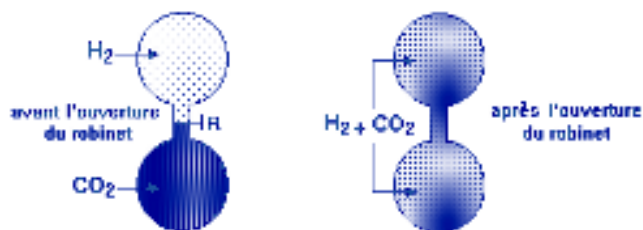


Fig 1 : Mise en évidence du phénomène de la diffusion des gaz

Si on ouvre le robinet, et au bout d'un certain temps, on remarque que les deux ballons sont remplis du même mélange des deux gaz.

On en conclut que des mouvements se sont produits : **les gaz ont diffusé** :

- **Au début** : dans le ballon supérieur, la pression de l'hydrogène H_2 était P et celle du gaz carbonique CO_2 nulle. Dans le ballon inférieur, la pression du CO_2 était P' et celle de H_2 nulle.

- **À l'équilibre** : les pressions partielles de l'hydrogène et celle du gaz carbonique sont les mêmes dans les deux ballons et elles valent respectivement $\frac{P}{2}$ et $\frac{P'}{2}$.

L'hydrogène et le gaz carbonique ont diffusé des régions de haute pression vers les régions de basse pression.

On appelle **pression partielle d'un gaz** contenu dans un volume V (avec un ou plusieurs gaz), la pression qu'il développerait s'il était seul dans ce volume.

L'explication du phénomène est la suivante :

- * Pour l'hydrogène, avant l'ouverture du robinet, la pres-

sion est P et son volume est V ; après l'ouverture du robinet, le volume devient $2V$ et la pression PH_2 . D'après la loi des gaz parfaits $P.V = n.R.T$, on écrit :

$$P.V = n.R.T \quad \text{et} \quad P_{H_2}.(2V) = n.R.T$$

$$\text{d'où } P_{H_2} = P / 2$$

- * Le CO_2 obéit à la même loi et $P_{CO_2} = P' / 2$

II-2- DIFFUSION EN PHASE LIQUIDE (FIG 2)

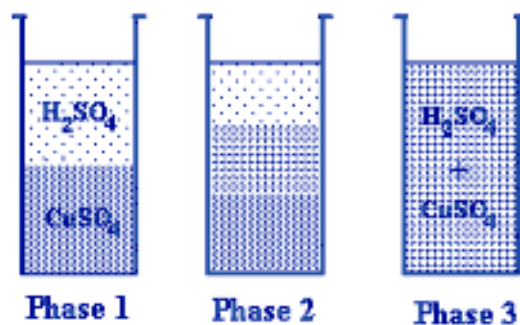


Fig. 2 : Diffusion en phase liquide

Dans la partie inférieure d'une éprouvette se trouve une solution de sulfate de Cuivre $CuSO_4$ qu'on reconnaît à sa couleur bleue.

Dans la partie supérieure une solution d' H_2SO_4 (incolore) versée doucement de manière que la frontière au début soit nette.

Au cours du temps, la frontière devient floue, puis disparaît. La solution devient homogène au bout d'un temps très long.

Les ions Cu^{++} que l'on reconnaît à leur couleur ont **diffusé** du bas vers le haut. Il est facile de montrer que les ions H^+ diffusent du haut vers le bas et que les ions $SO_4=$ diffusent dans les deux sens.

La diffusion est ici lente du fait de la viscosité du milieu qui fait intervenir un facteur de frottement.

II-3- DIFFUSION EN PHASE SOLIDE

Deux solides mis en contact l'un avec l'autre, diffusent dans certaines conditions.

III- MÉCANISMES

Trois causes peuvent être à l'origine du mélange de deux corps :

- * Secousses mécaniques, vibrations.
- * Inégalité de température entre les deux milieux engendrant des courants de convection.
- * Agitation thermique des molécules mouvement Brownien.
- La diffusion est la conséquence de l'agitation thermique :
 - Elle est plus rapide lorsque la température augmente.
 - Elle est d'autant plus faible que la viscosité du milieu est grande.
- Elle intéresse le solvant comme le soluté. Le solvant

diffuse dans les deux sens. Les débits de diffusion sont égaux.

- Il s'agit d'un phénomène orienté : la diffusion s'effectue toujours du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré alors que l'agitation thermique qui en est la cause n'est pas orientée.
- C'est une conséquence du **second principe de la thermodynamique** qui prévoit l'orientation des mouvements et qui prédit qu'un système isolé abandonné à lui-même tend à devenir homogène. Le désordre maximum est l'évolution la plus probable d'un système.
- Le phénomène de diffusion est général et il n'est pas toujours nécessaire de considérer un mélange de deux corps. Un liquide diffuse à l'intérieur de lui-même. On peut le prouver en marquant certaines molécules : par exemple en ajoutant dans de l'eau pure de l'eau lourde D_2O .

IV- LOI DE LA DIFFUSION

IV-1- ÉTUDE QUANTITATIVE : LOI DE FICK

Imaginons un tuyau de dimensions infinies (Fig 3), à l'intérieur duquel une surface fictive S sépare deux compartiments. Considérons deux sections en A et en B d'abscisse x_A et x_B .

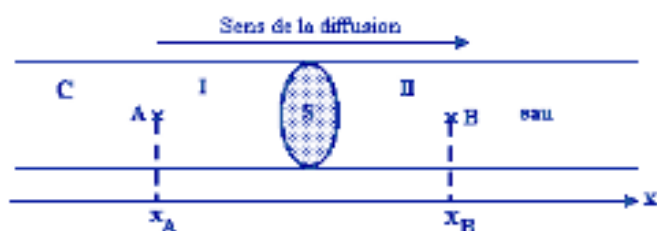


Fig 3

- * **Au départ** : le compartiment I contient une solution de glucose caractérisée par une concentration massique c et de concentration molaire C ; le compartiment II contient le solvant pur : de l'eau sa concentration est donc nulle.
- * Le glucose **diffuse**, il quitte le compartiment I et se déplace vers le compartiment II, la diffusion d'une substance se fait d'une région où sa concentration est importante vers une autre où elle est faible; l'eau se déplace dans les deux sens : du compartiment I vers le compartiment II et du compartiment II vers le compartiment I, globalement, tout se passe comme si elle ne diffuse pas.
- La concentration du soluté est la même pour tous les points d'une même section du tuyau.

Appelons Δm , la masse du glucose qui diffuse à travers la section S , pendant le temps Δt , d'une section d'abscisse x_A vers une section d'abscisse x_B . Il est facile d'admettre que : la masse Δm qui diffuse augmente :

- * Avec le temps Δt de durée de la diffusion.
- * Avec la section S du tuyau.
- * Avec la différence entre les concentrations du soluté $c_A - c_B$.
- * D'autant plus que les points A et B , entre lesquels se fait la diffusion, sont rapprochés.

La loi de FICK montre que la masse de matière qui diffuse de A vers B à travers la surface fictive de section S est proportionnelle à :

- * la section du tuyau S
- * la différence des concentrations c_A et c_B des sections d'abscisse x_A et x_B .
- * la durée Δt de la diffusion.
- * inversement proportionnelle à la distance d_{AB} entre les sections SA et SB entre lesquelles se fait la diffusion. On peut écrire :

$$\Delta m = D.S. \frac{c_A - c_B}{d_{AB}} \cdot \Delta t$$

D est un coefficient de proportionnalité, Il dépend du corps diffusant.

Comme la concentration, comme nous venons de le voir, est fonction de l'espace et du temps : $c = f(x, t)$, on doit utiliser la dérivée partielle c'est-à-dire des ∂ et écrire :

$$\frac{dm}{dt} = -D.S. \frac{\partial c}{\partial x}$$

IV-2- COEFFICIENT DE DIFFUSION D

Si $dt = 1s$: si $S = 1cm^2$: $c = 1g.cm^{-3}$; $x = 1cm$

D est la quantité de matière (exprimée en grammes) qui traverse une surface de $1cm^2$ en une seconde quand la concentration varie de $1g.cm^{-3}$ sur une distance de $1cm$. Cette constante D est extrêmement petite, car la diffusion est très lente. On utilise souvent comme unité de temps l'heure ou le jour.

* **Équation aux dimensions de D** : $[D] = L^2.T^{-1}$

* **Signification** : Si on applique la théorie cinétique de la diffusion, on peut dire que les molécules du corps qui diffuse se comportent comme les molécules d'un gaz qui diffuse dans un autre gaz.

Cas général :

$$D = \frac{R.T}{N_A \cdot f}$$

f = coefficient de frottement qui est égal au produit d'une constante par η ; η étant le coefficient de viscosité

N_A = nombre d'Avogadro ;

T = température absolue du milieu

R = constante des gaz parfaits ;

Cas des particules sphériques : Quand une particule se déplace dans un liquide à la vitesse v , elle est soumise à une force de frottements \vec{F} opposée à la vitesse qui s'écrit : $\vec{F} = f.\vec{v}$; f est le coefficient de frottements qui, dans le cas d'une particule sphérique est égal à :

$f = 6.n.\eta.r$ r = rayon de la particule ; d'où

$$D = \frac{R.T}{6\pi\eta.r.N_A}$$

D dépend de la température et de la viscosité du milieu, ainsi que du rayon de la particule du soluté. Dans ce cas, on montre également que D est inversement proportionnel à la racine cubique de la masse molaire : soit

$$D = \frac{C \cdot s \cdot t \cdot e}{\sqrt[3]{M}}$$

On peut utiliser cette méthode pour mesurer la masse molaire **M**.

En conclusion :

- * La diffusion intéresse le solvant comme le soluté. Le solvant diffuse dans les deux sens. Les débits de diffusion sont égaux.
- * La diffusion est orientée : elle s'effectue toujours du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré alors que l'agitation thermique qui en est la cause n'est pas orientée.

V- APPLICATIONS BIOLOGIQUES DE LA DIFFUSION

V-1- DIFFUSION À TRAVERS UNE MEMBRANE

Soit deux compartiments 1 et 2 séparés par une membrane et contenant deux solutions à des concentrations différentes.

Le problème se simplifie du fait que la diffusion à travers une membrane est un phénomène lent.

On peut considérer que les compartiments ont le temps de devenir homogènes et que la diffusion ne survient qu'au sein de la membrane, on peut assimiler le gradient de concentration à :

$$\frac{\partial c}{\partial x} = \frac{c_2 - c_1}{b} \quad \text{avec :}$$

$c_2 - c_1$ = concentrations de part et d'autre de la membrane
 b = épaisseur de la membrane.

Le débit de matière est donc

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot S \cdot \frac{c_2 - c_1}{b}$$

V-2- LA DIALYSE

La dialyse est le terme utilisé lorsque la membrane est perméable au solvant et au soluté (constitué de micro-molécules), mais imperméable aux grosses particules. La perméabilité est liée au **diamètre des pores**.

La dialyse est utilisée en thérapeutique pour épurer l'organisme de certaines substances toxiques comme l'urée, K^+ ...

Si le bain de dialyse est suffisamment large pour considérer que la substance à épurer est négligeable, le gradient de concentration est :

$$\frac{\partial c}{\partial x} = -\frac{c}{b} \quad \text{avec : } c = \text{concentration de la substance} \\ b = \text{épaisseur de la membrane}$$

$$\frac{dm}{dt} = \frac{V \cdot dc}{dt} = -D \cdot S \cdot \frac{c}{b} \quad \text{car } dc < 0$$

$$\frac{dc}{c} = -\frac{D \cdot S}{V \cdot b} dt$$

V-3- DIFFUSION ALVÉOLO-CAPILLAIRE DE L'OXYGÈNE O_2 DU GAZ CARBONIQUE CO_2

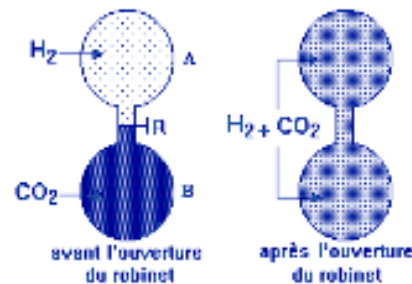
Cette partie est traitée au thème 8 (Respiration).

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1

La figure suivante représente deux ballons identiques reliés par un tube fermé par un robinet R. Le ballon A contient de l'Hydrogène à la pression de 1 Atmosphère, le ballon B est rempli de gaz carbonique (gaz lourd) à la pression de 0,5 Atmosphère.

1- Calculer la pression partielle de chacun des deux gaz dans les ballons A et B
a/ avant l'ouverture du robinet R.



b/ après l'ouverture du robinet R ; l'équilibre étant atteint.

c/ Expliquer votre résultat.

2- Aurait-on obtenu les mêmes résultats si on avait rempli le ballon A par du gaz carbonique et B par de l'hydrogène ? Pourquoi ?

Test 2.

1/ Énoncer la première loi de FICK.

2/ Écrire l'équation aux dimensions du coefficient de diffusion **D**.

3/ En déduire l'unité de **D** dans le système international et dans le système c.g.s.

Test 3.

Quels sont les facteurs dont dépend le coefficient de diffusion **D**.

Test 4.

Montrer que **D** varie en première approximation en raison inverse de la racine cubique de la masse molaire **M** du soluté, à une température donnée, dont les molécules sont assimilées à des petites sphères.

Test 5.

Calculer le rayon de la molécule d'urée, sachant qu'elle est de forme sphérique. On donne : la température $T = 300^\circ\text{K}$; $R = 8 \text{ J/}^\circ\text{K.mole}$; $D = 0,8 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ = coefficient de diffusion et $\eta = 0,01 \text{ Poise}$ = coefficient de viscosité; $1 \text{ J} = 10^7 \text{ erg}$
1 Poiseuille (Pl) = 10 Poise; le nombre d'Avogadro étant $N = 6 \cdot 10^{23}$

Test 6.

Une membrane dialysante d'épaisseur 0,1 mm sépare deux compartiments A et B, le compartiment A contient une solution de saccharose à 0,2 mol.L⁻¹ ; la concentration de saccharose dans B est de 0,1 l mol.L⁻¹. Sachant que le coefficient de diffusion du saccharose est $D = 0,25.10^{-5} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ et sa masse molaire est $M = 342 \text{ g.mol}^{-1}$;

Calculer $\frac{dm}{S.dt}$, le débit initial de saccharose par unité de surface.

Test 7.

Une membrane de rein artificiel a une surface de diffusion (section totale des pores de la membrane) $S = 2.10^4 \text{ cm}^2$ et une épaisseur $e = 80\mu$

1- Sachant que la constante de diffusion de l'urée est : $D = 10^{-5} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$. Calculer la valeur $\frac{dm}{dt}$ du débit de masse initial d'urée soustraite à un malade ayant une urémie (concentration sanguine d'urée) de 4 g/l, en supposant que le volume du bain de dialyse est grand : donc la concentration y est nulle en première approximation.

2- En admettant que la diffusion de l'urée vers le bain de dialyse suive une loi exponentielle : $C = C_0 e^{-k - \frac{D.S}{V.e} kt}$ avec ;
on prendra le volume de l'eau totale de l'organisme $V = 40$ litres.
2-a/ Calculer la constante d'épuration k .

2-b/ préciser l'unité de k dans le système SI.

3- On se propose de ramener l'urémie à la valeur de 0,25 g.l⁻¹ (valeur normale). Calculer la valeur du temps théorique de la durée de la dialyse.
On prendra $\text{Ln } 2 = 0,69$

CHAPITRE III : PROPRIÉTÉS COLLIGATIVES DES SOLUTIONS

I- INTRODUCTION

Certaines propriétés des solutions aqueuses sont différentes de celles de l'eau pure qui est le solvant. Nous constatons en effet que :

- * La température de congélation d'une solution est inférieure à celle du solvant pur. La présence d'un soluté avec un solvant nécessite donc un apport d'énergie supplémentaire pour sa congélation. Cet abaissement de la température de congélation de la solution par rapport au solvant est appelé **delta cryoscopique** de la solution.
- * La température d'ébullition d'une solution est supérieure à celle du solvant pur. On doit fournir plus d'énergie pour faire bouillir une solution que pour faire bouillir le solvant pur.
- * À une température donnée, certaines molécules de la surface d'un liquide la quittent pour passer à l'état de gaz. Ces molécules exercent une pression à la surface du liquide qu'on appelle **pression de vapeur**.
La pression de vapeur existant au niveau de la surface d'une solution est inférieure à celle qui règne à la surface d'un solvant pur (dans les mêmes conditions de température et de pression). La présence d'un soluté avec un solvant empêche les molécules de solvant de quitter le liquide et diminue ainsi la pression de vapeur à sa surface.

Nous remarquons également que :

- * Si une membrane sélective (qui ne permet que le passage du solvant) sépare deux compartiments contenant : l'un le solvant pur et l'autre la solution, on constate que le solvant quitte son compartiment pour passer, à travers la membrane, dans l'autre compartiment. Un tel déplacement de fluide ne peut être dû qu'à une différence de pression entre le compartiment le moins concentré et l'autre, le plus concentré. C'est le **phénomène d'osmose**, la différence de pression s'appelle la **pression osmotique** de la solution.

L'ensemble des phénomènes constatés constitue les **propriétés colligatives des solutions**. Ces propriétés sont dites **colligatives** parce que les molécules de solvant se comportent comme si elles étaient devenues **moins libres** par la présence de **particules de soluté**. Nous allons dans ce chapitre nous intéresser à deux de ces propriétés à savoir la **cryoscopie** et l'**osmose**.

II- LA CRYOSCOPIE

C'est l'étude de l'**abaissement de la température de congélation $\Delta\theta_c$ d'une solution** par rapport à celle du solvant pur

$$\Delta\theta_c = \theta_{c_{sol}} - \theta_{c_{eau}} < 0$$

Nous savons qu'à 0°C (à la pression atmosphérique normale), l'équilibre eau-glace est un équilibre dynamique où se compensent exactement deux flux moléculaires opposés (de l'eau vers la glace et de la glace vers l'eau).

Si l'eau liquide contient un soluté, le flux moléculaire de l'eau vers la glace est diminué ; l'équilibre est rompu.

Ce déséquilibre se traduit par un flux net de solvant à travers l'interface glace-eau : la glace fond. On ne peut alors rétablir l'équilibre qu'en abaissant suffisamment la température.

La température de congélation est plus basse pour une solution que pour le solvant pur.

II-1- LOI DE RAOULT

L'abaissement cryoscopique ($\Delta\theta$) d'une solution où le soluté n'est pas dissocié est donné par une **loi de Raoult**.

$$\Delta\theta = -K_c \cdot \frac{c}{M} = -K_c \cdot C$$

où : $\Delta\theta$ = abaissement cryoscopique
 c = concentration massique du soluté
 M = masse molaire du soluté
 $\frac{c}{M} = C$ = concentration molaire ou molarité du soluté
 K_c = constante cryoscopique du solvant ;
 pour l'eau : $K_c = 1,86 \text{ }^\circ\text{C}/(0\text{sm/l})$

II-2- LOI DE RAOULT GÉNÉRALISÉE

Si le soluté est dissocié, le nombre de particules en solution est supérieur au nombre de molécules. L'expérience montre que $\Delta\theta$ est, dans ce cas, plus important que celui obtenu avec un soluté non dissocié. Dans l'expression de $\Delta\theta$; on doit remplacer la concentration molaire c/M par la concentration osmolaire ou osmolarité ; et la relation donnant l'abaissement cryoscopique devient :

$$\Delta\theta_c = -K_c \cdot \text{osmolarité} = -K_c \cdot \frac{c}{M} \cdot i = -K_c \cdot C \cdot i$$

Dans le cas de plusieurs solutés en solution l'abaissement cryoscopique est égal à :

$$\Delta\theta_c = -K_c \cdot \sum \text{osmolarité} = -K_c \cdot \sum \frac{c}{M} \cdot i = -K_c \cdot \sum C \cdot i$$

- * La mesure de $\Delta\theta$ d'une solution permet le calcul de son osmolarité. Cette méthode est fréquemment utilisée en Biologie et en clinique ; par exemple, la mesure du Δ cryoscopique du plasma normal donne $-0,56^\circ\text{C}$; ce qui nous permet de calculer son osmolarité qui est de $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$.

- * La mesure du Δ cryoscopique permet le calcul des masses molaires.

Cette méthode donne des résultats satisfaisants pour les solutions micro molécules ; car pour les valeurs usuelles de c , les valeurs de $\Delta\theta$ (que l'on mesure généralement avec un thermomètre précis au $1/100^\circ\text{C}$) sont appréciables.

Les résultats sont peu précis pour les solutions macromoléculaires ; en effet, si la concentration est faible (solutions idéales), on obtient des valeurs de $\Delta\theta$ non appréciables (inférieures à $1/100^\circ\text{C}$) compte tenu du fait que la masse molaire M a une valeur très élevée (quelques dizaines de milliers de grammes).

II-3- Δ CRYOSCOPIQUE CORRIGÉ

L'expérience montre que, dans le milieu intérieur du corps humain, l'urée traverse toutes les membranes, elle se comporte comme le solvant (l'eau).

Pour évaluer le nombre de particules cinétiquement actives "effectivement", on ne doit pas tenir compte de la participation de l'urée dans le calcul de l'osmolarité ; ce qui donne l'osmolarité efficace.

Osmolarité efficace =

Osmolarité totale - Osmolarité de l'urée

En remplaçant dans l'expression de $\Delta\Theta$ l'osmolarité par l'osmolarité efficace, on obtient un Δ cryoscopique corrigé.

$$\Delta\Theta_{\text{corrigé}} = \Delta\Theta_{\text{total}} - \Delta\Theta_{\text{urée}}$$

III- OSMOSE- PRESSION OSMOTIQUE

L'osmose et la dialyse sont les conséquences d'une diffusion sélective de particules à travers un filtre ou membrane.

III-1- LES DIFFÉRENTS TYPES DE MEMBRANES

On distingue deux types de membranes.

* MEMBRANE HÉMI OU SEMI-PERMÉABLE

C'est une membrane qui ne laisse passer que les molécules de solvant.

La membrane cellulaire est une membrane semi-perméable non parfaite. En effet l'urée et le glucose diffusent à travers cette membrane. Le temps de diffusion du glucose, comparé à celui de l'urée, est très important : on ne tiendra donc compte que de la diffusion de l'urée à travers la membrane cellulaire ; l'urée seule sera considérée comme un solvant.

* MEMBRANE DIALYSANTE

C'est une membrane qui laisse passer le solvant et les microparticules. Elle retient seulement les grosses particules (macro-particules).

Chez l'homme le glomérule rénal et les capillaires sont des exemples de membranes dialysantes.

III-2- OSMOSE

III-2-1- EXPÉRIENCE 1

Une membrane hémiperméable est placée entre deux compartiments I et II suffisamment larges pour que les variations de volume n'entraînent pas des variations de hauteur importante.

Le compartiment I contient de l'eau pure, le compartiment II contient une solution aqueuse d'un soluté dont les particules ne peuvent pas traverser la membrane.

L'expérience montre que le volume de I diminue alors que celui de II augmente. Le phénomène ne cesse que lorsque toute l'eau passe de I dans II. Le système n'atteint jamais l'état d'équilibre. Ce déséquilibre s'explique par le flux de solvant pur à travers la membrane qui tend à égaliser la concentration. Ce flux de solvant est le phénomène osmotique fondamental appelé **osmose**.

III-2-2- EXPÉRIENCE 2

La même expérience peut être reprise en mettant à la place de l'eau la même solution que dans II, mais à une

concentration différente. On constate que le solvant passe de la solution la moins concentrée vers la solution la plus concentrée. Le flux de solvant s'arrête lorsque la concentration est la même dans les deux compartiments.

III- 3- PRESSION OSMOTIQUE

III-3-1- EXPÉRIENCE DE DUTROCHET (Fig1)

Le dispositif expérimental est constitué par un petit récipient (osmomètre) qui contient la solution. Il est prolongé à sa partie supérieure par un tube capillaire vertical et fermé à sa partie inférieure par une membrane hémiperméable. L'ensemble est immergé dans un cristalliseur contenant le solvant pur c'est-à-dire l'eau.

Seul le solvant peut traverser la membrane. Il le fait dans les deux sens (de l'osmomètre vers le cristalliseur et du cristalliseur vers l'osmomètre) en raison de l'agitation thermique.

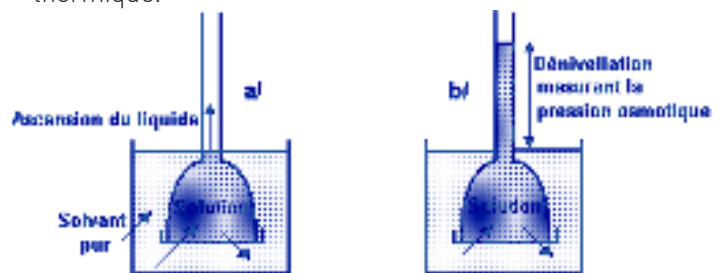


Figure 1

La figure 1-a montre que le flux de solvant du cristalliseur vers l'osmomètre est plus important que le flux de l'osmomètre vers le cristalliseur c'est le phénomène d'osmose. Le niveau du liquide va donc monter dans le tube; une pression hydrostatique va donc naître et augmenter. Au fur et à mesure que la dénivellation augmente, la pression hydrostatique est égale à $(\rho \cdot g \cdot h)$ varie dans le même sens ; cette pression hydrostatique agit en sens inverse et tend à s'opposer à la pression osmotique.

À l'équilibre, les deux flux inverses sont égaux fig 1-b, La pression hydrostatique équilibre la pression osmotique et la **dénivellation obtenue dans le tube capillaire mesure par définition la pression osmotique de la solution**. On définit ainsi, la **pression osmotique d'une solution** comme étant la **pression qu'il faudrait exercer sur une solution pour empêcher le solvant de traverser la membrane séparant les deux compartiments**.

En réalité la solution dans l'osmomètre est plus diluée que la solution primitive. Cette dilution est rendue négligeable par l'utilisation d'un tube de très faible section (capillaire), et on peut dire ainsi qu'on mesure effectivement la pression osmotique de la solution primitive.

III-3-2- EXPRESSION DE LA PRESSION OSMOTIQUE

III-3-2-1- Cas d'un soluté non dissocié

Pfeiffer a établi la loi empirique suivante

$$\Pi = K.T.C = K.T \cdot \frac{c}{M} = K.T \cdot \frac{n}{V}$$

où :

= pression osmotique ;

T = température absolue.

K = constante qui dépend des unités de c.

c = concentration massique du soluté.

M = masse molaire du soluté.

C = concentration molaire ou molarité.

III-3-2-2- Cas d'un soluté dissocié

On constate que la pression qu'il faut exercer pour s'opposer au flux de solvant donc **la pression osmotique** est proportionnelle au nombre de particules en solution donc à **l'osmolarité de la solution** ; son expression sera donc :

$$\Pi = R.T.\text{osmolarité} = R.T.C.i = R.T.\frac{c}{M}.i$$

IV-3-2-3- Cas d'une solution contenant plusieurs solutés

L'osmolarité totale est la somme des osmolarités de chacun des constituants, et la pression osmotique est proportionnelle à l'osmolarité totale de la solution : on aura donc :

$$\Pi = R.T.\sum \text{osmolarité} = R.T.\sum C.i = R.T.\sum \frac{c}{M}.i$$

IV- ISO-OSMOLARITE - ISO-OSMOTICITE- ISO-TONICITE

IV-1- ISO-OSMOLARITÉ

Deux solutions sont iso-osmolaires si leurs osmolarités sont égales. Elles ont donc même abaissement cryoscopique ($\Delta\Theta_c$).

IV-2- ISO-OSMOTICITÉ

Deux solutions sont iso-osmotiques si elles développent la même pression osmotique lorsque chacune est opposée à son solvant pur à travers une membrane strictement hémiperméable.

Deux solutions iso-osmotiques sont donc deux solutions iso-osmolaires: elles développent la même pression osmotique et ont même $\Delta\Theta$.

L'iso-osmoticité tient compte de tous les éléments présents en solution.

IV-3- ISOTONICITÉ

Deux solutions sont isotoniques s'il n'y a pas de transfert de solvant à travers une membrane séparant les deux solutions. Cela n'a de sens que par rapport à une membrane donnée

IV-4- CARACTÈRE SÉLECTIF DE LA MEMBRANE

Ce caractère est lié à :

- **La dimension des pores de la membrane** : Les pores peuvent s'opposer au passage des grosses molécules ou d'ions dont le diamètre est grand, c'est le cas des ions solvatés.
- **La solubilité du solvant dans la membrane.**
- **L'adsorption des molécules de solvant par la membrane** : Une substance est absorbée par un corps, si elle passe à l'intérieur de ce corps ; elle est adsorbée, si elle vient se coller contre lui, mais ne passe pas à son intérieur.

Tous ces facteurs peuvent intervenir en biologie. La membrane du globule rouge est perméable à l'eau et à l'urée. L'urée fait donc partie du solvant. Ceci explique le fait que l'on fasse une différence essentielle entre les solutions iso-osmotiques et isotoniques.

V- CAS DES SOLUTIONS NON IDÉALES

Lorsque la concentration n'est pas très faible (solution non idéale) ; les lois relatives à l'abaissement cryoscopique et la pression osmotique restent valables à condition de remplacer dans les expressions la concentration par l'activité ($\tilde{A} = \gamma C$) ainsi, les expressions de l'abaissement cryoscopique et celle de la pression osmotique deviennent pour un soluté donné de concentration molaire C et de coefficient d'ionisation i :

$$\Delta\Theta_c = -K_c.\gamma.C.i = -K_c.A.i$$

$$= R.T.\gamma.C.i = R.T.A.i$$

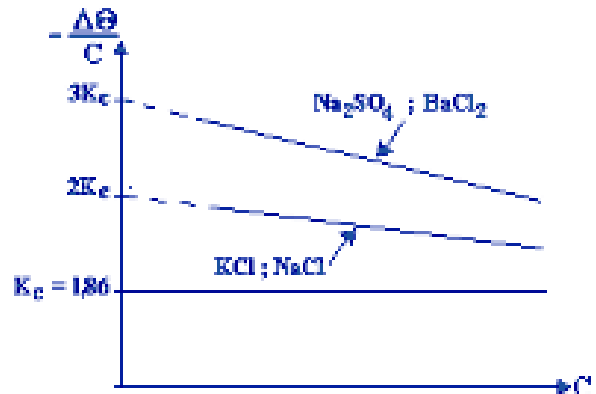


Figure 2

En effet, si on trace expérimentalement $\Delta\Theta/C$ en fonction de C pour des solutions de chlorure de sodium NaCl , de chlorure de potassium KCl , de chlorure de baryum BaCl_2 ou de sulfate de sodium Na_2SO_4 (Fig2), on trouve les courbes suivantes.

On remarque d'après ces courbes que lorsque $C \rightarrow 0$ le rapport de $\frac{-\Delta\Theta}{C}$ tend vers un multiple entier de K_c qui

vaut 2 pour NaCl et KCl et 3 pour BaCl_2 et Na_2SO_4 . Ceci prouve que :

* Lorsque la concentration de la solution est faible (solution idéale),

$$\alpha = 1 \text{ et } i = p.$$

* Lorsque la concentration augmente, $-\Delta\Theta/C$ décroît tout se passe comme si la solution avait **une concentration plus faible**. Cette concentration que la solution aurait dû avoir pour donner cet abaissement cryoscopique s'appelle l'activité de la solution. L'**activité** d'une solution est donc la valeur par laquelle, il faut remplacer la concentration pour que l'expression de l'abaissement cryoscopique reste valable.

$$\tilde{A} = \gamma C \text{ avec } \gamma < 1 \text{ et } \Delta\Theta = -K_c.\tilde{A}.i = -K_c.\gamma.C.i$$

D'après ces courbes, le rapport $\Delta\Theta/K_c.C.i$, permet la détermination de la valeur du coefficient d'activité γ , pour chaque concentration

VI- APPLICATIONS

VI-1- RÉPARTITION DES IONS DANS L'ORGANISME

(traité en Biochimie au thème 6 : schéma de Gamble)

VI-2 PHÉNOMÈNE DE STARLING

Il décrit les échanges de solutés entre le compartiment plasmatique et le compartiment interstitiel à travers la paroi des vaisseaux capillaires.

Les échanges intervenant au niveau des anses capillaires entre le sang et le secteur interstitiel conditionnent la vie des cellules.

VI-2-1- PRESSIONS MISES EN JEU AU NIVEAU DES CAPILLAIRES SANGUINS.

Dans le secteur vasculaire règne une pression hydrostatique

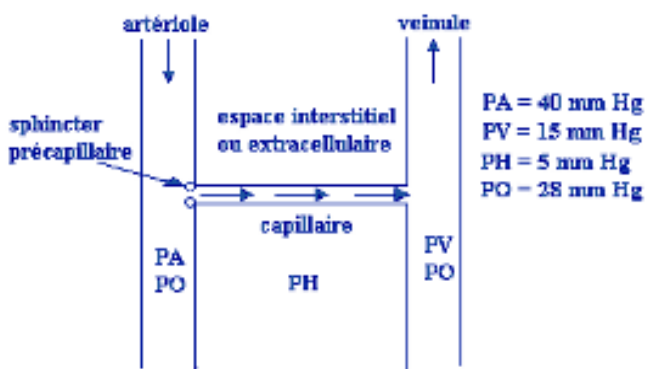
* Au pôle artériel de l'anse ; $PA = 40 \text{ mm Hg}$

* Au pôle veineux de l'anse ; $PV = 15 \text{ mm Hg}$

La pression osmotique du plasma est ; $PO = 28 \text{ mm Hg}$.

Dans le secteur interstitiel règne une pression hydrostatique :

$PH = 5 \text{ mm Hg}$



VI-2-2- MOUVEMENTS LIQUIDIENS CONDITIONNÉS PAR CES DIFFÉRENTES PRESSIONS.

Fig 3 : Schéma de STARLING

Au niveau de l'anse capillaire, une différence de pression hydrostatique (pression hydrostatique vasculaire - pression hydrostatique interstitielle) tend à entraîner le solvant du secteur vasculaire vers le secteur interstitiel, alors que la pression osmotique tend à provoquer un courant liquidien dans le sens inverse.

Au niveau du pôle artériel, la différence des pressions hydrostatiques est :

$\Delta PH = 40 - 5 = 35 \text{ mm Hg}$ et la pression osmotique est : 28 mm Hg

La différence des pressions hydrostatiques étant supérieure à la pression osmotique, le solvant va **quitter** le secteur vasculaire et **va passer** dans le secteur interstitiel.

Au contraire, au niveau du pôle veineux, la différence des pressions hydrostatiques est : $15 - 5 = 10 \text{ mm Hg}$ et la pression osmotique est 28 mm Hg .

La pression osmotique étant supérieure à la différence des pressions hydrostatiques, on aura **un appel d'eau** du secteur interstitiel vers le secteur vasculaire.

Un mouvement liquidien s'établira donc (Fig 3) au niveau de l'anse capillaire apportant aux cellules, par l'intermédiaire du liquide interstitiel, les éléments nutritifs dont elles ont besoin.

Dans les conditions normales, nous venons de voir que la forte pression de rappel qui existait au niveau du pôle veineux de l'anse empêchait toute accumulation de liquide dans le secteur interstitiel.

Mais au cours de certains états pathologiques, des perturbations de ces mécanismes peuvent se produire, qui s'accompagneront d'une accumulation de liquide dans le secteur interstitiel ; l'infiltration liquidienne des tissus qui en résulte constitue un **oedème**.

VI-3- TRAVAIL OSMOTIQUE

C'est un travail de concentration réalisé par les glandes et le rein ; il demande un apport d'énergie dû au métabolisme puisque le mouvement se fait contre les forces naturelles d'égalisation.

Les urines sont hypo ou hypertoniques selon les besoins de la régulation du milieu intérieur.

Le travail osmotique élémentaire dW est lié à une variation de pression osmotique d ; il s'exprime comme suit :

$$dW = V \cdot d$$

W est un travail.

L'intégration de ce travail conduit à l'expression du travail osmotique :

$$W_1^2 = \int_1^2 dW = n \cdot R \cdot T \cdot \log \frac{\text{osmolarité du plasma}}{\text{osmolarité des urines}}$$

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1

1/ Ecrire l'expression de l'osmolarité d'une solution **S** contenant un soluté de concentration massique c , de masse molaire **M** dont le degré de dissociation est α et sachant qu'une mole de ce soluté donne p osmoles en solution.

2/ On se propose de mesurer l'abaissement cryoscopique de cette solution **S** avec un thermomètre gradué au $1/100^\circ\text{C}$. La constante cryoscopique de l'eau est : $K_c = 1,86$.

a-1/ **S** est une solution de protéine de masse molaire $5 \cdot 10^4 \text{ g.mol}^{-1}$. Calculer la valeur théorique de la concentration massique de cette protéine qui donnerait un abaissement cryoscopique de $1/100^\circ\text{C}$.

a -2/ Dans ce cas, peut-on considérer que cette solution est idéale ? (On suppose qu'une solution idéale a une concentration massique faible ne dépassant pas quelques grammes par litre)

a-3/ A quoi correspond réellement cette valeur théorique ?

a -4/ Quelle est alors la relation entre cette valeur théorique et la concentration massique réelle de la solution ?

b-1/ **S** est une solution de chlorure de sodium (Na^+Cl^-) de masse molaire **58,5 g/mol**. Calculer la valeur théorique de la concentration massique de **S** qui donnerait un abaissement cryoscopique de $1/100^\circ\text{C}$.

b-2/ Dans ce cas, peut-on considérer que cette solution est idéale ?

b-3/ Est-il nécessaire d'ajouter une autre donnée pour que le calcul de cette concentration massique soit correct ?

Test 2.

On considère deux solutions **S₁** et **S₂** ;

* **S₁** est un plasma sanguin contenant 0,25 g/l d'urée et des hématies ;
l'osmolarité efficace du plasma est $300 + 10 \text{ mmol.l}^{-1}$.

* **S₂** contient, dans 100ml :
* 0,6 g d'urée ; $M = 60 \text{ g/mol}$.
* 2,5 g de glucose ; $M = 180 \text{ g.mol}^{-1}$.
* 0,45 g de NaCl ; $M = 58,5 \text{ g.mol}^{-1}$

1/ **S₁** et **S₂** sont-elles isoosmolaires ?

2/ Le mélange de **S₁** et **S₂** entraîne-t-il une déformation des hématies ? Pourquoi ?

3/ Quel sera l'abaissement cryoscopique de **S₂** donné par un thermomètre gradué au $1/100^\circ\text{C}$.

Test 3.

Le delta cryoscopique du plasma d'un sujet en état d'insuffisance rénale est de $-0,61^\circ\text{C}$.

1/ Calculer l'osmolarité du plasma de ce sujet, sachant que la constante cryoscopique de l'eau est $K_c = 1,86$.

2/ Calculer l'osmolarité efficace de ce plasma exprimée en mol^{-1} , sachant qu'il contient 3 g/l d'urée et 1 g/l de glucose.

$M_{\text{urée}} = 60 \text{ g.mol}^{-1}$ et $M_{\text{glucose}} = 180 \text{ g.mol}^{-1}$.

3/ Calculer le delta cryoscopique corrigé de ce plasma ($K_c = 1,86$).

4/ Ce sujet est-il en état d'hyper ou d'hypo-osmolarité sachant que l'osmolarité efficace du plasma est de $300 \pm 10 \text{ mmol/L}$.

Test 4.

Soit une solution **S** constituée de :

- 3g d'urée ($M = 60 \text{ g.mol}^{-1}$) - 18g de glucose ($M = 180 \text{ g.mol}^{-1}$) - xg de NaCl.

L'osmolarité efficace du plasma d'un sujet normal étant : 300 m.mol.L^{-1} .

1/ Calculer la quantité x de chlorure de sodium ($M = 58,5 \text{ g.mol}^{-1}$) qu'il faut ajouter à un litre de la solution **S** pour la rendre isotonique au plasma de ce sujet.

2/ Calculer la valeur qui correspond à l'abaissement cryoscopique de la solution isotonique obtenue.

Test 5.

L'abaissement cryoscopique du plasma est égal à $0,65^\circ\text{C}$ chez un sujet en ébriété. Calculer le taux d'alcoolémie exprimé en g.L^{-1} de plasma.

On donne : masse molaire de l'alcool est 46 g/mol .

osmolarité efficace normale = $0,300 \text{ mol.L}^{-1}$.

Test 6.

On considère une solution contenant 30 g.L^{-1} de glucose de masse molaire $M = 180 \text{ g.mol}^{-1}$ et 80 g.L^{-1} de protéine. On veut déterminer la masse molaire de la protéine par la méthode de la pression osmotique.

Expérimentalement on mesure la pression osmotique à l'aide d'un osmomètre, surmonté d'un tube capillaire de longueur 1m, contenant 1 litre de la solution plongé dans un récipient plein d'eau pure. On obtient les résultats suivants :

* La pression osmotique est égale à 24 cm d'eau lorsque l'osmomètre est muni d'une membrane dialysante (collodion ou cellophane).

* La mesure de la pression osmotique n'est pas réalisable si l'osmomètre est muni d'une membrane semi-perméable.

1/ Ecrire l'expression de la pression osmotique lorsque l'osmomètre est muni d'une membrane dialysante et celle obtenue lorsque l'osmomètre est muni d'une membrane semi-perméable.

2/ Calculer la masse molaire de la protéine.

3/ Calculer la pression osmotique lorsque l'osmomètre est muni d'une membrane semi-perméable.

4/ Citer deux raisons au moins pour lesquelles la mesure de la pression osmotique n'est pas réalisable lorsque l'osmomètre est muni d'une membrane semi-perméable. $R.T = 240 \text{ l.Atm.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$

Test 7.

On considère un osmomètre contenant un litre de glucose à 50 m.mol^{-1} ($M=180 \text{ g.mol}^{-1}$). On le plonge dans une cuve contenant deux litres d'eau pure.

1/ Quelle est la concentration massique de la solution initiale de glucose.

2/ Décrire le phénomène observé et calculer la pression osmotique lorsque l'osmomètre est muni (on suppose qu'une mol/l développe une pression de 24 Atm).

a/ d'une membrane dialysante.

b/ d'une membrane semi-perméable.

Dans la suite du problème, l'osmomètre sera muni d'une membrane dialysante

3/ On évapore 0,5 litres d'eau de la cuve (le volume de l'osmomètre reste égal à 1 l, celui de la cuve devient égal à 1,5L)

a/ Décrire le phénomène observé.

b/ Calculer l'osmolarité et le nombre total d'osmoles contenus dans l'osmomètre puis dans la cuve à l'équilibre.

4/ On ajoute 0,5L d'eau dans la cuve (le volume de l'osmomètre reste égal à 1L, celui de la cuve devient égal à 2,5 L)

a/ Décrire le phénomène observé.

b/ Calculer l'osmolarité et le nombre total d'osmoles contenus dans l'osmomètre puis dans la cuve à l'équilibre.

Test 8.

Soit un sujet pesant 80 kg pour lequel, les compartiments liquidiens sont constitués par 42 litres pour le compartiment intracellulaire et 14 litres pour le compartiment extracellulaire. Les deux compartiments sont en équilibre osmotique (300 mmol.L⁻¹).

1/ Calculer le nombre total d'osmoles contenues dans le compartiment extracellulaire.

2/ On injecte par voie intraveineuse à ce sujet un volume v supposé négligeable contenant 21 grammes de NaHCO_3 de masse molaire $M = 84 \text{ g.mol}^{-1}$. On suppose que les membranes sont imperméables aux ions injectés. Calculer la nouvelle osmolarité du compartiment extracellulaire.

3/ Si au bout d'un certain temps, l'équilibre osmolaire s'établit par diffusion de l'eau seule à travers les membranes cellulaires.

a/ Calculer l'osmolarité de chacun des deux compartiments à l'équilibre.

b/ Calculer le volume d'eau qui a diffusé du compartiment intracellulaire vers le compartiment extracellulaire pour établir cet équilibre.

Test 9.

1/ Le volume des urines d'un sujet normal est de 1,5 litre/24 heures, l'abaissement cryoscopique est de $-2,4^\circ\text{C}$.

a- Calculer l'osmolarité

b- Calculer le nombre d'osmoles de ces urines.

2/ Comparer cette osmolarité à celle du plasma pour lequel $\Delta\Theta = -0,56^\circ\text{C}$ en déduire la nature du travail qui intervient au niveau des reins pour sécréter ces urines.

3/ Calculer le travail de sécrétions (en calories) fourni par les deux reins en 24 heures. On donne :
 $R = 8,36 \text{ J.mol}^{-1} \cdot ^\circ\text{K}$. $1 \text{ cal} = 4,18 \text{ J}$. température $t = 37^\circ\text{C}$.

Test 10.

Deux compartiments, de même volume, sont séparés par une membrane rigide pouvant être considérée comme un piston.



1/ Dans une première expérience, la membrane est fictive. Le compartiment I contient une solution de sérum-albumine de concentration $C_m = 1/30 \text{ mol.L}^{-1}$. Calculer le débit initial d'albumine vers le compartiment II, contenant de l'eau pure, si la surface de diffusion est $S = 100 \text{ cm}^2$ pour une distance de diffusion de 10^{-2} cm si $D = 5 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ à la température ambiante.

2/ Dans une deuxième expérience, la membrane est semi-perméable parfaite et on a toujours de l'albumine à $C_m = 1/30 \text{ mol.L}^{-1}$ dans le compartiment I et de l'eau pure dans le compartiment II. Décrire le phénomène observé.

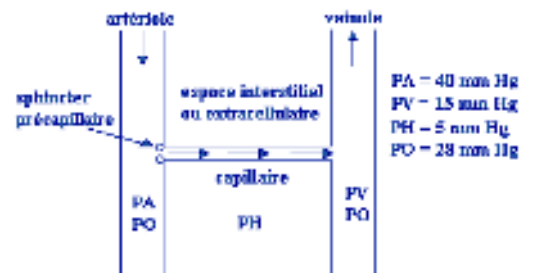
3/ Dans une troisième expérience, la membrane est toujours semi-perméable parfaite et on a toujours de l'albumine à $C_m = 1/30 \text{ mol.L}^{-1}$ et on ajoute du NaCl à $C_m = 1/30 \text{ mol.L}^{-1}$ dans le compartiment I et du glucose à la concentration $C = 1/10 \text{ mol.L}^{-1}$ dans le compartiment II. Décrire le phénomène observé.

Test 11.

On considère le système suivant constitué par une artériole et une veinule reliés par un capillaire correspondant au **schéma de Starling** (Fig).

1/ Evaluer les pressions mises en jeu dans le secteur vasculaire

a/ Au pôle artériel de l'anse



b/ Au pôle veineux de l'anse

2/ Expliquer les mouvements liquidiens conditionnés par ces différentes pressions.

3/ Que peut-on conclure ?

4/ Que peut-on avoir dans les cas suivants ?

a/ Augmentation de la tension veineuse (Hypertension veineuse H.T.V)

b/ Les syndromes néphrétiques (protéinurie abondante : fuite des protéines plasmatiques par les urines qui entraîne une hypoprotidémie plasmatique)

c/ Si la pression hydrostatique au niveau du pôle artériel devient inférieure à la pression osmotique de rappel. C'est ce qui se passe au cours d'une hypotension artérielle sévère (h.T.A) consécutive par exemple à une hémorragie importante.

CHAPITRE IV : PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES DES SOLUTIONS MICROMOLÉCULAIRES

I-GENERALITES

I-1- DÉFINITION

Les solutions d'acides, de bases ou de sels contiennent des ions, **elles conduisent le courant électrique**, ce sont des **solutions électrolytiques**.

I-2- LES SOLUTIONS ÉLECTROLYTIQUES OBÉISSENT AUX LOIS DE RAULT GÉNÉRALISÉES.

L'abaissement cryoscopique $\Delta\Theta$ d'une solution est proportionnel à son activité molaire A et à son coefficient d'ionisation i ; A étant le produit de la molarité par le coefficient d'activité γ . Si α est le degré de dissociation p le nombre des ions obtenus par dissociation d'une molécule de soluté et K_c la constante cryoscopique de l'eau, on peut écrire :

$$\Delta\Theta = -K_c \cdot A \cdot i ; \quad \text{avec } i = 1 + \alpha(p-1)$$

$i = p$ pour un électrolyte fort

$$\Delta = \gamma C \quad \text{avec } \gamma < 1 \quad \text{et} \quad \Delta\Theta = -K_c \cdot \Delta \cdot i = -K_c \cdot \gamma \cdot C \cdot i$$

I-3- LES SOLUTIONS ÉLECTROLYTIQUES CONDUISSENT LE COURANT ÉLECTRIQUE

I.3.1- On obtient une solution électrolytique en dissolvant un soluté qui peut donner des ions dans un solvant.

Dans une solution électrolytique, on trouve :

- * **Des ions positifs** constitués d'atomes ou de groupements d'atomes ayant perdu un ou plusieurs électrons, par exemple H_3O^+ , Na^+ , Ca^{++} , Ba^{++} , $Al_3^{+...}$
- * **Des ions négatifs** constitués d'atomes ou de groupements d'atomes ayant capté un ou plusieurs électrons, par exemple Cl^- , OH^- , HCO_3^- , SO_4^{--} ...

Une solution électrolytique est électriquement neutre. Dans un volume grand par rapport aux dimensions ioniques, la somme des charges électriques portées par les ions positifs est égale à la somme des charges électriques portées par les ions négatifs.

I-3-2- ÉLECTROLYSE D'UNE SOLUTION ÉLECTROLYTIQUE

On réalise l'électrolyse d'une solution électrolytique en y plongeant deux conducteurs appelés **électrodes**, entre lesquelles on établit une différence de potentiel. L'**anode** est l'électrode reliée au pôle positif du générateur, celle reliée au pôle négatif est la **cathode**.

L'existence d'une d.d.p U entre les deux électrodes entraîne l'existence d'un champ électrique dirigé de l'anode vers la cathode.

Chaque ion, se trouvant dans un champ électrique E (Fig 1) va se déplacer à la vitesse \vec{v} sous l'effet d'une force : $\vec{F} = q \cdot \vec{E}$

(Loi de Coulomb) ; q est la valeur algébrique de la charge de l'ion. Il en résulte que :

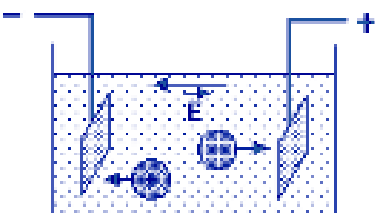


Fig 1 : Électrolyse d'une solution électrolytique

* Chaque **ion positif** est soumis à une force \vec{F} de même sens que \vec{E} , il va donc se déplacer vers la cathode : c'est un **cation**.

* La force qui s'exerce sur chaque **ion négatif** va avoir le sens contraire de celui de \vec{E} : les ions négatifs se déplacent donc vers l'anode ; ce sont les **anions**.

* Les anions vont se décharger au contact de l'anode ; ils vont lui fournir des électrons et donner des éléments neutres. Les cations vont se décharger à la cathode, elle va leur fournir des électrons pour devenir des éléments neutres.

Il est évident que le nombre d'électrons fournis par la cathode, **pendant le même temps**, est égal à celui reçu par l'anode ; car la solution est à tout instant **électriquement neutre**.

Ce mouvement d'ions équivaut à un transport d'électrons de la cathode vers l'anode donc à un courant électrique d'intensité i qui circule de l'anode vers la cathode. Il s'en suit un dépôt de matière au niveau des deux électrodes.

II- CONDUCTIVITÉ DES ÉLECTROLYTES

II.1- RÉSISTANCE ET CONDUCTANCE D'UNE SOLUTION ÉLECTROLYTIQUE

Les électrolytes ne conduisent pas le courant de la même façon. Pour la portion de conducteur comprise entre les deux électrodes de longueur L et de section S et de résistivité ρ (Fig 2), on définit la résistance R telle que :

$$R = \frac{\rho \cdot L}{S}$$

La conductance G est l'inverse de la résistance et la conductivité χ est l'inverse de la résistivité

$$\chi = \frac{1}{\rho} \quad \text{d'où} \quad G = \frac{\chi \cdot S}{L}$$

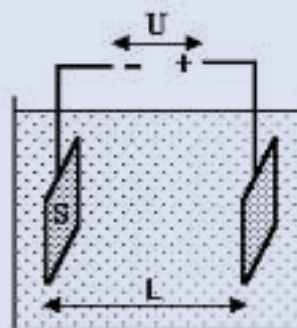


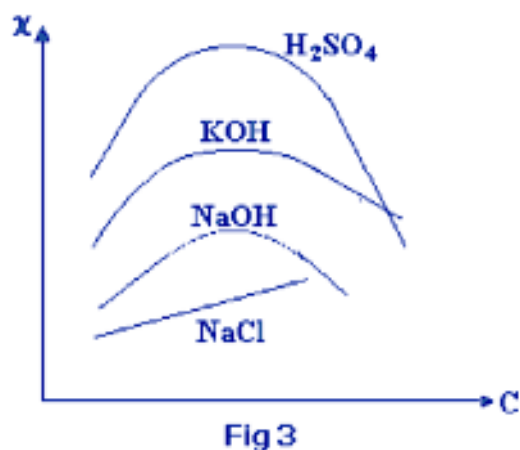
Fig 2

II-2- CONDUCTIVITÉ D'UN ÉLECTROLYTE

La variation expérimentale de χ en fonction de C pour certains électrolytes est représentée à la figure 3.

On voit que pour les solutions peu concentrées : χ aug-

mente lorsque C augmente et il tend vers 0 quand C tend vers 0



Si la concentration est élevée, χ diminue lorsque C augmente, la théorie des électrolytes permet d'expliquer cette diminution.

II-3- CONDUCTIVITÉ ÉQUIVALENTE DES ÉLECTROLYTES

Dans le cas d'un électrolyte de concentration équivalente C_e , on définit la **conductivité équivalente** (Λ) comme étant le rapport $\frac{\chi}{C_e}$.

L'étude expérimentale de la variation de Λ en fonction de C_e ou plutôt en fonction de $\sqrt{C_e}$ pour deux types d'électrolytes est représentés à la figure 4.

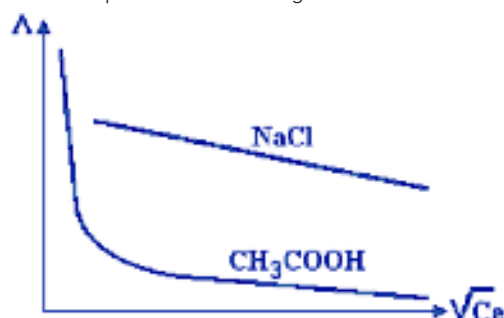


Fig 4 : Variation de la conductivité équivalente en fonction de $\sqrt{C_e}$

- * La courbe de $\Lambda = f(\sqrt{C_e})$ est une droite décroissante pour les électrolytes forts.
- * Les électrolytes faibles donnent des courbes qui ont la même allure que celle obtenue avec CH_3COOH , ressemblant à une branche d'hyperbole.

On remarque que, quelle que soit la nature de l'électrolyte, la conductivité équivalente augmente lorsque la concentration équivalente C_e diminue. Lorsque C_e tend vers zéro (la dilution tend vers l'infini), la conductivité équivalente tend vers une valeur limite notée Λ_0 (conductivité équivalente pour une concentration nulle) notée aussi Λ_∞ (conductivité équivalente pour une dilution infinie).

Λ_0 est facile à déterminer pour les électrolytes forts par extrapolation de la droite ; par contre pour les électrolytes faibles, la courbe est sensiblement asymptotique à l'axe des Λ et Λ_0 ne peut être obtenu par extrapolation sans erreur très importante.

III- THÉORIE DES ÉLECTROLYTES

La théorie des électrolytes permet d'exprimer la conductivité d'un électrolyte en fonction de sa concentration équivalente et de la mobilité des ions qui le constituent.

III-1- CONDUCTIVITÉ ET CONDUCTIVITÉ ÉQUIVALENTE D'UN ÉLECTROLYTE

On montre que la conductivité χ d'un électrolyte est donnée par la relation :

$$\chi = F \cdot \alpha \cdot C_e (\mu_+ + \mu_-)$$

F est le faraday : c'est la charge électrique d'une mole d'ion : $F = 96\,500 \text{ C}$

α est le degré de dissociation de l'électrolyte

C_e est la conductivité équivalente de l'électrolyte

μ_+ et μ_- sont les mobilités respectives des cations et des anions

La **conductivité équivalente d'un électrolyte** (Λ) qui est, par définition, le rapport de la conductivité sur la concentration équivalente s'écrit :

$$\Lambda = \frac{\chi}{C_e} = F \cdot \alpha (\mu_+ + \mu_-)$$

III-1-1- CAS D'UN ÉLECTROLYTE FAIBLE

La courbe $\Lambda = f(\sqrt{C_e})$ pour un électrolyte faible varie comme, α car il lui est proportionnel ; or α est fonction de la concentration et la courbe représentative α l'allure donnée par la figure 5.

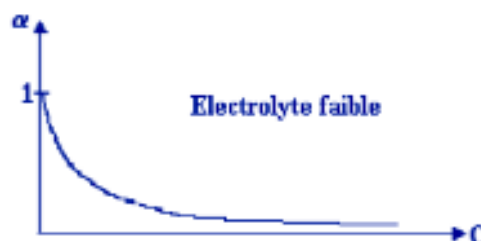


Fig 5

Si on considère que le produit $F (\mu_+ + \mu_-)$ est constant, la variation de Λ en fonction de $\sqrt{C_e}$ aura l'allure représentée à la figure 6.

Pour $C_e = 0$; $\Lambda_0 = F (\mu_+ + \mu_-)$

$$\alpha = \Lambda \frac{\Lambda_0}{\Lambda}$$

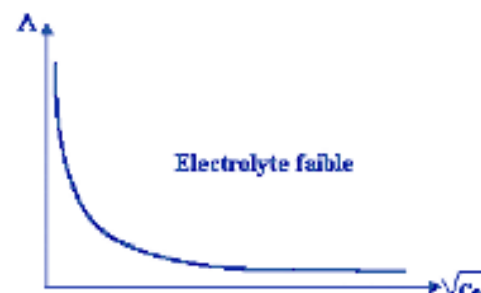


Fig 6 Variation de la conductivité équivalente en fonction de $\sqrt{C_e}$

III-1-2- CAS D'UN ÉLECTROLYTE FORT

Un électrolyte fort est complètement dissocié ; $\alpha = 1$ et d'après l'expression (16) Λ serait une constante indépendante de C_e . La courbe représentative serait la courbe théorique de la figure 7. La courbe expérimentale montre que Λ diminue quand C_e augmente.

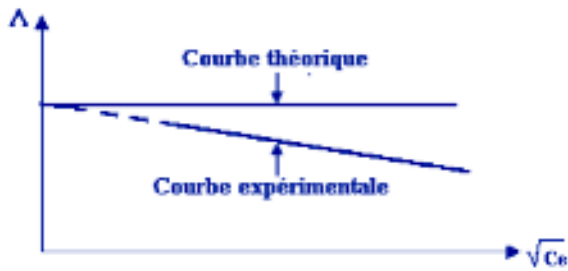


Fig 7 : Conductivité équivalente d'un électrolyte fort

On peut trouver une explication à ce phénomène dans la théorie des électrolytes. Cette théorie montre que : si on se place à l'échelle microscopique (Fig 8) et on compte le nombre de particules dans cet élément de volume, on trouve 3Na^+ et 9Cl^- ; il y a donc plus de charges négatives que de charges positives et l'électroneutralité n'est pas vérifiée.

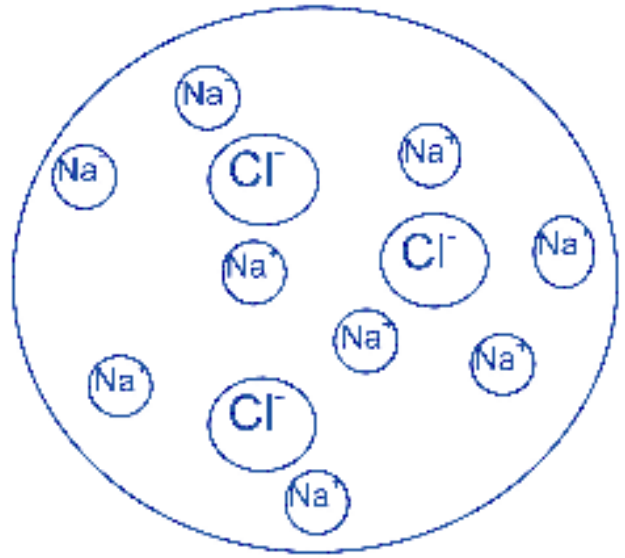


Fig 8 : L'électroneutralité n'est pas respectée à l'échelle microscopique

Entouré d'ions de signe contraire, le mouvement d'un ion va être freiné. On peut expliquer ce mouvement par les deux mécanismes suivants :

- * En se déplaçant, l'ion détruit l'équilibre ionique existant dans la solution, il s'oppose à l'environnement stationnaire ; c'est l'effet de relaxation.
- * L'existence d'un champ électrique va faire déplacer un ion considéré dans un sens et l'atmosphère ionique qui l'entoure dans un sens opposé ; ces deux espèces d'ions de signe opposé vont être freinés (leur mobilité va donc être diminuée) du fait de l'existence entre eux de forces électrostatiques attractives. C'est l'effet électrophorétique.

TP : CONDUCTIVITÉ

PRÉREQUIS

Cours Propriétés électriques des solutions micromoléculaires

OBJECTIFS DE LA MANIPULATION

Tracer les variations de la conductivité équivalente de l'acide acétique CH_3COOH et de chlorure de sodium NaCl en fonction de la racine carrée de la concentration équivalente.

MATÉRIEL

- Un conductimètre numérique muni d'une sonde, préalablement étalonné
- Une solution d'acide faible (CH_3COOH) à différentes concentrations
- Une solution de NaCl à différentes concentrations
- Une éprouvette à 50 ml
- Une pissette d'eau distillée pour rincer la sonde
- Papier millimétré
- Un bécher

MANIPULATION

Plonger la sonde dans les tubes à essai contenant la solution d'acide acétique CH_3COOH dans l'ordre croissant de concentration de telle manière que le niveau d'immersion atteigne la sonde thermique.

1. Relever la valeur de la conductivité affichée par l'appareil.
2. Répéter le même travail avec la solution de NaCl .

NB:

- Rincer l'électrode en passant de la solution de CH_3COOH à celle de NaCl et ne pas laisser les électrodes à l'air.
- Faire attention à l'unité affichée par l'appareil de mesure.

1/ Donner l'expression de la constante de la cellule conductimétrique:

$K =$ _____

2/ Mesure de la conductivité de quelques solutions :

Solution	Volume (ml)	Température (°C)	Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Eau distillée	40		
Eau du robinet	40		
Eau minérale	40		
Solution de NaCl (1M)	40		

Interpréter

3/ Variation de la conductivité équivalente d'une solution électrolytique en fonction de la concentration équivalente :
Solution NaCl

Concentration	C_E (Eq/l)	$\sqrt{C_E}$	Conductivité χ en ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Conductivité équivalente Λ en ($(\mu\text{S}/\text{cm})/(\text{Eq/l})$)

Solution CH₃COOH

Concentration	C _E (Eq/l)	vCe	Conductivité χ en (μs/cm)	Conductivité équivalente Λ en ((μs/cm)/ (Eq/l))

Tracer sur un papier millimétré la courbe $\Lambda=f(vCe)$ pour les deux types de solutions (NaCl et CH₃COOH). Interpréter les résultats obtenus.

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1

1/ On considère les composés suivants :

Composé	M (g/mol)	c (g/l)
a/ Urée	60	0,3
b/ NaCl	58,5	9,0
c/ CaCl ₂	111	0,222

Calculer pour chaque composé, la concentration massique, la concentration molaire, l'osmolarité et la concentration équivalente.

Test 2.

1/ On considère une solution S de CH₃COOH, de résistance R. La courbe de variation de R en fonction de la concentration molaire C de la solution S est décroissante pour les valeurs relativement faibles de C.

a/ Expliquer la décroissance de la courbe **R = f (C)**.

b/ Donner l'allure générale de la courbe de variation de la conductivité équivalente en fonction de la racine carrée de sa concentration équivalente. Expliquer cette courbe. On rappelle la loi de dilution d'Ostwald :

$$K = \frac{\alpha^2 C}{1 - \alpha}$$

2/ Reprendre la question 1/ pour une solution de **NaCl**.

3/ Citer une méthode qui permet la détermination de la conductivité équivalente limite Λ_0 de la solution de **NaCl**.

4/ Dans le cas de la solution **S** de **CH₃COOH**, retrouver l'expression de la fonction $(\Lambda C) = f(1/\Lambda)$ à partir de la loi de dilution d'Ostwald.

a/ Tracer la courbe représentative. On rappelle que $\alpha = \Lambda / \Lambda_0$.

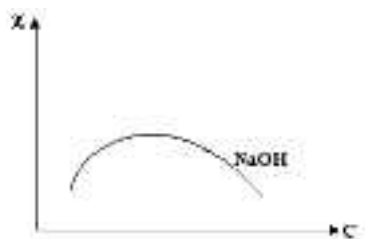
b/ Comment déterminer, à partir de la courbe la conductivité équivalente limite de la solution S.

c/ Comment déterminer, à partir de la courbe la constante d'Ostwald K.

Test 3.

La mesure expérimentale de la conductivité d'une solution en fonction de la concentration de **NaOH** donne les variations suivantes : pour les valeurs faibles de la concentration, elle augmente lorsque la concentration **C** augmente, passe par un maximum puis décroît lorsque **C** continue à augmenter et prend des valeurs importantes.

1/ Expliquer l'allure de cette courbe.



2/ Tracer sur le même graphique l'allure de cette variation pour une solution de **H₂SO₄**.

Test 4.

a/ On veut déterminer le degré de dissociation α d'une solution **S** d'acide éthanique **M/4**; on mesure la conductivité de cette solution **S** à 25°C, on trouve :

$$\chi = 0,829 \Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1}.$$

b/ On dilue 500 fois cette solution, on mesure la conductivité de cette solution diluée **S'** à 25°C, on trouve :

$$\chi' = 0,034 \Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1}.$$

Sachant que la conductivité équivalente à dilution infinie est $\Lambda_0 = 338 \Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1} / \text{Eq/l}$.

1/ a/ Calculer la constante de dissociation α de la solution S.

b/ Calculer la constante d'équilibre K de la solution S.

2/ a/ Calculer la constante de dissociation α' de la solution S'.

b/ Calculer la constante d'équilibre K' de la solution S'.

3/ Comparer α : α' et ; **K** et **K'**. Conclure

CHAPITRE V : LES PHÉNOMÈNES DE SURFACE

I- INTRODUCTION

Les échanges (ionique, gazeux...) à travers les surfaces biologiques et l'activité moléculaire intense qui siège au niveau des interfaces sont étroitement liés aux phénomènes de surface. L'activité fonctionnelle d'une cellule est d'autant plus importante que le rapport de sa surface à son volume (S/V) est élevé. À titre d'exemple la surface totale des alvéoles pulmonaires approche les 100 m²; celle des hématies est voisine de 3500 m². Pour la totalité des cellules, on aboutit à une valeur de l'ordre de quelques km².

L'étude des surfaces dans les milieux biologiques est complexe du fait de l'hétérogénéité de ces milieux et des propriétés propres des interfaces. En effet, l'interface possède une énergie particulière appelée **tension de surface**. Cette étude est relativement facile si la surface sépare un liquide d'un gaz.

II- LES SURFACES LIQUIDES

La propriété fondamentale d'une surface liquide est qu'elle tend à se contracter spontanément de façon à acquérir une aire minimale. Les gouttes liquides sont sphériques, ce qui correspond pour un volume donné, à une surface plus petite : en comparant la sphère à un cube par exemple. L'explication de ceci est d'ordre moléculaire (Fig.1).

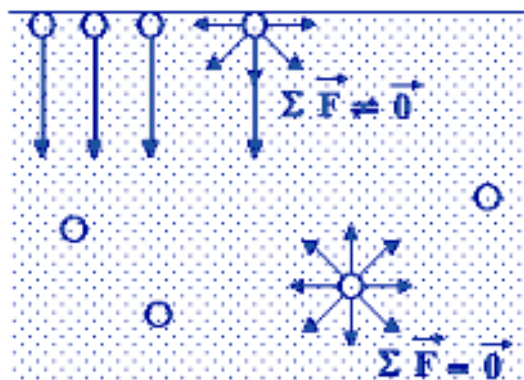


Fig.1

Considérons un cristalliseur plein de liquide (Fig.1). Une molécule quelconque située à l'intérieur du liquide est soumise, de la part des molécules voisines, à des forces attractives dont la résultante est nulle (il s'agit d'une valeur moyenne dans le temps).

Par contre, si cette molécule est directement à la surface de séparation du liquide avec l'extérieur (air ou gaz), les forces attractives exercées par les autres molécules ont une résultante non nulle, perpendiculaire à cette surface et dirigée vers l'intérieur (Fig.1).

L'attraction exercée sur cette molécule de liquide (et sur toutes les molécules de la surface) par les molécules extérieures de gaz, en contact avec la surface, est considé-

rée comme négligeable.

Ainsi, les molécules de la surface vont former une sorte de pellicule tendue qui comprime l'intérieur du liquide (pression interne).

Pour **augmenter la surface d'un liquide**, il faut vaincre ces forces résultantes non nulles et il **est donc nécessaire de fournir de l'énergie**.

II-1 TENSION SUPERFICIELLE

II-1-1 TENSION SUPERFICIELLE σ

On se propose d'augmenter une surface S de δS . Le travail δW qu'il faut fournir est proportionnel à δS . Le coefficient de proportionnalité est appelé **la tension superficielle σ du liquide**.

$$\delta W = \sigma \cdot \delta S$$

σ a la dimension d'une énergie par une surface. L'unité dans le système S.I est le **Joule / m²**. En pratique, σ s'exprime en **erg / cm²** (unités du système c.g.s.).

Une autre définition de σ est souvent utilisée. Soit une surface liquide plane rectangulaire $L \times l$; une augmentation de la surface de $\delta S = L \delta l$ (Fig.2) nécessite un travail :



Fig.2

$$\delta W = \sigma \cdot \delta S = \sigma \cdot L \cdot \delta l$$

$$\text{Comme ce travail peut s'écrire } \delta W = F \cdot \delta l \quad (2)$$

En égalisant (1) et (2), on peut déduire :

$$F = \sigma \cdot L \text{ ou } \sigma = \frac{F}{L}$$

La tension superficielle apparaît ici, comme le rapport d'une force par unité de longueur qui s'exprime en **dyne/cm** dans le système c.g.s.

II-1-2 ÉNERGIE SUPERFICIELLE E_s

On appelle **énergie superficielle** ou énergie de surface la quantité d'énergie que possède le liquide du fait de l'existence d'une surface libre :

$$E_s = \sigma \cdot \delta S$$

L'énergie de surface E_s d'un système a une **tendance spontanée à prendre une valeur minimale**, en rendant minimale l'aire totale des surfaces et/ou en diminuant σ par une adaptation adéquate des configurations moléculaires.

II-2 NOTION DE CORPS TENSIOACTIF

L'eau a une tension superficielle $\sigma_{\text{eau}} = 73 \text{ dynes / cm}$ supérieure à celle de la plupart des liquides. Cette valeur

élevée pour l'eau est liée à la structure de l'eau liquide et en particulier aux forces intermoléculaires.

Lorsqu'on ajoute une substance **tensioactive** à de l'eau, la tension superficielle de cette eau va diminuer. C'est le cas des sels biliaires dont $\sigma < \sigma_{\text{eau}}$ ($\sigma = 48$ dynes / cm). Les lipides et le cholestérol sont aussi tensioactifs (toutes les lessives sont tensioactives).

III- CONSÉQUENCES DE L'EXISTENCE DE LA TENSION SUPERFICIELLE

III-1 SURPRESSION À L'INTÉRIEUR D'UNE GOUTTE

Considérons une goutte de liquide de rayon r , placée dans un milieu de pression P_0 . La pression à l'intérieur de cette goutte est $P_0 + \delta P$. Calculons δP .

Le volume de la sphère est $\frac{4}{3} \cdot r^3$; sa surface est $4 \cdot r^2$. Pour augmenter son volume de dV , il faut fournir une énergie δW :

$$\delta W = \delta P \cdot \delta V = \delta P \cdot \delta \left(\frac{4}{3} \cdot r^3 \right) = 4 \cdot r^2 \cdot \delta r$$

À cette augmentation de volume s'opposent des forces de tension de surface dont le travail s'écrit :

$$\delta W = \sigma \cdot dS = \sigma \cdot \delta (4 \cdot r^2) = \sigma \cdot 8 \cdot r \cdot \delta r$$

En égalisant ces deux travaux, on trouve :

$$\delta P = \frac{2\sigma}{r}$$

C'est la loi de **LAPLACE**.

III-2 SURPRESSION À L'INTÉRIEUR D'UNE BULLE

Considérons une bulle de liquide dans l'air (par exemple une bulle de savon).

Soient (Fig.3) :



- σ : la tension superficielle du liquide qui la constitue.
 - R : le rayon de la surface intérieure.
 - $r + \delta r$: le rayon de la surface extérieure.
 - P_0 : la pression de l'air extérieur.
 - P : la pression de l'air intérieur.
 - P' : la pression dans le liquide constituant la bulle.
- Entre le liquide et l'air extérieur, il existe une surpression: $P' - P_0$:

$$P' - P_0 = \frac{2\sigma}{r + \delta r} \approx \frac{2\sigma}{r}$$

Entre l'air intérieur et le liquide, il existe une surpression: $P - P'$:

$$P - P' = \frac{2\sigma}{r}$$

D'où il existe entre l'air intérieur et l'air extérieur une surpression : δP

$$\delta P = P - P_0 = (P - P') + (P' - P_0) = \frac{4\sigma}{r}$$

Donc la surpression à l'intérieur d'une bulle est :

$$\delta P = \frac{4\sigma}{r}$$

IV- APPLICATIONS MÉDICALES

IV-1 LES ALVÉOLES PULMONAIRES.

Les alvéoles pulmonaires peuvent être assimilées à des sphères de taille variable dont le rayon moyen est de l'ordre de 0,05 à 0,1 mm. Leur nombre est considérable (quelques centaines de millions). La surface de l'alvéole est tapissée par une multitude de capillaires sanguins. La surface totale de la paroi alvéolaire est de l'ordre de 100 m² et varie au cours du cycle respiratoire. Elle constitue l'essentiel de la surface de contact avec l'air et il en résulte une tension inter faciale entre l'air et le liquide. L'alvéole pourrait être assimilée à une sphère de rayon r . Il se produit alors, à l'intérieur de chaque alvéole règne une surpression fonction de son rayon et donnée par la loi de Laplace :

$$\delta P = \frac{2\sigma}{r}$$

IV-2 SURFACTANT PULMONAIRE

La paroi interne des alvéoles pulmonaires est recouverte d'un film liquide d'épaisseur 0,5 μm . Si ce liquide était de l'eau, $\sigma_{\text{eau}} = 0,07$ N/m à 37°C, cette différence de pression serait comprise entre 12 et 24 mm de Hg. En fait, les différences de pression sont très faibles (quelques mm de Hg) et ceci est dû au fait que ce film liquide endo alvéolaire est une substance tensioactive, que l'on appelle **le surfactant pulmonaire** et qui réduit la tension superficielle et donc les différences de pression δp .

IV-2-1 VARIATION DE LA TENSION SUPERFICIELLE AU COURS D'UN CYCLE RESPIRATOIRE

Sur la figure 4, la tension superficielle est portée en ordonnée et on a porté en abscisse le rapport entre la surface alvéolaire et la surface maximum des alvéoles pulmonaires.

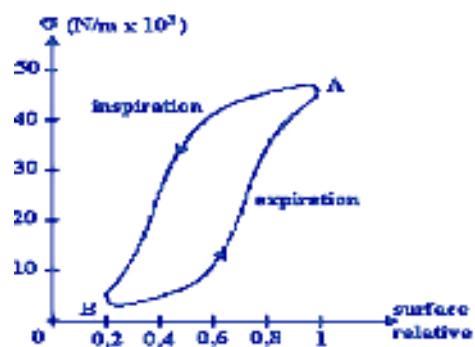


Figure 4

C'est ce que nous appelons la surface relative et la valeur 1 correspond à celle des alvéoles pulmonaires à leur extension maximale c'est-à-dire en fin d'inspiration. Les courbes correspondantes à l'inspiration et à l'expiration sont bien différenciées l'une de l'autre ce qui montre

que cette variation de la tension superficielle change entre l'inspiration et l'expiration. Ainsi, σ chute à 0 en fin d'expiration (quand le film liquide est comprimé) et remonte rapidement en fin d'inspiration (lors de la décompression du film liquide).

IV-2-2 RÔLE DU SURFACTANT

Les alvéoles pulmonaires sont de différentes tailles. Si la tension superficielle σ était constante durant un cycle respiratoire, la pression qui régnerait dans les petites alvéoles serait supérieure à celle des grosses alvéoles (car $\delta P = 2 \sigma / r$). Ceci mènerait à un affaissement des petites alvéoles qui seraient collabées et se videraient dans les grandes qui elles seraient distendues (emphysème).

La surpression δP à l'intérieur de l'alvéole ne varie pas dans de grandes proportions au cours du cycle respiratoire, car toutes les alvéoles ont pratiquement la même pression.

Le surfactant maintient le rapport σ/r constant, adapte la tension superficielle au rayon de l'alvéole et stabilise également sa taille. La tension superficielle diminue quand à l'expiration l'alvéole tend à se collaber, et augmente quand l'alvéole se distend à l'expiration.

L'adaptation de la tension superficielle est due à la configuration moléculaire du surfactant: Il est constitué de molécules de phospholipides chargées, qui s'alignent le long de la paroi alvéolaire et les forces de répulsion entre ces molécules diminuent lorsque la tension superficielle augmente.

La présence de surfactant réduit la tension superficielle du film aqueux alvéolaire d'un facteur voisin de 3. Le travail mis en jeu pour le fonctionnement du cycle respiratoire s'en trouve alors réduit. On comprend donc que l'absence (par exemple chez un nouveau-né prématuré) ou la modification de la structure du surfactant peuvent causer de très grands troubles de la fonction respiratoire.

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1

Quel est le travail des forces de tension de surface lorsqu'on passe d'un cube d'eau de 1 mm^3 à une sphère de même volume ?

On donne : σ (eau-air) = 0,075 SI

Test 2

On considère une sphère de rayon r :



1°) Calculer le travail élémentaire ΔW_s des forces de tension de surface lorsque le rayon r diminue de Δr

2°) Calculer le travail élémentaire ΔW_p des forces de pression lorsque le rayon r augmente de Δr . On notera $\delta p = P_{\text{eau}} - P_{\text{air}}$ la différence de pression entre l'intérieur et l'extérieur de la sphère d'eau.

3°) Retrouver la valeur $\delta p = \frac{2\sigma}{r}$

4°) Calculer δp avec : $r = 0,1 \text{ mm}$, $\sigma = 73 \text{ dyne/cm}$; $1 \text{ Atm} = 10^5 \text{ Pa}$

5°) Montre que dans le cas d'une sphère d'air dans l'eau

$$\delta p = P_{\text{eau}} - P_{\text{air}} = \frac{-2\sigma}{r}$$

6°) On considère une bulle d'eau :

a- Calculer $P_2 - P_1$ _____

b- Calculer $P_2 - P_3$ _____

c- Calculer $P_2 - P_3$ _____



Test 3

1- Calculer la surpression à l'intérieur d'une bulle de savon de diamètre 2 cm ; on prendra $\sigma = 50 \text{ dyne/cm}$

2- Pourquoi a-t-on choisi une valeur de σ inférieure à : σ (eau-air) = 73 dyne/cm

Test 4



On considère un cylindre d'eau de rayon r et de hauteur h :

1- Calculer le travail élémentaire ΔW_s des forces de tension de surface lorsque le rayon r diminue de Δr

2- Calculer le travail élémentaire ΔW_p des forces de pression lorsque le rayon r augmente de Δr .

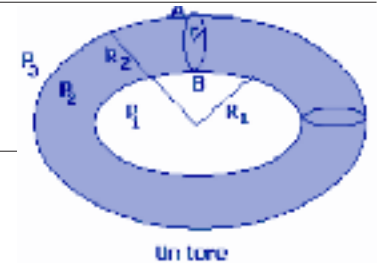
On notera $\delta p = P_{\text{eau}} - P_{\text{air}}$, la différence de pression entre l'intérieur et l'extérieur de la sphère d'eau.

3- Démontrer que la surpression $\delta p = P_{\text{eau}} - P_{\text{air}} = \frac{2\sigma}{r}$ par interface et par rayon de courbure dans chacun des cas : $r > 0$ et $r < 0$ (voir schéma)

4- À partir des résultats de 3, calculer pour un tore :

a- $P_2 - P_1$ au niveau de la circonférence intérieure.

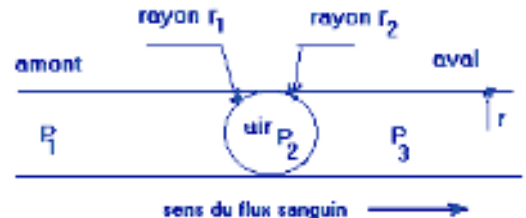
b- $P_2 - P_3$ au niveau de la circonférence extérieure.



Test 5

Des petites bulles d'air se trouvent dans le sang à l'intérieur d'un capillaire de rayon r :

1°) Montrer que dans un premier stade les petites bulles vont se rassembler pour former une grosse bulle tel que le montre le schéma suivant :



2°) Calculer sans tenir compte du flux sanguin :

a- $P_1 - P_2$

b- $P_3 - P_2$

c- $P_1 - P_3$

Comparer: P_1 et P_3

3°) En tenant compte du flux sanguin, comparer P_1 et P_3 . Montrer alors que l'arrêt du flux sanguin est dû au flux lui-même.

Test 6

Quelle est la masse d'une goutte d'eau donnée par un compte goutte de diamètre extérieur de 0,5 cm ? L'expérience montre que dans la zone de coupure, le rayon du collet $r \neq 0,6 r$. On prendra : $\gamma = 9,8$ et $\sigma = 0,075$ SI

CHAPITRE VI : PH DES SOLUTIONS TAMPONS ET DES AMPHOLYTES

I- NOTION DE PH

I.1- DISSOCIATION DE L'EAU

L'eau se dissocie selon la réaction réversible :



Cette réaction est caractérisée par une constante :

$K_{\text{eau}} = [\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{OH}^-]$ c'est le **produit ionique de l'eau**.

Cette constante augmente avec la température. À 0°C, elle est égale, aux températures ordinaires, à $10^{-14},94$ (on peut retenir la valeur 10^{-14}).

$$[\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{OH}^-] = 10^{-14}$$

Chaque litre d'eau pure contient donc 10^{-7} équivalent H_3O^+ et 10^{-7} équivalent OH^- . **Toute solution qui contient 10^{-7} équivalent H_3O^+ par litre est dite neutre**, une solution qui contient plus que 10^{-7} équivalent H_3O^+ par litre est **acide** et une solution qui contient moins que 10^{-7} équivalent H_3O^+ par litre est **basique**.

I-2- DÉFINITION DU PH

On définit le **pH** d'une solution comme étant le logarithme décimal changé de signe de l'activité des ions H_3O^+ .

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$$

Tant que la concentration des solutions reste faible, on peut confondre activité et concentration et écrire :

$$\text{pH} = -\log (\text{H}_3\text{O}^+)$$

Le **pH** d'une solution **neutre** est donc égal à 7, celui d'une solution **acide** est **inférieur à 7** et celui d'une solution basique est **supérieur à 7**.

De façon symétrique, on peut définir le **pOH** pour une base :

$$\text{pOH} = -\log [\text{OH}^-]$$

Pour l'eau, aux températures usuelles :

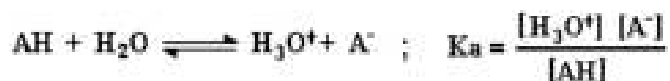
$$\text{pH} + \text{pOH} = 14$$

II- VARIATION DU PH LORS DE LA NEUTRALISATION D'UN ACIDE FAIBLE PAR UNE BASE FORTE

On trace la courbe de variation du pH au cours de la neutralisation d'une solution d'un acide par une base. On porte en abscisse le nombre x d'équivalents de base ajoutée pour un équivalent d'acide.

On part d'un acide de concentration molaire C et on y ajoute progressivement de la base (NaOH par exemple) jusqu'à neutralisation complète.

II-1- FORMULE D'HENDERSON - HASSELBACH



$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{A}^-]_{\text{formé}}}{[\text{AH}]_{\text{restant}}}$$

Le pH au cours de la neutralisation s'écrit aussi :

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{sel formé}]}{[\text{acide restant}]} = \text{pKa} + \log \frac{x}{1-x}$$

Cette formule est appelée formule d'**Henderson**, elle décrit la courbe de neutralisation d'un acide faible par une base forte. Elle n'est pas valable aux deux extrémités de la courbe : lorsque $0 < x < 0,05$ (car les A^- provenant de l'acide ne sont pas négligeables devant les A^- du sel) et $0,95 < x < 1$; La figure 2 donne une représentation de la courbe de neutralisation obtenue.

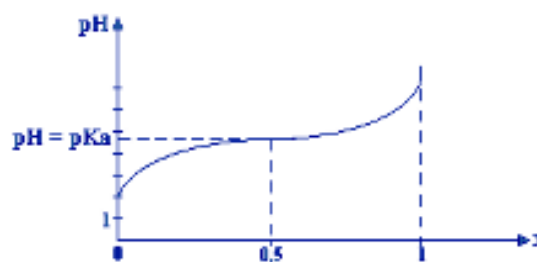


Fig 2 :

$x = 0$; le pH est celui de l'acide pur.

$x = 1$; le pH est celui du sel d'acide faible et de base forte.

$x = 0,5$; le pH = pKa ; c'est la demi-neutralisation.

II-2- SYSTÈME TAMPON

II-2-1 DÉFINITION

D'après la courbe de neutralisation obtenue, on voit que le pH varie très peu dans sa partie moyenne. $\frac{\Delta \text{pH}}{\Delta x}$ On peut montrer que la pente de la courbe $\frac{\Delta \text{pH}}{\Delta x}$ passe par un extremum au point de demi-neutralisation. Il en résulte que le pH d'un mélange d'acide faible et de son sel de base forte est connu et est stable. C'est-à-dire que le pH varie peu quand on ajoute un acide ou une base forte. Il s'agit d'un **système tampon**.

On appelle **système tampon**, une solution qui s'oppose aux variations de pH.

II-2-2 POUVOIR TAMPON

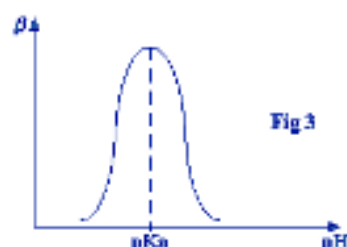
On définit le pouvoir tampon β d'une solution par la quantité d'acide fort ou de base forte ajoutée à cette solution pour faire varier son pH d'une unité. Cette quantité peut être exprimée par un volume Δv ou par un nombre d'équivalents H^+ ou OH^- , s'exprimera en unités de volume par unité de pH ou en Équivalents par unité de pH

$$\beta = \frac{\Delta v}{\Delta \text{pH}} ; \text{ ou } \beta = \frac{N(\text{nombre d'équivalents})}{\Delta \text{pH}}$$

Au cours de la neutralisation d'un acide faible par une base forte, la courbe de variation du pouvoir tampon β en fonction du pH est donnée par la figure 3 ; elle passe par un maximum pour :

pH = pKa

II-3- MÉLANGE



TAMPON

II-3-1 DÉFINITION D'UN MÉLANGE TAMPON

Il s'agit du mélange d'un acide faible (AH) avec son sel de base forte (à Na) par exemple)

II-3-2 PH D'UN MÉLANGE TAMPON

$$pH = pK_a + \log \frac{[sel.]}{[acide]}$$

III- LES AMPHOLYTES

III-1- DÉFINITION

Les ampholytes ou amphotères sont des corps qui possèdent à la fois des fonctions acides et des fonctions basiques. Les unes et les autres sont à dissociation incomplète.

On définit alors un pK_a et un pK_b .

III-2- PH ISO-IONIQUE

Il correspond à celui d'une solution aqueuse pure ou à une dilution infinie. On confond, pour simplifier, le **pH iso-ionique** au **pH isoélectrique**.

Le pH isoélectrique pH_i est le pH pour lequel, en moyenne, la charge électrique de l'ampholyte est nulle. Cette charge est individuellement nulle pour les molécules non ionisées et pour les ions doubles (égalité des charges + et - sur chaque ion double). Il est donc néces-

saire pour que la charge moyenne sur l'ensemble des formes que peut prendre l'ampholyte, soit nulle et que les concentrations des formes X^+ et X^- soient égales. On aura donc au pH_i :

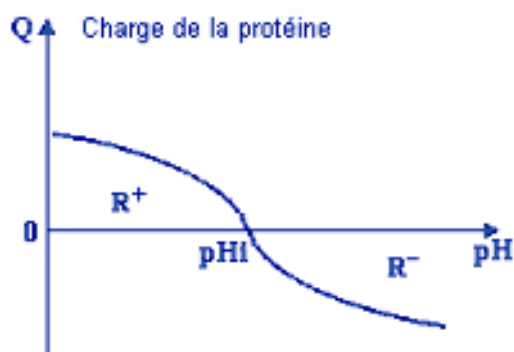
$$[X^+] = [X^-]$$

Le pH isoélectrique apparaît comme la valeur moyenne du pK de la dissociation acide et du pK de la dissociation basique :

$$pH_i = \frac{14 + pK_a - pK_b}{2}$$

III-3- COMPORTEMENT DES AMPHOLYTES EN FONCTION DU PH DU MILIEU

Au $pH = pH_i$, il n'y a pratiquement que des ions doubles, les autres formes sont négligeables.



TESTS D'ÉVALUATION

Test 1. Définir le produit ionique de l'eau. Donner sa valeur aux températures usuelles, dans quel sens varie-t-elle si la température augmente ?

Test 2.

1/ Définir le pH d'une solution.

2/ Calculer la concentration molaire d'une solution d'acide éthanique : CH_3COOH de degré de dissociation $\alpha = 0,9$ et de constante d'acidité $K_a = 10^{-5}$.

3/ Calculer le pH de cette solution :

Test 3.

1/ Calculer la molarité de l'acide éthanoïque : CH_3COOH de $\text{pK}_a = 5$

a/ Dans une solution aqueuse de cet acide telle que $[\text{H}_3\text{O}^+] = 1 \text{ mEq} \cdot \text{L}^{-1}$

b/ Dans une solution aqueuse de cet acide telle que $[\text{H}_3\text{O}^+] = 0,1 \text{ mEq} \cdot \text{L}^{-1}$

2/ Calculer α dans les cas a/ et b/. Que peut-on conclure ?

Test 4. Deux acides faibles monovalents AH et A'H, de mêmes concentrations molaires $C = 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, ont respectivement des constantes d'Ostwald K_a et K'_a tel que : $K_a = 4 \cdot 10^{-6}$ et $K'_a = 4 \cdot 10^{-2}$

1/ Calculer α , le degré de dissociation pour chacune des deux solutions séparées.

2/ Montrer que l'utilisation de la formule approchée pour la détermination de α est possible pour l'acide AH et non possible pour A'H.

Test 5. Soit une solution d'acide faible monovalent décimolaire de degré de dissociation $\alpha = 10^{-2}$.

1/ Calculer le pH de cette solution.

2/ Calculer son pK_a .

3/ On neutralise 10 mL de cette solution par une solution de soude M/40.

Quel serait le pH du mélange si on ajoutait 20 mL de base.

Test 6. On a préparé une solution par le mélange suivant :

* 300 mL d'acétate de sodium décimolaire.

* 150 mL d'acide éthanoïque : CH_3COOH 1/15N ($\text{pK} = 4,7$).

* 50 mL d'eau distillée.

1/ Calculer le pH de cette solution.

2/ Calculer le nombre de milliosmoles et le nombre de milliéquivalents contenus dans la solution pour les constituants : CH_3COO^- ; CH_3COOH ; Na^+ et pour $[\text{H}_3\text{O}^+]$.

3/ Calculer le nombre total de milliosmoles et le nombre total de milliéquivalents dans la solution.

4/ Que devient le pH de la solution si on ajoutait 100 mL d'eau distillée.

Test 7. On considère une solution **S** normale d'acide faible monovalent **AH** de volume 1 litre et de degré de dissociation $\alpha = 10^{-2}$.

1/ Calculer le pH de cette solution.

2/ Calculer son pKa.

3/ De combien de fois dont on diluer cette solution pour obtenir une solution **S'** de pH égal à 2,65.

4/ On prélève 2 litres de cette nouvelle solution **S'** que l'on mélange à 1 litre de NaOH 0,05M ; on appellera **S₁** ce mélange. Calculer pour **S₁** :

a/ Le pH¹.

b/ Le nombre d'équivalents [H₃O⁺].

c/ Le nombre d'équivalents Na⁺

d/ Le nombre d'équivalents A⁻.

e/ Le nombre de moles AH non dissociées.

f/ Le nombre total d'osmoles.

g/ L'abaissement cryoscopique mesuré avec un thermomètre gradué au 1/100°C.

5/ Calculer la valeur du pH₂ qu'on obtiendrait si on diluait S₁ 10 fois.

6/ Calculer le pH₃ qu'on obtiendrait si on ajoutait à S₁, 30 mL d'HCl normal

7/ Calculer la valeur du pH₄ qu'on obtiendrait si on ajoutait 30 mL d'HCl normal dans 3 litres d'eau pure.

9/ Calculer β , le pouvoir tampon du mélange et β' , le pouvoir tampon de l'eau. Que peut-on conclure.

TP2 : PH DES SOLUTIONS TAMPONS

PRÉREQUIS

Cours pH des solutions tampons

OBJECTIFS DE LA MANIPULATION

- Étudier l'évolution du pH lors de la neutralisation d'un acide faible (CH_3COOH) par une base forte (NaOH).
- Mesurer le pouvoir tampon d'une solution.

MATÉRIEL

- Un pH-mètre numérique muni d'une sonde, préalablement étalonnée
- Une solution d'acide faible (CH_3COOH) ; 50,0 ml à prélever dans un bécher
- Une solution de base forte (NaOH) ; 50,0 ml à prélever dans un deuxième bécher,
- Une pipette à 1ml
- Une pissette d'eau distillée pour rincer la sonde
- Du papier millimétré

MANIPULATION

Neutralisation de l'acide acétique CH_3COOH par une solution de NaOH

- Détermination du pH de l'acide seul : plonger la sonde dans la solution d'acide acétique et relever la valeur du pH correspondante.
- À l'aide de la pipette, ajouter la solution de soude (NaOH) par fractions de 0,5ml et relever la valeur du pH après chaque ajout, selon le tableau suivant.

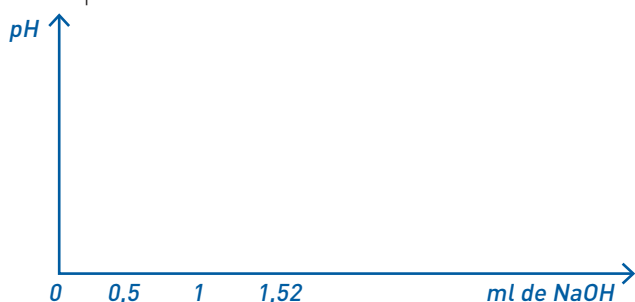
Nb: Pour une meilleure précision des mesures, il est indispensable de :

- Rincer l'électrode après chaque mesure
- Ne pas laisser les électrodes à l'air

- Relever les valeurs du pH mesurées dans le tableau ci-dessous.

Solution	pH
S_0 : CH_3COOH +0ml de NaOH	
S_1 : S_0 +0,5ml de NaOH	
S_2 : S_1 +0,5ml de NaOH	
S_3 : S_2 +0,5ml de NaOH	
S_4 : S_3 +0,5ml de NaOH	
S_5 : S_4 +0,5ml de NaOH	
S_6 : S_5 +0,5ml de NaOH	

- Sur le papier millimétré, tracer la courbe de variation du pH de la solution en fonction du volume de NaOH



ajouté.

- Interpréter l'allure de la courbe obtenue

I. MESURE DU POUVOIR TAMPON

- Mesurer le pH des solutions suivantes (S_1 - S'_1 - S_2 - S'_2) préalablement préparées

Solutions	Volume (ml)	pH mesuré
S_1 : Eau distillée	30ml	
S'_1 : S_1 + Solution de H_2SO_4 (0.5N)	S_1 +0.5ml	
S_2 : NaOH + CH_3COOH (de même molarité)	15ml+15ml	
S'_2 : S_2 + H_2SO_4 (0.5N)	S_2 +0.5ml	

- Sachant que le pouvoir tampon $\beta = \frac{\Delta p}{\Delta \text{pH}}$,

calculer le pouvoir tampon β des solutions S_1 et S_2 .

- Pouvoir tampon de la solution S_1 :

$\beta_1 =$ _____

- Pouvoir tampon de la solution S_2 :

$\beta_2 =$ _____

- Interpréter les résultats obtenus.

CHAPITRE VII : LE DIAGRAMME DE DAVENPORT

I - INTRODUCTION

Le métabolisme cellulaire et l'alimentation et constituent les principales sources d'ions H^+ et les variations conséquentes du pH sanguin sont généralement minimisées grâce à des mécanismes d'autorégulation qui sont :

- Les systèmes tampons physico-chimiques du milieu intérieur qui interviennent de façon automatique et immédiate (délai de l'ordre de la seconde), sur le lieu même de la perturbation.
- Le système respiratoire peut intervenir dans un deuxième temps (dans les 10 mn) de façon brutale, mais peu durable, en contrôlant la ventilation et donc l'élimination pulmonaire du CO_2 .
- Le rein intervient en dernier lieu. Il est le seul à assurer la correction finale des désordres, puisque lui seul est capable de contrôler l'élimination des ions H^+ et la réabsorption des bicarbonates.

Le diagramme de Davenport est une représentation graphique qui permet de :

- discuter l'état de déséquilibre acido-basique d'un sujet par rapport à l'état du sujet normal.
- Comprendre les notions de trouble initial et de processus de compensation

II - LES SYSTÈMES TAMPONS DU SANG

La réponse des systèmes tampons de notre organisme à une agression acido-basique est plurielle. Dans le cas d'une agression acide, 60% des ions H^+ sont neutralisés par les tampons cellulaires (autres que les érythrocytes), 20 à 25% des ions H^+ sont neutralisés dans le L.E.C. et 15 à 20% des H^+ sont neutralisés dans le sang. Cependant, on ne peut accéder à la quantification de la réponse des tampons cellulaires puisque le pH intracellulaire est inexplorable en routine hospitalière. Nous considérons alors uniquement les systèmes tampons du sang, car il est l'intermédiaire obligé des autres secteurs avec les systèmes de régulation (poumons et reins). On distingue dans le sang les tampons plasmatiques et les tampons érythrocytaires.

Il y a trois principaux systèmes tampons dans le plasma:

- Le système protéine-protéinate.
- Le système phosphate monosodique-phosphate disodique. Ces deux systèmes ont une masse constante et sont dits **fermés**.
- Le système acide carbonique-bicarbonate dont le rôle est fondamental. Ce système est dit **ouvert** (sur le milieu extérieur), à cause de sa liaison étroite physico-chimique et physiologique, avec les systèmes respiratoire et excréteur (reins).

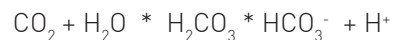
II-1 LE SYSTÈME TAMPON DES BICARBONATES

L'acide carbonique H_2CO_3 est un diacide faible dont l'équilibre de dissociation se résume en la première fonction acide (pK_a):



La concentration de HCO_3^- est de 24 à 28 mEq/l dans le plasma. Dans le LEC, on trouve 320 à 350 mEq de HCO_3^- .

Par ailleurs, l'acide carbonique ($pK = 6,1$) est en équilibre avec le gaz CO_2 existant dans les alvéoles pulmonaires. Les échanges gazeux se font par diffusion du CO_2 entre l'alvéole pulmonaire (milieu gazeux) et le plasma (milieu liquide). On a donc :



$$\text{et } pH = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]_{\text{dissous}}}$$

À l'équilibre $[CO_2]$ dissous dans le plasma est, selon la loi de Henry, proportionnel à la pression partielle du CO_2 gazeux des alvéoles pulmonaires :

$$[CO_2]_{\text{dissous}} = a \cdot P_{CO_2} \quad \text{avec } a = 0,03 \text{ mM/l.mm Hg}$$

$$\text{Ainsi : } pH = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{a \cdot P_{CO_2}}$$

On peut grâce à des techniques chimiques doser le CO_2 total.

$$\text{En sachant que } [CO_2]_{\text{total}} = [HCO_3^-] + [CO_2]_{\text{dissous}}$$

$$\text{on aura : } [HCO_3^-] = [CO_2]_{\text{total}} - [CO_2]_{\text{dissous}}$$

D'où l'expression :

$$pH = 6,1 + \log \frac{[CO_2]_{\text{total}} - [CO_2]_{\text{dissous}}}{[CO_2]_{\text{dissous}}}$$

Ou encore :

$$pH = 6,1 + \log \frac{[CO_2]_{\text{total}} - a \cdot P_{CO_2}}{a \cdot P_{CO_2}}$$

Cette équation reflète bien la dépendance de ce système, vis-à-vis des systèmes respiratoire (poumons) et excréteur (reins). On définit ce système tampon carbonique comme étant un tampon **ouvert** sur le milieu extérieur.

À P_{CO_2} donnée, c'est la concentration $[CO_2]_{\text{dissous}}$ qui est constante, cependant $[CO_2]_{\text{total}}$ (égal à $[HCO_3^-] + [CO_2]_{\text{dissous}}$) ne l'est pas. Ainsi une augmentation de $[HCO_3^-]$ n'entraîne pas nécessairement une baisse corrélative de $[CO_2]_{\text{dissous}}$. L'importance du tampon carbonique est liée à :

- son abondance dans l'organisme
- le fait qu'il soit ouvert.

II-2 LES AUTRES SYSTÈMES TAMPONS PLASMATIQUES : LOI ISOHYDRIQUE

La concentration $[H^+]$ qu'on prend en compte pour chaque système tampon est évidemment la même et par suite, on peut écrire :

$$pH = 6,82 + \log \frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]} = pK_{\text{prot}} + \log \frac{[Prot^-]}{[ProtH]} = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]_{\text{dissous}}}$$

II-3 LE SYSTÈME TAMPON ÉRYTHROCYTAIRE

Le tampon érythrocytaire le plus important est l'hémoglobine. Il y a 8,9 à 9 mM/L d'hémoglobine dans le sang d'où l'importance quantitative de ce tampon. Ce système est beaucoup plus efficace que le système (il représente 85% du pouvoir tampon du sang) protéines-protéinates plasmatiques.

À pH 7,4 l'hémoglobine Hb^- est en équilibre avec HbH et on peut écrire :

$$pH = pK_{\text{Hb}} + \log \frac{[Hb^-]}{[HbH]}$$

En fait, il y a deux tampons hémoglobiniques, correspondant aux deux formes (réduite et oxygénée) de l'hémoglobine : L'acide HbH ($pK = 7,93$) plus faible que l'acide HbO_2H ($pK = 6,68$).

Au pH sanguin, l'Hb se comporte comme un acide faible.

III – LES SYSTÈMES DE RÉGULATION

Les poumons et les reins sont les deux organes qui interviennent, séparément ou ensemble, pour ramener le pH à sa valeur normale après une perturbation. Toute défaillance dans leurs fonctionnements respectifs pourrait favoriser ou induire, une rupture de l'équilibre acido-basique normal.

La régulation pulmonaire est une autorégulation. Elle intervient rapidement. Elle consiste en une modification du rythme de la ventilation pulmonaire (hypo ou hyper). Elle est basée sur l'équilibre chimique qui existe entre les bicarbonates et le dioxyde de carbone :



Ainsi à toute modification chimique du sang artériel en O_2 , en CO_2 ou en ion H^+ , le poumon réplique par une hypoventilation ou une hyperventilation compensatrice.

La régulation rénale est très lente. Elle est liée au fonctionnement de la cellule tubulaire qui est soumise à l'autorégulation. Le rein excrète l'excès de radicaux acides, restaure le stock de substances tampons et adapte sa sécrétion et sa réabsorption en fonction de la perturbation.

IV- DIAGRAMME DE DAVENPORT

L'exploration des troubles de l'équilibre acido-basique repose sur la connaissance des paramètres suivants: pH, P_{CO_2} , HCO_3^- et CO_2 total. Tous ces paramètres sont accessibles à la mesure.

IV-1 EQUATIONS RÉGISSANT LE SYSTÈME CARBONIQUE SANGUIN

IV-1-1 EQUATION DES ISOBARES

À partir de l'équation :

$$pH = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{a \cdot P_{CO_2}}$$

on peut écrire :

$$[HCO_3^-] = a \cdot 10^{-6} \cdot 1 \cdot P_{CO_2} \cdot 10^{-pH} \quad (1)$$

Cette relation (1) ne fait intervenir que le tampon carbonique ouvert.

À P_{CO_2} constante, $[HCO_3^-]$ est une fonction puissance du pH (exponentielle base 10) et la courbe représentative est appelée isobare. Pour les différentes valeurs de on obtient une famille d'isobares. L'isobare est normale si $PCO_2 = 40$ mmHg.

IV-1-2 EQUATION DE LA DROITE D'ÉQUILIBRATION NORMALE DU CO_2

Il s'agit de rechercher une relation $[HCO_3^-] = f(pH)$ qui met en jeu tous les tampons fermés, c.a.d essentiellement les protéines (plasmatiques et érythrocytaires).

En écrivant l'électroneutralité du sang et en négligeant $[H^+]$ et $[OH^-]$ par rapport aux autres ions, il est facile d'écrire que :

$$[A^-] + [HCO_3^-] = C \quad (1)$$

où C est une constante pour une composition donnée en acides fixes.

En assimilant l'ensemble des systèmes tampons fermés à un acide faible AH en présence de son sel de base forte (A^-) alors $[A^-]$ est lié au pH par :

$$[A^-] = T \cdot pH + \beta \quad (2)$$

- T = pouvoir tampon global des systèmes tampons fermés du sang.

- β = est une constante sans signification particulière.

À partir des relations (1) et (2) on obtient donc l'équation de la droite d'équilibration du CO_2 :

$$[HCO_3^-] = -T \cdot pH + B \quad (3)$$

Cette équation (3), de la forme $(y = ax + b)$, représente une droite de pente négative, appelée droite d'équilibration du CO_2 . Elle donne les variations de $[HCO_3^-]$ en fonction du pH lorsque le taux de CO_2 varie dans le sang.

La pente de cette droite ($a = -T$) représente le pouvoir tampon global T des systèmes fermés. L'ordonnée à l'origine B est une constante qui reflète la composition du milieu en acides fixes. B peut changer en cas d'agression acide ou basique, on obtient donc une famille de droites parallèles pour les différentes valeurs de B.

La droite qui rencontre l'isobare normale au point d'abscisse pH = 7,4 est appelée **droite d'équilibration normale du CO_2** .

Remarques :

- Plus le pouvoir tampon est élevé, plus la pente de la droite d'équilibration est grande.
- Dans le cas du sang séparé des hématies, la pente est très faible par absence d'hémoglobine.
- Dans le cas d'une anémie, la pente est inférieure à celle de la droite d'équilibration normale du CO_2 , et ce par diminution du tampon érythrocytaire.
- Si le sang n'avait aucun pouvoir tampon, la pente serait nulle.

IV- 2 REPRÉSENTATION GRAPHIQUE DU DIAGRAMME DE DAVENPORT

L'isobare normale et la droite d'équilibration normale du CO_2 se coupent en un point caractérisé par son pH et $[\text{CO}_3\text{H}^-]$. Le point N représentatif de l'état du sujet normal est :

$$N \begin{cases} \text{pH} = 7,4 \\ \text{PCO}_2 = 40 \text{ mmHg} \\ [\text{CO}_3\text{H}^-] = 24 \text{ mEq/l} \end{cases}$$

L'isobare normale et la droite d'équilibration normale du CO_2 se coupent en N et divisent le plan en quatre zones numérotées de 1 à 4 (Fig. 1). Nous verrons l'importance de ceci pour le pronostic vital du malade.

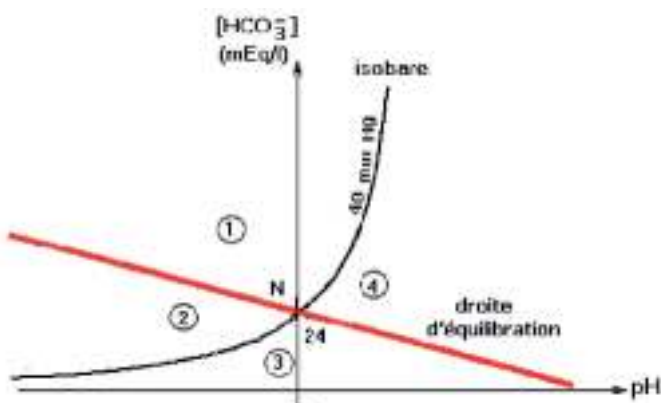


Fig.1 : Diagramme de Davenport

Fig 1 : diagramme de Davenport

En se déplaçant sur la DNE, on change d'isobare : la PCO_2 change et la quantité d'acides fixes reste constante. En se déplaçant sur une isobare, la PCO_2 reste constante et la quantité d'acides fixes change.

Remarque : Cas du sujet anémique

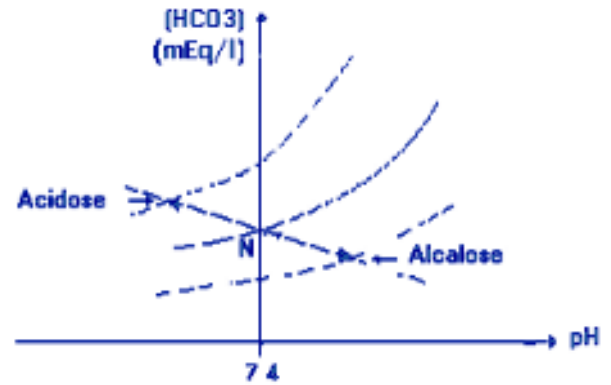
La pente T de la droite d'équilibration du CO_2 représente le pouvoir tampon global des systèmes fermés du sang. Lorsqu'un sujet présente une anémie ferriprive, son hémocrite est diminué par diminution de l'hémoglobine. Donc son système tampon érythrocytaire va avoir un pouvoir tampon diminué.

Il est évident alors que pour ce sujet, la pente T' de la droite d'équilibration du CO_2 va diminuer par rapport à la valeur normale par diminution du tampon érythrocytaire. Le sujet est en état d'**acidose** si $\text{pH} < 7,4$ et d'**alcalose** si $\text{pH} > 7,4$.

IV-2-1 TROUBLE RESPIRATOIRE (OU GAZEUX) PUR

Trouble $\rightarrow \text{pH} \neq 7,4$;

Trouble respiratoire pur \rightarrow la $\text{P}_{\text{CO}_2} \neq 40 \text{ mm Hg}$ alors que la droite d'équilibration du CO_2 est de pente normale et le point représentatif de l'état du sujet appartient à cette



droite (Fig. 2).

Fig 2 : Agression respiratoire (ou gazeuse) pure.

$\text{pH} \nearrow, [\text{HCO}_3^-] \searrow$ et $\text{pH} \searrow, [\text{HCO}_3^-] \nearrow$

Le trouble initial est une modification de la ventilation. Ainsi :

une hypoventilation
 $\rightarrow \text{PCO}_2 \nearrow \rightarrow \text{pH} \searrow$
 \rightarrow acidose respiratoire

une hyperventilation
 $\rightarrow \text{PCO}_2 \searrow \rightarrow \text{pH} \nearrow$
 \rightarrow alcalose respiratoire

La compensation de ce trouble est purement métabolique (rénale).

Toute agression respiratoire modifiant le pH sanguin est suivie par des mécanismes de **correction** faisant intervenir les **reins**.

En cas d'acidose respiratoire, les reins augmentent la réabsorption $[\text{HCO}_3^-]$ et l'élimination $[\text{H}^+]$.

A l'inverse, en cas d'alcalose respiratoire, les reins diminuent la réabsorption $[\text{HCO}_3^-]$ et l'élimination $[\text{H}^+]$.

V-2-2 TROUBLE MÉTABOLIQUE PUR

Le $\text{pH} \neq 7,4$; la P_{CO_2} est **constante** alors que la droite d'équilibration du CO_2 est parallèle à la droite normale.

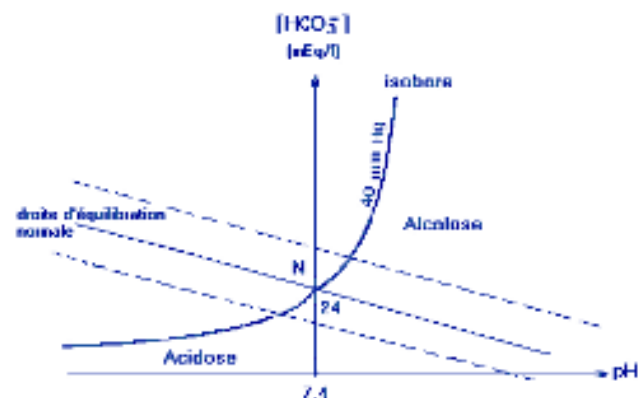


Fig.3: Trouble métabolique pur

Le point représentatif de l'état du sujet est sur la même isobare que le point N (Fig. 3). Le trouble initial peut être du soit à un excès d'acides fixes soit à un excès plasmatique en tampons basiques. La compensation de ce trouble est purement respiratoire (hyper ou hypoventilation).

Pour corriger une alcalose métabolique, on observe une

hypoventilation entrainant une augmentation de la PCO_2 .
A l'inverse, pour corriger une acidose métabolique, on note une hyperventilation entrainant une diminution de la PCO_2 .

IV-2-3 PERTURBATIONS MIXTES

Ces perturbations mixtes associent le plus souvent un facteur respiratoire à un facteur métabolique.

Les modifications du pH dues à chacun de ces deux facteurs sont dans le même sens (Fig 4) : Zone 2 (ou G) : association de deux acidoses respiratoire et métabolique (ex: insuffisances respiratoire et rénale) alors qu'en zone 4 (ou H) ce sont deux alcaloses l'une respiratoire et l'autre métabolique plus rares (ex : hyperpnée et perfusion de $[HCO_3^-]$).

La compensation est donc difficile puisque chaque trouble aggrave l'autre. Si les variations du pH se font en sens opposés, alors un trouble va compenser (partiellement parfois) l'autre trouble.

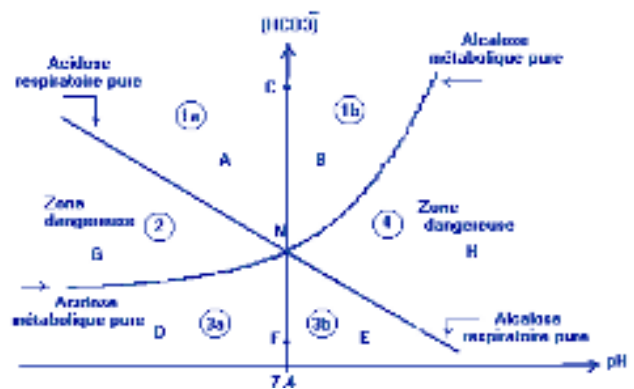


Fig. 4: délimitation des zones dangereuses

V- CONCLUSION

Le diagramme de Davenport est très commode pour comprendre et suivre l'évolution de l'état d'équilibre acido-basique d'un sujet. Seul, il ne peut jamais expliquer un cas complexe. Il est nécessaire d'analyser les données obtenues lors de l'interrogatoire du malade, de l'examen clinique, la gazométrie artérielle et l'ionogramme sanguin afin de pouvoir amener les corrections adéquates aux différentes perturbations identifiées.

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1 L'équation de la droite d'équilibration normale du CO_2 est donnée par :

$$[HCO_3^-] = -TpH + B$$

1- Expliquer la signification de chaque terme ainsi que les étapes qui mènent à cette formulation.

2- Sachant que la droite normale d'équilibration de CO_2 coupe l'isobare 55 mm de Hg en un point d'abscisse $pH = 7,3$, calculer la pente de cette droite

On donne pour un sujet normal : $[CO_3H^-] = 24 \text{ mEq/l}$ et $pH = 7,4$.

Test 2

On prélève 10 ml de plasma de sang artériel dont on mesure le pH on le trouve égal à 7,4. En traitant ce sang par un excès d'acide fort, on a recueilli 8,4 ml de CO_2 (les conditions de température et de pressions étant telles qu'une mole occupe 25 litres).

1 - Quelles sont la concentration en bicarbonate et la pCO_2

2 -Ce sang vous paraît-il appartenir à un sujet normal ou pathologique dans ce cas, de quel trouble le malade est-il vraisemblablement atteint.

On donne : $pK \text{ } CO_2 = 6,1$; le coefficient α liant la concentration en CO_2 dissout (mm/l) à la pCO_2 (mm de Hg) sera pris égal à 3/100.

Test 3

I - Représenter sur le même diagramme de Davenport l'état des 2 sujets A et B :

1 - Sujet A : en acidose respiratoire pure

2 - Sujet B : en alcalose métabolique pure

II - Un sujet a un pH normal et une concentration $[\text{CO}_3\text{H}^-] > [\text{CO}_3\text{H}^-] \text{ N}$
Quelle est la nature de son trouble initial ?

Test 4 Chez un sujet on a trouvé un pH du sang artériel de 7,30 avec une $P_{\text{CO}_2} = 50 \text{ mm de Hg}$

1 - Calculer la concentration en bicarbonate en mEq/l

On donne : $\log 2 = 0,3$ et $a = 3 \cdot 10^{-2} \text{ mM l}^{-1} / \text{ mm de Hg}$.

2 - Placer le point représentatif de l'état du sujet sur le diagramme de DAVENPORT.

3 - De quel ordre de trouble le sujet est-il atteint.

Test 5 Un sujet en réanimation et sous respiration artificielle, étant dans un état d'équilibre acido-basique normal. La pompe de ventilation s'emballe (la ventilation augmente considérablement). Indiquer sur quelle ligne du diagramme de DAVENPORT se déplace le point représentatif de l'état du sujet pendant **les premières minutes** (donner une réponse qualitative).

Test 6 Un sujet a un pH = 7,30 et une $p\text{CO}_2 = 60 \text{ mm Hg}$. Sachant que la droite d'équilibration du CO_2 normal coupe l'isobare 60 mm de Hg en un point dont l'ordonnée est de 28,8 mM/l.

1 - Placer le point représentatif de ce sujet sur le diagramme de DAVENPORT.

2 - En déduire le trouble de l'équilibre acido-basique de ce sujet.

On donne : $pK(\text{H}_2\text{CO}_3) = 6,10 \text{ mM/l}$, $a = 3 \cdot 10^{-2} \text{ mM l}^{-1} / \text{ mm de Hg}$

$[\text{CO}_3\text{H}^-] = 24 \text{ mEq/l}$, $\log 2 = 0,3$, $\log 3 = 0,5$, $\log 4 = 0,6$ et $\log 5 = 0,7$.

Test 7 Chez un malade, on a trouvé un pH = 7,30 (sang artériel) et $[\text{CO}_3\text{H}^-]$ de 28,8 mEq/l.

1 - Calculer la $p\text{CO}_2$.

2 - Sachant que la droite d'équilibration du CO_2 a une pente de 48 millimoles/l par unité de pH, de quel trouble est-il atteint ce malade ? Pourquoi ?

On donne: $[\text{CO}_3\text{H}^-] \text{ N} = 24 \text{ mEq/l}$, $p\text{H N} = 7,40$ et $p\text{CO}_2 \text{ N} = 40 \text{ mm Hg}$

Test 8 Les résultats obtenus sur un échantillon de sang artériel d'un sujet normal sont les suivants :

pH = 7,40 , $[\text{CO}_3\text{H}^-] = 24 \text{ mEq/l}$ et $\text{pCO}_2 = 40 \text{ mm Hg}$

1- Calculer en utilisant ces résultats la concentration de ce sang artériel en CO_2 , à exprimer en môle de CO_2 / l .

2 - Un prélèvement chez un 2e sujet, pratiqué dans les mêmes conditions a donné les résultats suivants :

pH = 7,30 et $[\text{CO}_3\text{H}^-] = 32 \text{ mEq/l}$

a- calculer la pCO_2 à exprimer en mm Hg

b- placer le point représentatif de ce sujet sur le diagramme de DAVENP

c- quel est le trouble le plus probable dont ce sujet est atteint

d- calculer le volume de CO_2 total que peuvent dégager 10 ml de sang artériel, tel qu'une mole de CO_2 occupe un volume de 24 l.

On rappelle : $\text{pK} (\text{H}_2\text{COO}_3) = 6,1$, $\text{Log } 2 = 0,3$ $\text{log } 3 = 0,48$ et $\text{log } 5 = 0,7$

Test 9

Un sujet en insuffisance respiratoire présente dans le sang artériel :

- une $\text{PCO}_2 = 60 \text{ mm Hg}$

- un taux de bicarbonates plasmatiques à 27 mEq/l

1 - a- Calculer le pH de ce sujet

b- Placer le point correspondant sur un diagramme de Davenport

c- expliquer le trouble de l'équilibre acido-basique en cause.

2 - On perfuse à ce sujet une solution de bicarbonates, de sorte que la pCO_2 ne change pas, on obtient cette fois un taux de bicarbonates plasmatiques de 36 mEq/l . Répondre aux mêmes questions précédentes a, b et c.

3 - À partir des valeurs obtenues, représenter sur le graphique la droite d'équilibration normale et l'isobare de $PCO_2 = 60 \text{ mm Hg}$

Test 10

1 - Que représente la pente de la droite d'équilibration ?

2 - Comment varie cette pente :

a- dans le cas du plasma séparé des hématies ?

b- dans le cas d'une variation de la PCO_2 alvéolaire ?

Test 11 Deux sujets A et B mal réanimés ont subi une baisse de la pression partielle du CO_2 du sang artériel

-Le sujet B a par ailleurs, une forte anémie (baisse du nombre des globules rouges).

-On suppose qu'il n'y a pas d'intervention du rein pour régulariser l'équilibre acido-basique.

-1 - De quels troubles de l'équilibre acido-basique sont atteints ces 2 sujets.

-2 - Placer sur le diagramme de Davenport les points représentatifs des états des sujets A et B.

-3 - Comparer les pentes des droites d'équilibration de CO_2 chez les deux sujets.

CHAPITRE VIII : LES POTENTIELS D'ÉLECTRODES

I- POTENTIEL D'ÉLECTRODE.

I.1- MISE EN ÉVIDENCE.

I-1-1- EXPÉRIENCE.

On plonge une lame de zinc et une lame de cuivre dans un récipient contenant un mélange d'une solution de sulfate de zinc et de sulfate de cuivre. On constate que :

- * au cours du temps, la lame de zinc se recouvre d'un dépôt de cuivre rouge alors que la masse de la lame de zinc diminue.

I-1-2- EXPLICATION :

Le phénomène que nous venons de constater nous permet d'écrire :



Le cuivre passe donc de l'état ionique à l'état métallique en captant 2 électrons et le zinc passe de l'état métallique à l'état ionique en cédant 2 électrons.

Il y a un transfert de deux électrons du zinc vers le cuivre. Le cuivre et le zinc réagissent l'un sur l'autre parce qu'ils sont en contact direct. Pour cette réaction, on fait correspondre les équations :



Il est possible, en isolant Zn et Cu²⁺, par un dispositif approprié, de mettre en évidence ce transfert d'électrons sous la forme d'un courant électrique, pour cela, on met chaque couple d'oxydoréduction (Cu²⁺/Cu et Zn²⁺/Zn) dans un compartiment séparé. Le système qu'on obtient est connu sous le nom de : **Pile Daniell**.

I-2- THÉORIE DE NERNST.

I-2-1- POTENTIEL D'ÉLECTRODE. DÉFINITION.

NERNST admet que si plonge une électrode d'un métal

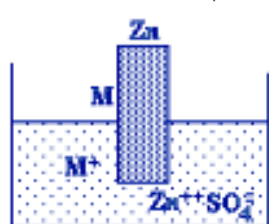


Fig 1

M dans une solution contenant des ions de ce métal M⁺ (Fig 1), on obtient une demi-pile, il s'établit entre le métal M et la solution qui contient M⁺, une **d.d.p** appelée par définition : **potentiel d'électrode**.

La valeur de ce potentiel dépend de la température du métal considéré et de la solution.

- * a/ Le métal tend à se dissoudre, c'est à dire



NERNST exprime cette tendance à la dissolution par une pression de dissolution P caractéristique du métal étudié.

- * b/ Si un atome du métal passe à l'état ionique, il laisse derrière lui un métal chargé. Si $\text{Zn} \rightarrow \text{Zn}^{2+}$ il laisse

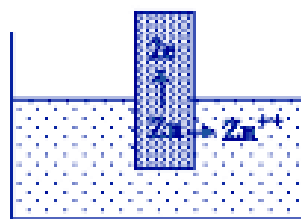


Fig 2

derrière lui une électrode de zinc chargée négativement (Fig 2) (charge négative de deux électrons). Ceci va donc engendrer une diminution du potentiel de l'électrode par rapport à la solution.

- * c/ Comme Zn²⁺ existe dans la solution, il est logique d'admettre et la thermodynamique permet de prévoir, un flux de Zn²⁺ de la solution vers l'électrode qui va dépendre, en général, directement de la concentration de la solution en M⁺. Les parois de l'électrode peuvent être assimilées à des membranes semi-perméables et donc le flux du métal de la solution vers l'électrode va dépendre de la pression osmotique de la solution.

De l'ensemble de ces phénomènes va résulter un équilibre (entre les énergies dues aux forces pressantes et l'énergie due aux forces électriques) qui donne naissance à un potentiel stable appelé **potentiel d'électrode**.

I-2-2- RELATION DE NERNST.

Essayons d'exprimer quantitativement l'ensemble des phénomènes vus ci-dessus.

- * **Travail des forces dues aux pressions.**

$$W_1 = R.T.\text{Log}\frac{C}{M} = R.T.\text{Log}[M^+] \quad \text{pour } M^+ \rightarrow M$$

$$W_2 = -R.T.\text{Log}P \quad \text{pour } M \rightarrow M^+$$

- * **Travail des forces électriques.**

$$W_3 = q.E = z.F.E_M$$

avec EM = d.d.p : E_{électrode} – E_{solution}

E est le potentiel d'électrode (à ne pas confondre avec un champ électrique) ; z.F est la quantité d'électricité transportée par une mole d'ions du métal M de valence z.

À l'équilibre, on a l'égalité entre les travaux des forces dues à la pression et le travail des forces électriques soit:

$$W_1 + W_2 = W_3$$

$$R.T.(\text{Log}[M^+] - \text{Log}P) = z.F.E_M$$

Ce qui nous donne :

$$E_M = \frac{-R.T.}{z.F} \cdot \text{Log}P + \frac{R.T.}{z.F} \text{Log}[M^+]$$

Le potentiel d'électrode est donc la somme de deux termes :

- * Un terme qui dépend de l'électrode :

$$\frac{-R.T.}{z.F} \cdot \text{Log}P$$

- * Un terme qui dépend de la solution :

$$\frac{R.T.}{z.F} \cdot \text{Log}[M^+]$$

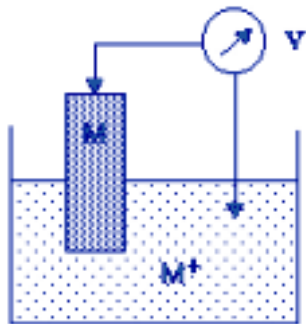
Si $[M^+] = 1$, la solution est **normale**, le terme $\frac{R.T}{z.F} \text{Log}[M^+]$ = 0 et $E_M = \frac{-R.T}{z.F} \text{Log}P$; ce terme est

noté E_0 , c'est le **potentiel normal** de l'électrode M, il dépend du métal considéré et de la température ; et le **potentiel de l'électrode** s'écrit :

$$E_M = E_0 + \frac{R.T}{z.F} \text{Log}[M^+] : \text{c'est la relation de NERNST.}$$

Remarques :

- * Si la solution est très diluée, l'activité peut être confondue avec la concentration molaire C.
- * Si on veut mesurer $EM = E_{\text{électrode}} - E_{\text{solution}}$; on doit introduire une électrode dans la solution, ce qui va créer un



autre potentiel d'électrode (Fig 3)

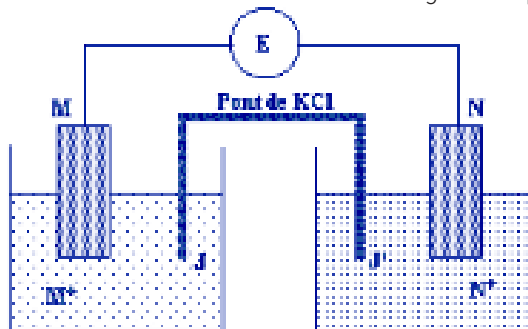
Fig 3

L'ensemble : électrode + solution constitue une demi-pile de concentration ; et le potentiel de **NERNST** que nous venons d'étudier n'est pas directement mesurable. Pour mesurer le potentiel d'une électrode M, nous devons le comparer à celui d'une électrode que nous prendrons comme **référence**, pour laquelle le potentiel sera pris égal zéro.

II- LES PILES - POTENTIELS NORMAUX D'ÉLECTRODES.

II-1- POTENTIEL MESURÉ ENTRE DEUX ÉLECTRODES.

Soit deux solutions contenant les ions métalliques M^+ et N^+ dans lesquelles plongent deux électrodes M et N. Les deux solutions sont montées en série grâce à pont de



KCl, appelé pont de jonction JJ' (Fig 4).

Fig 4

La différence de potentiel entre les deux électrodes est $E = V_M - V_N$; ajoutons et retranchons au deuxième

membre $E = (V_M - V_{M'}) + (V_{M'} - V_{N'}) + (V_{N'} - V_N)$ gé, on

obtient : $\xrightarrow{\text{I}} \xrightarrow{\text{II}} \xrightarrow{\text{III}}$

- * Le terme I n'est autre que le potentiel de l'électrode M : E_M .
- * Le terme III représente le potentiel de l'électrode N changé de signe soit $-E_N$.
- * Le terme II est le potentiel de jonction $V_{JJ'}$, c'est la d.d.p. entre les deux solutions qui est égale à la d.d.p. entre les extrémités du pont de jonction de KCl.

Le potentiel de l'électrode est donc difficile à connaître. Pour y arriver, la solution est double :

- * **Supprimer** expérimentalement le potentiel de jonction ou le rendre négligeable.
- * **Choisir** pour E_N un métal et définir, par **convention**, son potentiel comme étant un potentiel de **référence**.

II-2- POTENTIEL DE JONCTION.

Les solutions contenant M^+ et N^+ vont diffuser l'une vers l'autre par l'intermédiaire d'un pont AB (A^+B^-), or les deux ions A^+ et B^- , de nature différente, ont des mobilités μ^+ et μ^- différentes. Ils ne diffusent donc pas à la même vitesse ; ce qui va engendrer une **d.d.p** entre les deux extrémités du pont : c'est le **potentiel de jonction** $V_{JJ'}$; on montre que :

$$V_{JJ'} = \frac{\mu_+ - \mu_-}{\mu_+ + \mu_-} \text{Log} \frac{[N^+]}{[M^+]}$$

Pour réduire $V_{JJ'}$, il suffit donc de trouver un électrolyte fort, donc riche en porteurs de charges et dont les mobilités des ions sont équivalentes $\mu^+ \cong \mu^-$. Aussi, le potentiel de jonction sera pratiquement nul. On prend habituellement (K^+Cl^-) ou ($NH_4^+NO_3^-$). De plus, pour éviter la diffusion de ces électrolytes, on met un gel d'agar-agar dans le pont. Ainsi, la d.d.p E entre les électrodes M et N s'écrit :

$$E = E_M - E_N = E_{0,M} + \frac{R.T}{z_M.F} \text{Log}[M^+] - E_{0,N} - \frac{R.T}{z_N.F} \text{Log}[N^+]$$

II-3- PILE DE CONCENTRATION.

Considérons l'expérience illustrée par la figure 5 ; la liaison électrique entre les deux solutions est réalisée par un pont de KCl qui est un excellent conducteur et perturbant très peu les potentiels mesurés.

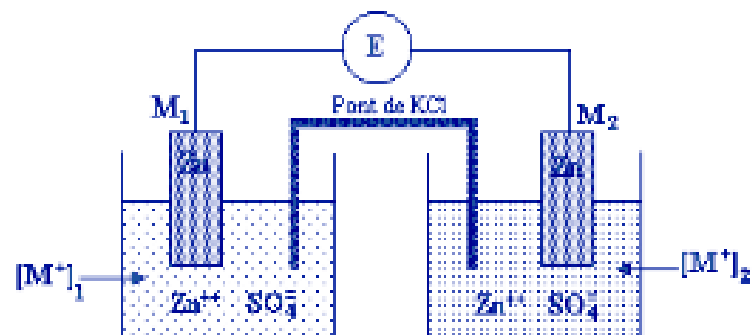


Fig 5 : Pile de concentration

La d.d.p entre les électrodes M_1 et M_2 est :

$$E = E_{M1} - E_{M2} = (E_{M1} - E_{S1}) + (E_{S1} - E_{S2}) + (E_{S2} - E_{M2}) =$$

$$E = \left[E_{M1} + \frac{R.T}{z.F} \cdot \text{Log}[M^+] \right] - \left[E_{M2} + \frac{R.T}{z.F} \cdot \text{Log}[M^+] \right]$$

d'où :

$$E = E_{M1} - E_{M2} = \frac{R.T}{z.F} \cdot \text{Log} \frac{[M^+]_1}{[M^+]_2}$$

Nous avons réalisé une pile de concentration pour laquelle, la valeur et le signe de la d.d.p dépendent du rapport des concentrations de l'ion métallique dans les deux compartiments.

II-4- POTENTIEL DE RÉFÉRENCE - POTENTIEL NORMAL D'ÉLECTRODE.

Considérons une pile de concentration (M, N) ; le potentiel d'électrode est pour des solutions de concentrations quelconques :

$$E = E_{M1} - E_{M2} = E_{M1} + \frac{R.T}{z_1.F} \cdot \text{Log}[M^+] - E_{M2} - \frac{R.T}{z_2.F} \cdot \text{Log}[N^+]$$

$$E = E_{M1} - E_{M2} + \frac{R.T}{z.F} (\text{Log}[M^+] - \text{Log}[N^+])$$

Dans cette relation E , $[M^+]$ et $[N^+]$ sont accessibles à la mesure. On peut donc calculer $E_{OM} - E_{ON}$; mais on ne pourrait jamais connaître E_{OM} ou E_{ON} individuellement. Il faut donc définir une référence.

Par convention : on prend le potentiel normal d'hydrogène comme potentiel nul, quelle que soit la température.

DÉFINITION DU POTENTIEL NORMAL D'UNE ÉLECTRODE M :

Le potentiel normal d'une électrode **M** est par définition la force électromotrice de la pile où on met en série :

- * L'électrode **M** plongeant dans une solution contenant M^+ d'activité égale à l'unité $[M^+] = 1$ appelée électrode normale.
- * Une électrode normale à Hydrogène.

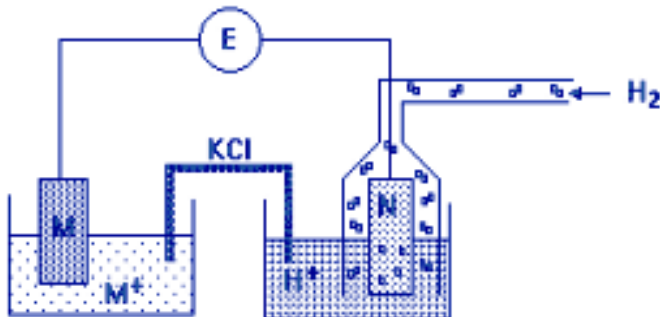


Fig 6 : Électrode de métal opposée à une électrode à Hydrogène

Une telle pile représentée par



Ainsi, pour mesurer le potentiel normal E_0 d'un métal **M**,

on l'oppose à une électrode normale à hydrogène (Fig 6).

N est une électrode non soluble. On peut choisir une électrode de carbone par exemple.

III-LES DIVERS TYPES D'ÉLECTRODES.

Pour étudier le potentiel d'une solution par rapport à une autre, comme par exemple les potentiels biologiques qui existent de part et d'autre d'une membrane cellulaire, il faut utiliser des électrodes qui ne perturbent pas le milieu et qui ont surtout un potentiel connu et bien défini, parce qu'elles se mettent en équilibre avec la solution. Il existe trois types d'électrodes :

- * Électrode du premier genre.
- * Électrode du deuxième genre.
- * Électrode du troisième genre.

Nous présentons dans le cadre de ce cours, les 2 premiers

III-1- LES ÉLECTRODES DU PREMIER GENRE : ÉLECTRODES À CATIONS.

Elles sont constituées par un élément au contact avec son ion en solution.

Exemples :

- * Une électrode d'Argent plongeant dans une solution d' $Ag^+NO_3^-$

Une électrode d'Hydrogène plongeant dans une solution contenant H^+ . Le potentiel de l'électrode du premier genre est donné par la relation de NERNST. Pour l'électrode d'Hydrogène par exemple :

$$E_H = E_{H0} + \frac{R.T}{z.F} \cdot \text{Log}[H^+]$$

pour l'hydrogène, $E_0 = 0$ et $z=1$

$$E_H = \frac{R.T}{F} \cdot \text{Log}[H^+] = \frac{R.T}{F} \cdot 2,3 \log[H^+] = \frac{R.T}{F} \cdot 2,3 \cdot pH$$

ou

$$E_H = -k \cdot pH$$

C'est l'une des méthodes proposées pour mesurer le **pH** d'une solution.

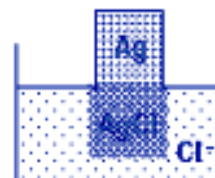
III-2- LES ÉLECTRODES DU DEUXIÈME GENRE : ÉLECTRODES À ANIONS.

Ces électrodes sont formées par un métal au contact d'une solution contenant :

- * un sel peu soluble et saturé de ce métal.
 - * un électrolyte à anion commun.
- Deux électrodes sont d'utilisation courante.
- * L'électrode au chlorure d'argent : $Ag / AgCl / KCl$.
 - * L'électrode au calomel : $Hg / Hg_2Cl_2 / KCl$.

Étudions le premier de ces deux exemples (Fig 7).

Fig 7 : Électrode du deuxième genre $Ag / AgCl / Cl^-$



Le problème revient à une électrode du premier genre :

$$E_{Ag} = E_{Ag^+} + \frac{R.T}{F} \cdot \text{Log}[Ag^+]; \text{ pour Ag, } z=1$$

Mais AgCl étant peu soluble $AgCl \rightleftharpoons Ag^+ + Cl^-$

Cet équilibre est caractérisé par un produit de solubilité :

$$K_s = [Ag^+].[Cl^-] \text{ d'où } [Ag^+] = K_s / [Cl^-]$$

$$E_{Ag} = E_{Ag^+} + \frac{R.T}{F} \cdot \text{Log}K_s - \frac{R.T}{F} \cdot \text{Log}[Cl^-]$$

On pose :

$$E'_{Ag} = E_{Ag^+} + \frac{R.T}{F} \cdot \text{Log}K_s$$

Soit :

$$E_{Ag} = E'_{Ag} - \frac{R.T}{F} \cdot \text{Log}[Cl^-]$$

Le potentiel de l'électrode au chlorure d'Argent ne dépend

que de la concentration en Cl^- ou plus exactement de l'activité en Cl^- .

Il suffit d'utiliser une solution de KCl concentrée donc $[Cl^-]$ sera constant et les potentiels de jonction seront de plus très faibles.

DEUXIÈME PARTIE

LES SOLUTIONS MACROMOLÉCULAIRES

CHAPITRE IX : PHYSICO-CHIMIE DES MACROMOLÉCULES

A) INTRODUCTION A LA PHYSICO-CHIMIE DES MACROMOLÉCULES

«Les molécules» **réellement caractéristiques des êtres vivants** sont des molécules de très grande taille auxquelles on donne le nom de **macromolécules**. Elles peuvent être divisées en plusieurs groupes : les protéines, les acides nucléiques, les polysaccharides.... Parmi ces macromolécules nous nous intéresserons plus particulièrement aux **protéines** dont la structure est actuellement la mieux connue. Néanmoins, de nombreuses propriétés de ces molécules appartiennent aux autres groupes de macromolécules biologiques.

I-LE CONCEPT DE MACROMOLÉCULE

On qualifie de **macromolécule** les composés de masse molaire **M supérieure à 10.000 g/mol** dans lesquels la nature des liaisons de covalence s'étend à l'ensemble de la structure tridimensionnelle, ce qui n'exclut pas la mise en jeu d'autres formes de liaisons en différents points de cette structure. **La limite de 10.000 est donnée pour fixer les idées** ; elle est quelque peu arbitraire.

I.1- MASSE ET DIMENSIONS DES MACROMOLÉCULES

Tableau 1

Molécule	Forme approximative	Diamètre ou grands axes $\times 10^9 \text{m}$	Masse molaire (g)
Hydrogène		0,1	2
Eau		0,2	18
Insuline		3	6 000
Hémoglobine humaine	Ellipsoïde	5,5 \rightarrow 6,5	67 000
Sérum albumine humaine	Ellipsoïde	4 \rightarrow 15	69 000
Hémocyanine de limulus	Sphère	16	544 00
Fibrinogène de bœuf	Bâtonnet	4 \rightarrow 70	580 000

La **grande masse** et les **grandes dimensions** constituent les **différences** les plus évidentes entre les **macromolécules** et les **molécules ordinaires**.

Le **tableau 1** indique la masse molaire, la forme et les

dimensions de quelques molécules protéiques ainsi que la taille des petites molécules. À titre de comparaison, on voit que la molécule d'hémocyanine qui sert au transport de l'Oxygène dans le milieu intérieur de l'invertébré limulus a un diamètre 80 fois plus grand et un volume 512.000 fois plus grand que celui de la molécule d'eau.

Le **tableau 1** montre également les deux principales variétés de formes des molécules protéiques ; protéines globulaires sphériques ou ellipsoïdales (hémoglobine, sérumalbumine) et protéines fibreuses très allongées (fibrinogène).

La molécule de sérumalbumine humaine de masse molaire égale à 69.000g est faite de la réunion de 781 acides aminés appartenant à 18 types différents. Elle contient 15.670 atomes assemblés selon une structure très précise, alors qu'une molécule d'eau contient seulement trois atomes. (Si l'on nous permet cette comparaison, il y a la même différence entre les molécules de sérumalbumine et les molécules d'eau qu'entre une ville et un hameau de quelques maisons).

I.2- PROPRIÉTÉS RAPPROCHANT LES MACROMOLÉCULES DES SOLIDES MACROSCOPIQUES

Une petite molécule ne peut pas être comparée à un objet macroscopique. La position des noyaux des atomes qui constituent la molécule est bien définie ; il n'en est pas de même pour les électrons moléculaires qu'on ne peut localiser en telle ou telle région de l'espace. Ce qu'on appelle dimensions de la molécule correspond aux dimensions du domaine de localisation des électrons ; c'est-à-dire de la région de l'espace périmoléculaire où l'on a, par exemple, 99 chances sur 100 de rencontrer l'ensemble des électrons moléculaires. Les limites de la molécule sont très floues ; c'est pourquoi on parle de nuage, d'atmosphère électronique ; bien qu'aucune comparaison empruntée à notre expérience quotidienne ne soit véritablement applicable.

Au contraire, une macromolécule ressemble beaucoup plus à un objet macroscopique. Les restrictions de la mécanique quantique sont également applicables aux macromolécules ; mais le flou des limites moléculaires est en valeur relative beaucoup plus négligeable que pour les petites molécules. On peut parler de la forme d'une macromolécule.

Remarque : Bien que leur masse molaire est très élevée, les macromolécules sont extrêmement petites à notre échelle. Elles ne sont pas visibles, par exemple, au microscope ordinaire.

En effet dans le cas d'une macromolécule de masse molaire 100 000 g/mol c'est à dire 100 Kg/mol, la masse d'une molécule est égale à

$$m = \frac{10^5}{6.10^{23}} = 1,66.10^{-19} \text{ g}$$

m est très petite à notre échelle.

II- MESURE DE LA MASSE MOLAIRE DES MACROMOLÉCULES

Plusieurs méthodes permettent la mesure de la masse molaire des macromolécules

II- 1- LA PRESSION OSMOTIQUE

$$\begin{aligned} &= R.T.\text{osmolarité} \quad \text{avec : osmolarité} = \frac{c}{M} \cdot i \\ &= R.T. \cdot \frac{c}{M} \cdot i \rightarrow M = R.T. \cdot \frac{c}{\Pi} \cdot i \end{aligned}$$

La connaissance du

- du produit **R.T**,
- de la concentration massique **c**,
- du coefficient d'ionisation **i**

et la mesure de la pression osmotique conduisent à la valeur de la masse molaire **M** de la macromolécule.

II- 2- LA DIFFUSION DE LA LUMIÈRE

La méthode de mesure consiste à éclairer une solution macromoléculaire par une lumière monochromatique donnée d'intensité I_0 et de mesurer I_{90} : l'intensité de la lumière diffusée à 90°

$$I_{90} = K \cdot I_0 \cdot M \cdot c \quad \text{ou :} \quad M = \frac{I_{90}}{I_0} \cdot \frac{1}{K \cdot c}$$

La connaissance de

- l'intensité de la lumière incidente I_0 , de
- la constante de proportionnalité **K**, de
- la concentration massique **c**

et la mesure de I_{90}

conduisent à la détermination de la valeur de la masse molaire **M** de la macromolécule.

Remarque : La détermination de la masse molaire par cette méthode n'est pas précise, car, cette expression n'est valable que pour les petites macromolécules grossièrement sphériques dont la taille est $\leq 20\text{nm}$. Pour les micromolécules de taille plus importante, il faut faire intervenir dans l'expression de la masse molaire un facteur de correction **P** calculé par Debye pour chaque type de molécule

II- 3- LA CENTRIFUGATION

La méthode de mesure consiste à placer la solution macromoléculaire dans une centrifugeuse et de la faire sédimenter sous l'action d'un champ de forces dont l'accélération **a** est de l'ordre de $10^5 \cdot g$

$$M = \frac{s \cdot N \cdot \Phi}{1 - \frac{\rho_0}{\rho}}$$

La connaissance de

- du nombre d'**Avogadro N**,
- du coefficient de friction **Φ**, qui est égal à : $\{\Phi = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \text{ lorsque la molécule est sphérique de rayon } r \text{ et de volume } V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3\}$,
- des masses volumiques ρ_0 du solvant et ρ de la macro-

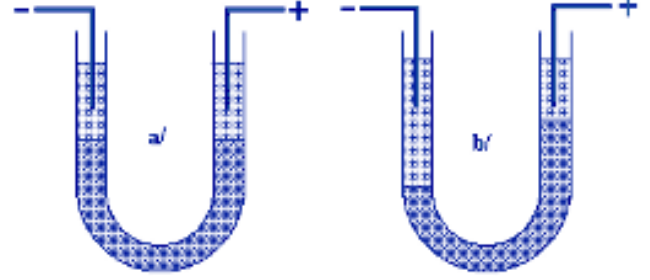
molécule, et la mesure de la constante de sédimentation **s**, conduisent à la détermination de valeur de la masse molaire **M** de la macromolécule.

B) PHÉNOMÈNES ÉLECTROKINÉTIQUES

I- EXISTENCE D'UNE CHARGE ÉLECTRIQUE SUR LES PARTICULES COLLOÏDALES - ÉLECTROPHORE

Les particules d'une solution colloïdales possèdent une charge électrique : ceci est une règle si le solvant est l'eau.

La preuve de l'existence de cette charge réside dans le phénomène d'**électrophorèse** : lorsque les particules sont



soumises à un champ électrique, elles se déplacent (Fig 1).

Fig 1

Le fond du tube est rempli d'une solution colloïdale ; au-dessus se trouve le milieu dispersant : une solution électrolytique. Si on établit une d.d.p entre les deux électrodes, on constate qu'au bout d'un certain temps les frontières de la solution colloïdale se sont déplacées.

La vitesse de déplacement est du même ordre de grandeur que celle des petits ions dans une électrolyse : et on définit une mobilité électrophorétique u_p par le rapport :

$$u_p = \frac{v}{E}$$

v étant la vitesse de migration ; **E**, le champ électrique . u_p est donc la vitesse de migration dans un champ électrique unité.

I-1- ORIGINE DE LA CHARGE DES PARTICULES

Deux origines sont possibles et vraies :

- * Adsorption d'ions sur les particules.
- * Ionisation des groupes ionisables à la surface des particules.

I-2- AUTRE PHÉNOMÈNE ÉLECTROKINÉTIQUE : L'ÉLECTRO-OSMOSE

Une macromolécule placée dans un champ électrique **se déplace** ; si elle est **épinglée**, elle reste immobile et **c'est**

le liquide qui se déplace. Ceci est illustré par la figure 2.

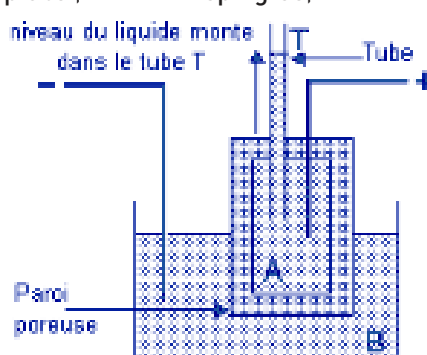


Fig 2 : Mise en évidence du phénomène

À et B sont deux récipients qui contiennent le même liquide (une solution électrolytique), sont séparés par une **paroi poreuse** tout à fait **perméable à la solution**. On établit une d.d.p entre les électrodes et on constate que **le liquide se déplace d'un récipient à un autre** d'où une variation du niveau du liquide dans le tube T. Le sens du déplacement dépend de la nature de la paroi. Tout se passe comme si le liquide avait une charge électrique. L'explication de ce phénomène est la suivante :

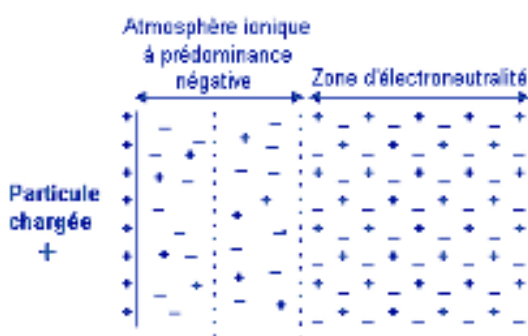
Des ions positifs de la solution s'adsorbent à la surface des pores, laissant un liquide chargé négativement (car l'ensemble est électriquement neutre) qui va se déplacer dans le sens contraire du champ électrique. Les molécules de la paroi étant épinglées (ne pouvant pas se déplacer) restent immobiles et c'est le liquide qui se déplace : c'est **l'électro-osmose**.

II- NOTION DE POTENTIEL ÉLECTROKINÉTIQUE

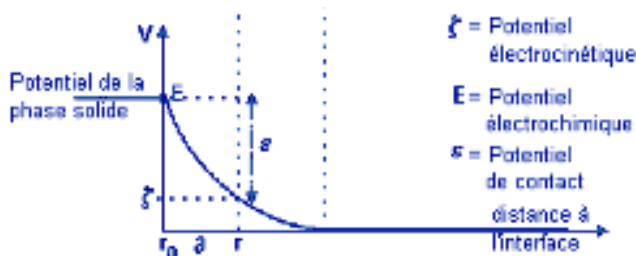
II-1- RÉPARTITION DES IONS D'UNE SOLUTION AUTOUR D'UNE PARTICULE COLLOÏDALE

Soit une particule colloïdale, placée dans une solution contenant des ions, que nous assimilons à une sphère portant, par exemple, une charge positive (par adsorption ou par dissociation). Deux théories sont envisageables :

- La théorie de HELMHOLTZ conçoit que les ions négatifs de la solution viennent se disposer, régulièrement en face des charges positives constituant ce qu'on appelle une **double-couche**
- Pour GOUY, la conception de HELMHOLTZ ne tient pas compte de **l'agitation thermique** qui perturbe en permanence l'ordonnance de la double-couche. En fait, au voisinage de la paroi positive, il existe (Fig 3a) un nuage ionique où prédominent les ions négatifs ; et le potentiel varie comme le montre la figure 3b. Le potentiel électrochimique étant inchangé, et le potentiel tend



asymptotiquement vers 0 qui est la valeur du potentiel



de la phase liquide.

Fig 3a

Fig 3b

Fig 3 : Atmosphère ionique autour d'une particule
II-2- POTENTIEL ÉLECTROKINÉTIQUE

Si les deux phases (particules et solvant) sont en mouvement relatif l'une par rapport à l'autre (ce qui se produit dans l'électrophorèse), les forces de viscosité interviennent et un gradient de vitesse apparaît.

La particule est entourée d'une coque d'eau adhérente d'épaisseur δ qui se déplace avec elle (Fig 4b). Elle emprisonne un certain nombre de contre ions. Au lieu d'avoir une particule de rayon r_0 , on a un rayon $r > r_0$ et la mobilité de la particule est commandée par le potentiel qui existe entre r et un point éloigné où il y a électroneutralité.

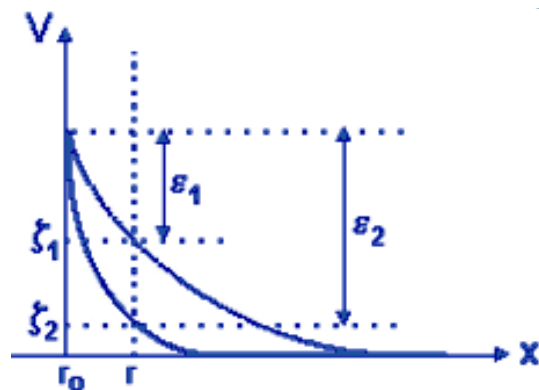
La valeur du potentiel existant à cette distance $r > r_0$ est le **potentiel électrocinétique ζ (zéta)**. La différence entre le potentiel électrochimique et le potentiel électrocinétique est le **potentiel de contact**.

- Une particule en mouvement a une mobilité u proportionnelle au potentiel électrocinétique.

$$u = \frac{\epsilon}{6 \cdot \pi \cdot \eta} \cdot \zeta$$

où ϵ et η sont respectivement la permittivité et la viscosité du milieu.

- Le potentiel électrocinétique dépend de la force ionique μ du milieu



$$\mu = \frac{1}{2} \cdot \sum C_i$$

Fig 5

ζ_1 et s_1 sont les potentiels électrocinétique et de contact pour un composé monovalent

ζ_2 et s_2 sont les potentiels électrocinétique et de contact pour un composé bivalent

- * Plus cette force ionique est grande, plus la distance où il y a électroneutralité est faible.
- * Pour deux solutés de même valence, plus la concentration est grande, plus la force ionique est grande.
- * À même concentration, un ion bivalent a une force ionique plus grande qu'un ion monovalent.

L'augmentation de la force ionique du milieu entraîne une diminution du potentiel électrocinétique ; tout se passe comme si la charge de la particule diminuait. La figure 5 montre les valeurs prises par le potentiel électrocinétique ζ pour un composé monovalent et pour un composé bivalent.

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1 Décrire une expérience qui met en évidence l'existence d'une charge portée par une macromolécule.

Test 2. Décrire une expérience qui met en évidence le phénomène d'électro-osmose.

Test 3.

1/ Tracer la courbe de variation du potentiel à une distance x d'une macromolécule lorsque celle-ci se trouve dans un milieu contenant un soluté monovalent de concentration C .

2/ Tracer sur le même graphe, la courbe de variation du potentiel à une distance x d'une macromolécule lorsque celle-ci se trouve dans un milieu contenant un soluté bivalent de même concentration C .

3/ Comparer les potentiels électrocinétiques et les potentiels de contact pour les deux courbes obtenues.

C) LA FLOCCULATION – LA SOLUBILITÉ DES PROTÉINES

I- INTRODUCTION.

Pour étudier la solubilité d'une protéine, il faut l'isoler du milieu où elle se trouve, car elle est mélangée à d'autres protéines. Elle se trouve soit dans les tissus, soit en solution.

Si le problème est relativement simple dans le cas des protéines plasmatiques qui se trouvent déjà sous forme de solutions colloïdales, il n'en est pas de même dans le cas des protéines « intra-tissulaires ». En effet, pour isoler une macromolécule, telle que la **thyroglobuline** par exemple (présente dans les vésicules thyroïdiennes), un ensemble d'opérations complexes est nécessaire.

- * Fractionnement du fragment en lamelles de 1 mm d'épaisseur.
- * Immersion pendant 24 heures dans une solution de NaCl 0,15M à 4°C tamponnée à pH = 7.

Dans ces conditions un certain nombre de protéines passent dans la solution et en premier lieu la thyroglobuline ; mais il en est malheureusement de même pour d'autres protéines telles que la sérulalbumine humaine, les globulines et l'hémoglobine provenant du sang que renfermait le fragment thyroïdien. Si bien qu'on est amené à réaliser une **floculation sélective** de la thyroglobuline pour la séparer des autres protéines extraites.

II- ÉNERGIE POTENTIELLE DE PARTICULES COLLOÏDALES.

La stabilité des colloïdes dépend de deux types de forces antagonistes, les unes attractives : les forces de surface, les autres répulsives d'origine électrostatique, car les particules sont chargées.

Il est à remarquer que la charge qu'il faut attribuer à la particule est la charge cinétique, puisque les particules sont en mouvement par rapport au solvant. La loi de la répulsion est une loi en $\frac{1}{r^2}$.

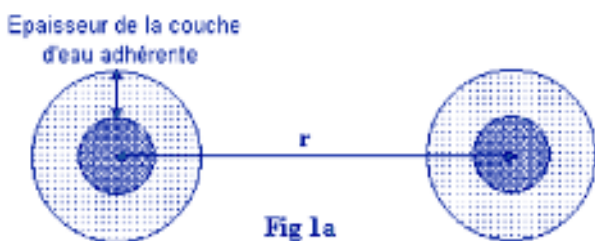


Fig 1a

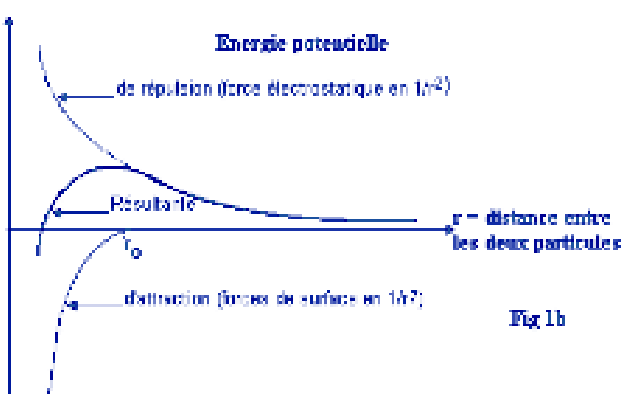


Fig 1b

Le rayon d'action de cette force est grand, mais la décroissance est relativement lente quand r diminue.

Remarque : Les phénomènes de surface (thème VIII) jouent un rôle considérable. Cette importance est liée à l'extrême division de la matière vivante. En effet, lorsque les particules colloïdales sont dispersées, leur surface est très importante. Si ces particules se rassemblent, leur surface diminue. L'énergie de surface d'une solution colloïdale est donc considérable.

Les forces de surface tendent à diminuer l'interface solide-liquide et favorisent la coalescence : elles correspondent donc à une attraction. Ces forces de surface varient comme l'inverse d'une puissance 7 de la distance mutuelle r des deux particules. Leur rayon d'action est donc court, mais pour des distances faibles, elles deviennent considérables.

Le bilan de ces forces opposées est le suivant : à grande distance, la répulsion l'emporte, à courte distance l'attraction est plus forte. Ceci apparaît mieux (Fig1) si l'on trace la courbe d'énergie potentielle résultante.

Si la distance entre deux particules est inférieure à une certaine distance r_0 , l'attraction l'emporte et il y a **floculation** ; et si cette distance est supérieure à r_0 la répulsion l'emporte et les **particules restent en solution**.

Pour faire flocculer une solution colloïdale (Fig 2), il faut pouvoir **rapprocher** ses particules les unes des autres. Il faut donc les **décharger** et les **déshydrater** (enlever la couche d'eau adhérente). Ce qui revient à augmenter les forces de surface et diminuer les forces répulsives en diminuant la charge des particules.

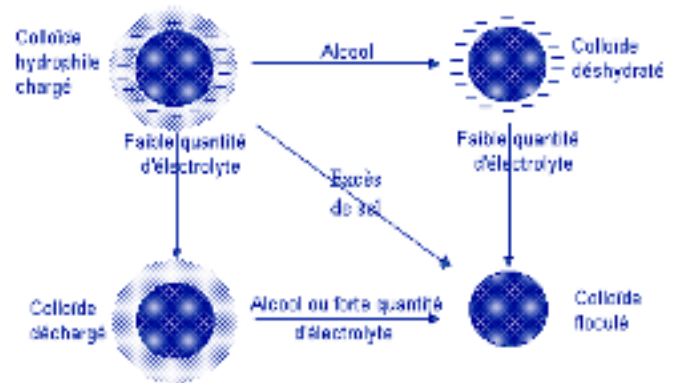


Fig 2

III- DÉFINITIONS

III- 1- LA FLOCCULATION.

C'est un phénomène de **précipitation lent** et **progressif** caractérisé par l'**agglutination des micelles** protéiques en particules de plus en plus grosses qui finalement donnent naissance à de véritables **flocons** visibles à l'œil nu, qui **sédimentent**.

Ce phénomène peut se produire sous l'action de divers facteurs (modification du pH, de la force ionique, action des solvants polaires...)

III-2- LA SOLUBILITÉ D'UNE PROTÉINE DANS UN SOLVANT DONNÉ.

Soit **S** la masse maximale en grammes de protéine qu'il est possible de dissoudre dans un litre de solvant ; elle représente donc la concentration à saturation exprimée en g/litre.

Soit S_0 la concentration à saturation exprimée en g.l-1 dans l'eau pure. On compare généralement la solubilité dans un solvant donné à la solubilité dans l'eau par le logarithme décimal de leur rapport ;

soit : $\text{Log} \frac{S}{S_0}$

IV- FACTEURS CONDITIONNANT LA SOLUBILITÉ D'UNE PROTÉINE.

Certains facteurs agissent sur la solubilité des protéines en modifiant :

- * La **charge** de la molécule protéique.
- * L'**hydratation** de la molécule protéique.
- * Ou la **structure** de la molécule protéique.

IV-1- ACTION SUR LA CHARGE.

IV-1-1- Influence du pH

Nous avons vu qu'aux pH biologiques, la plupart des molécules protéiques en solution portent une charge négative. Il existe donc entre elles des forces de répulsion électrostatiques interdisant l'approche entre deux molécules à une distance inférieure à une distance minimale r_0 en dépit de l'agitation moléculaire (Fig 1). D'autre part, elles sont attirées les unes vers les autres par des forces de surface ; la figure 1b indique l'énergie potentielle de chaque type de forces ainsi que l'énergie potentielle résultante.

La charge qui intervient en fait dans cette répulsion électrostatique est la charge apparente, c'est-à-dire la charge réelle diminuée de la charge de la couche adhérente.

Plus la charge apparente sera petite, plus la protéine aura tendance à floculer. On pourra jouer sur cette charge apparente en faisant varier le **pH** (Fig 3) et la force ionique μ .

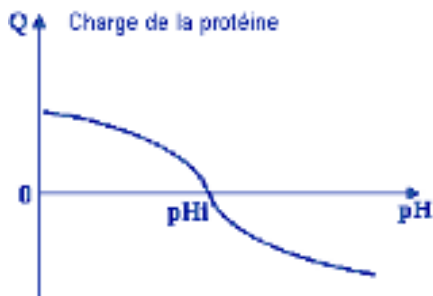


Fig 3

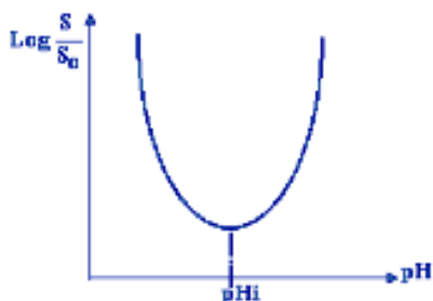


Fig 4

En dehors des pH très acides ou très basiques pour lesquels les protéines sont dénaturées, on peut tracer

$\text{Log} \frac{S}{S_0}$ pour différents pH (Fig 4).

On remarque que :

* La solubilité est minimale pour $\text{pH} = \text{pHi}$.

* Dans le cas d'un mélange de protéines, les différences entre les pHi peuvent être suffisantes pour qu'en modifiant le pH de la solution, on puisse obtenir une floculation **sélective** (lorsque le pH de la solution est égal au pHi d'une protéine) de telle ou telle protéine du mélange en vue de sa séparation.

IV-1-2- Influence de la force ionique.

On définit la force ionique μ par la relation :

$$\mu = \frac{1}{2} \sum C_i z_i^2$$

C_i étant la concentration molaire de l'ion i et z_i sa valence.

La figure 5 donne une représentation de la variation de la solubilité en fonction de la force ionique μ .

On remarquera que pour $\mu = 0$;

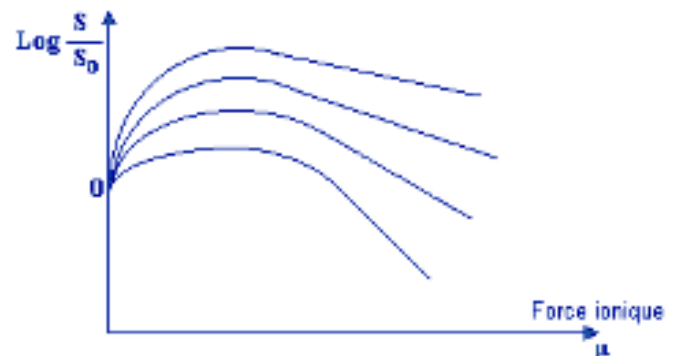
$$S = S_0 \rightarrow \text{Log} \frac{S}{S_0} = 0 ;$$

toutes les courbes passent par le même point.

On distinguera deux parties sur l'ensemble des courbes :

- * Une partie où la **solubilité de la protéine augmente** lorsque la force ionique augmente : et ceci pour **les faibles valeurs de forces ioniques**.
- * Une partie où la **solubilité de la protéine diminue** lorsque la force ionique augmente ; ceci est obtenu pour **les valeurs élevées des forces ioniques**.

Fig 5



IV-1-2-1- Effets des faibles forces ioniques

« Effet salting in »

Dans l'eau pure, les protéines sont faiblement solubles et l'adjonction d'ions à faible concentration augmente leur solubilité. C'est l'effet «salting in» des Anglo-Saxons.

Mécanismes :

Quand une protéine est mise en solution dans l'eau pure, le pH de la solution devient proche du pHi de la protéine ; donc la charge de la molécule est faible. De plus, il n'y a pas d'atmosphère ionique à proprement parler autour de la molécule (il existe une couche adhérente de molécules d'eau, il n'y a pas de couche d'hydratation diffuse). Au contraire, quand on ajoute des ions à faible concentration, on voit se former une couche adhérente et une couche diffuse : la distance minimale d'approche entre deux molécules est plus grande donc la solubilité est meilleure.

IV-1-2-2- Effet flocculant des forces ioniques élevées

«Effet salting out»

Quand la force ionique μ augmente, $\text{Log} \frac{S}{S_0}$ diminue en raison :

- * D'une diminution de l'épaisseur de l'atmosphère io-

nique.

- * D'une attraction des molécules d'eau liées à la molécule par les ions minéraux présents dans la solution ; ce qui entraîne une déshydratation.

La floculation par action de sels neutres est appelée relargage ou effet «salting out». Elle suit une **loi linéaire**.

$$\log \frac{S}{S_0} = -K.m + B$$

avec **K** = constante de relargage : c'est la pente de la droite ; il dépend de la nature de la protéine. K ne dépend ni du pH ni de la température.

IV-2- ACTION DE L'HYDRATATION.

Envisageons une molécule protéique en solution et une molécule du solvant (eau) à son contact.

Fig 6 a

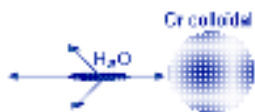


Fig 6b



La molécule d'eau est liée à la molécule protéique par des forces de VAN DER WAALS de type **dipôle-ion**, mais elle est aussi liée aux autres molécules d'eau par des forces de VAN DER WAALS de type **dipôle-dipôle**.

Dans le cas des **colloïdes hygrophiles** (protéines solubles) : Les forces d'attraction ion-dipôle sont plus importantes que les forces d'attraction dipôle-dipôle (Fig 6b) entre les molécules d'eau. La résultante des forces exercées sur une molécule d'eau, de la couche liée, sera donc dirigée vers la molécule protéique expliquant la bonne solubilité de celle-ci.

Au contraire, dans le cas des **colloïdes hydrophobes** (Fig 6a) : de l'or colloïdal par exemple ; les forces d'attraction entre les molécules d'eau et les micelles d'or seront du type **dipôle-non dipôle**, forces beaucoup plus faibles que les forces d'interaction dipôle-dipôle entre les molécules d'eau. Les molécules d'eau auront tendance à quitter la micelle d'or, rendant ainsi la solution très instable d'où floculation et précipitation.

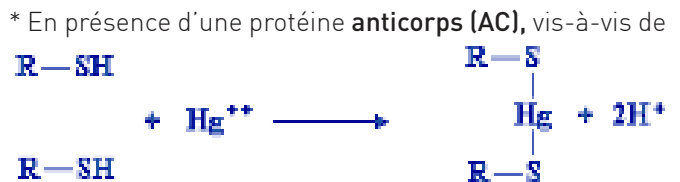
Le pH (par les modifications de charge qu'il entraîne), la présence de solvants polaires et la présence de sels minéraux à fortes concentrations pourront modifier l'hydratation de la protéine et donc sa solubilité.

IV-3- MODIFICATION DE LA STRUCTURE.

Elles peuvent s'observer en diverses circonstances:

- * En présence d'ions lourds tels que **Hg⁺⁺** qui vis-à-vis des solutions protéiques comportant des groupements **SH** libres peuvent entraîner la formation de «**ponts di-**

sulfure» selon la réaction :



la protéine en solution, celle-ci jouant le rôle d'**antigène (AG)**, il se formera un complexe AG-AC qui précipite.

IV-4- ACTION DES SOLVANTS POLAIRES

Si on ajoute un solvant organique, tel que l'alcool ou l'acétone par exemple, à une solution colloïdale de protéine, on constate qu'il y a précipitation.

Explication : Ces solvants polaires vont attirer les molécules d'eau par des forces de VAN DER WAALS du type dipôle-dipôle ; on aura un phénomène de compétition entre la molécule de solvant polaire d'une part et la molécule protéique d'autre part ; le résultat est une déshydratation de celle-ci, d'où **floculation**.

Cette méthode est utilisée lorsqu'on ne cherche pas à respecter l'intégrité structurale des molécules protéiques, car c'est une méthode dénaturante. Ceci est à la base de la méthode de COHN utilisée pour la séparation des protéines plasmatiques par action combinée des variations de pH, de la force ionique μ et de la concentration en solvants polaires.

IV-5-ACTION DE LA TEMPÉRATURE.

L'augmentation de la température (au-dessus de 40°C) entraîne une dénaturation constante des molécules. Ceci constitue l'un des dangers d'une forte fièvre.

REMARQUE : L'étude de la solubilité d'une protéine se fera le plus souvent à la température $\Theta = 0^\circ\text{C}$ en modifiant la force ionique par adjonction de sels neutres qui sont les facteurs les moins dénaturants.

IV-6- INFLUENCE DES IONS MINÉRAUX EN SOLUTION.

À température **T**, **pH** et μ donnés, la solubilité d'une protéine peut être considérablement modifiée par l'adjonction de certains ions lourds tels que :

- * **Hg⁺⁺** qui entraîne la formation de pont disulfure.
- * **Zn⁺⁺** qui se combine au groupement imidazole de la sérum-albumine et entraîne un déplacement de son pHi.
- * **Ca⁺⁺** qui précipite certaines lipoprotéines.

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1 Soient deux macromolécules situées à une distance r l'une de l'autre. Expliquer la variation de l'énergie potentielle du système en fonction de r .

Test 2. Définir la floculation d'une protéine.

Test 3. Citer 6 facteurs qui conditionnent la solubilité d'une protéine.

Test 4. On ajoute une petite quantité de sel à deux solutions colloïdales : l'une hydrophile, l'autre hydrophobe ; il y a floculation de l'une des solutions

1/ Laquelle et pourquoi ?

2/ Comment peut-on amener la deuxième solution à floculer ?

Test 5. Une solution contient plusieurs protéines de pH_i différents. Par quel moyen peut-on les faire floculer une à une ?

CHAPITRE X : ÉQUILIBRE DE DONNAN

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage, l'étudiant devra être capable de :

1. Expliquer la relation de DONNAN
2. Calculer la pression osmotique dans le cas d'équilibre de DONNAN
3. Définir le potentiel de DONNAN
4. Explique les applications biologiques de ce phénomène

Connaissances préalables requises

- Cours : « La Diffusion ».
- Cours : « Propriétés colligatives des solutions ».

1- FAIT EXPÉRIMENTAL

On considère un sel de Sodium d'une protéine **RNa** (ou **Rna_z**) susceptible de se dissocier en solution aqueuse en

- un ion **Na⁺** (ou **zNa⁺**).
- un ion R⁻ (ou R_z⁻) de très grandes dimensions (macromolécule).

Ce sel de Sodium se trouve (figure 1) dans un compartiment I séparé d'un deuxième compartiment II par une membrane **totale**ment **impermeable** aux ions R⁻ (ou R_z⁻ si R porte z charges) et présentant par contre une **perméabilité notable** aux petits ions tels que Na⁺ et Cl⁻. Ces deux compartiments ont des volumes fixes.

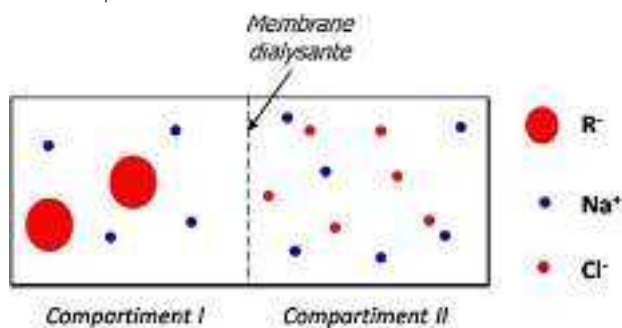


Figure 1

Soit **C₁** la concentration de la solution aqueuse RNa du compartiment I (pour la facilité de l'exposé, nous considérons que R porte une seule charge, nous généraliserons par la suite).

Soit **C₂** la concentration de la solution de NaCl du compartiment II.

Par suite de la dissociation électrolytique, le système considéré présente à l'état initial :

- Dans le compartiment I :
 - C₁ moles d'ions de R⁻ (ou R_z⁻) par litre.
 - C₁ (ou zC₁) moles d'ions de Na⁺ par litre.
- Dans le compartiment II :
 - C₂ moles d'ions de Na⁺ par litre.
 - C₂ moles d'ions de Cl⁻ par litre.

Les R⁻ restent localisés dans le compartiment I, la membrane leur étant imperméable ; Na⁺ et Cl⁻ diffusent librement à travers la membrane ; nous devons donc nous attendre à un état final d'équilibre où la concentra-

tion serait la même dans les deux compartiments pour les ions Na⁺ et Cl⁻ soit :

$$\frac{C_1 + C_2}{2} = \frac{C_1}{2} + \frac{C_2}{2} \quad \text{pour Na}^+$$

$$\text{et } \frac{C_2}{2} \quad \text{pour Cl}^-$$

REMARQUE : ces expressions des concentrations ne sont valables que dans le cas où les deux compartiments ont des volumes égaux. Dans la suite de ce chapitre, chaque fois qu'il s'agira de deux compartiments séparés par une membrane, nous considérerons que leurs volumes sont égaux.

Si telles étaient les concentrations dans les deux compartiments, on aurait dans le compartiment II, un excès de charges positives ; et un excès de charges négatives dans le compartiment I. Un tel état final n'est pas possible car la **loi d'électroneutralité s'y oppose**.

Nous voyons donc que, du fait de l'imperméabilité de la membrane aux gros ions R⁻, l'électroneutralité s'oppose à ce que l'équilibre des concentrations, dans les deux compartiments, en micro ions Na⁺ et Cl⁻ soit respecté : c'est ce fait qui constitue le **phénomène de DONNAN**.

2- RELATION DE DONNAN

A l'état initial, la concentration en ions Cl⁻ est :

- nulle dans le compartiment I.
- égale à CII dans le compartiment II.

Compte tenu des lois de diffusion, des ions Cl⁻ vont diffuser du compartiment II vers le compartiment I. Chaque ion Cl⁻ :

- doit être accompagné d'un ion Na⁺
- ou au même moment, un ion Cl⁻ doit passer du compartiment I vers le compartiment II.

Comme à l'état initial, il n'y a pas de Cl⁻ dans le compartiment I, c'est le premier des deux processus qui se produit (passage de Na⁺ de II vers I). (figure 2).

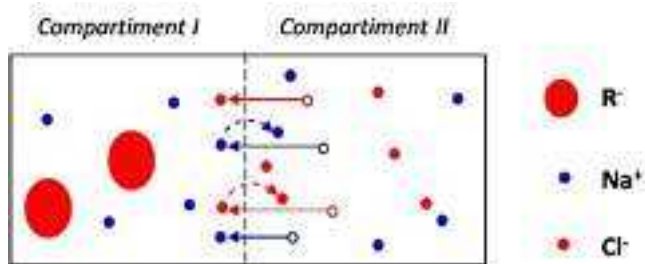


Figure 2

La probabilité pour qu'un ion Cl^- traverse la membrane du compartiment II vers le compartiment I est proportionnelle à sa concentration dans le compartiment II, elle est donc égale à : $K(\text{Cl})_{\text{II}}$.

De même, pour un ion Na^+ , cette probabilité s'écrit : $K'(\text{Na}^+)_{\text{I}}$.

La probabilité pour que les deux événements se produisent, c.à.d passage à la fois d'un ion Cl^- et d'un ion Na^+ du compartiment II vers le compartiment I est égale au produit des probabilités de chacun d'eux ; soit : $K.K'(\text{Cl}^-)_{\text{II}}(\text{Na}^+)_{\text{I}}$.

Dès que les ions Cl^- seront présents dans le compartiment I, nous observons un passage en sens inverse d'un ensemble $[\text{Na}^+, \text{Cl}^-]$ avec la probabilité : $K.K'(\text{Cl}^-)_{\text{I}}(\text{Na}^+)_{\text{I}}$, où $(\text{Cl}^-)_{\text{I}}$ et $(\text{Na}^+)_{\text{I}}$ sont les concentrations en ions dans le compartiment I.

Il y aura équilibre quand les flux de Cl^- et Na^+ seront les mêmes dans les deux sens c.à.d quand les probabilités de passage seront les mêmes ; soit à l'équilibre, nous devons avoir :

$(\text{Na}^+)_{\text{I}}(\text{Cl}^-)_{\text{I}} = (\text{Na}^+)_{\text{II}}(\text{Cl}^-)_{\text{II}}$; c'est la **relation de Donnan**

ou $\frac{(\text{Na}^+)_{\text{II}}}{(\text{Na}^+)_{\text{I}}} = \frac{(\text{Cl}^-)_{\text{I}}}{(\text{Cl}^-)_{\text{II}}}$; c'est le **rapport de Donnan**

Pour arriver à cet état d'équilibre, il y a passage d'une quantité x de NaCl du compartiment II vers le compartiment I. x est donc la concentration de Cl^- à l'équilibre dans le compartiment I. Nous aurons :

- dans le compartiment I :
 - R^- à la concentration C_{I} .
 - Na^+ à la concentration $C_{\text{I}} + x$
 - Cl^- à la concentration x .

- dans le compartiment II :
 - Na^+ et Cl^- à la même concentration $C_{\text{II}} - x$.

L'application de la relation de DONNAN donne :

$$x(C_{\text{I}} + x) = (C_{\text{II}} - x)^2$$

cette relation est du premier degré en x bien qu'en apparence elle semble du 2^{ème} degré ; ce qui donne :

$$x = \frac{C_{\text{II}}^2}{C_{\text{I}} + 2C_{\text{II}}}$$

De la relation $x(C_{\text{I}} + x) = (C_{\text{II}} - x)^2$ on montre que :

- * $x < (C_{\text{I}} + x)$; ce qui donne que $(\text{Cl}^-)_{\text{I}} < (\text{Cl}^-)_{\text{II}}$
- * $x < (C_{\text{II}} - x) < (C_{\text{I}} + x)$; donc $(\text{Na}^+)_{\text{I}} > (\text{Na}^+)_{\text{II}}$

La concentration en ions diffusibles Cl^- est plus faible dans le compartiment I que dans le compartiment II. Par contre, la concentration en ions diffusibles Na^+ est plus élevée dans le compartiment I que dans le compartiment II.

Tout se passe donc comme si, suivant la loi d'interaction coulombienne, les gros ions R^- qui sont obligés de rester dans le compartiment I tendaient à retenir dans le compartiment les ions diffusibles Na^+ et à repousser vers le compartiment II les ions négatifs Cl^- contrariant le seul effet de diffusion dont le résultat devrait être l'égalité des concentrations des ions diffusibles dans les deux compartiments.

3- CONSÉQUENCES DE LA RELATION DE DONNAN

Il est intéressant de comparer les osmolarités des compartiments I et II et les phénomènes que l'osmolarité commande : on étudiera seulement la pression osmotique II ; cette pression est égale à :

$$= R.T.(\text{Osmolarité}_{\text{I}} - \text{Osmolarité}_{\text{II}})$$

3-1- MACROMOLECULE NON CHARGÉE

Si la macromolécule n'était pas chargée, les deux espèces d'ions diffusibles vont avoir la même concentration C_{II} dans les deux compartiments ; ce qui donne :

$$2$$

$$(\text{Osmolarité}_{\text{I}} - \text{Osmolarité}_{\text{II}}) = C_{\text{I}} ;$$

et la pression osmotique vaut : $\Pi = R.T.C_{\text{I}}$.

3-2- LA MACROMOLECULE EST CHARGÉE

Comme la particule est chargée, les osmolarités sont :

- pour le compartiment I :

$$\begin{array}{ccccccc} C_{\text{I}} & + & C_{\text{I}} & + & x & + & x = C_{\text{I}} + C_{\text{I}} + 2x \\ \downarrow & & \downarrow & & \downarrow & & \downarrow \\ \text{R}^- & & \text{Na}^+ & & \text{Na}^+ & & \text{Cl}^- \end{array}$$

- pour le compartiment II : $2.(C_{\text{II}} - x)$

La pression osmotique est :

$$= R.T.[C_{\text{I}} + C_{\text{I}} + 2x - 2.(C_{\text{II}} - x)]$$

$$\text{soit } \Pi = R.T.[C_{\text{I}} + C_{\text{I}} - 2C_{\text{II}} + 4x]$$

$$\text{en remplaçant } x \text{ par sa valeur : } x = \frac{C_{\text{II}}^2}{C_{\text{I}} + 2C_{\text{II}}}$$

$$\text{nous obtenons : } \Pi = R.T.C_{\text{I}} + R.T.\frac{C_{\text{I}}^2}{C_{\text{I}} + 2C_{\text{II}}}$$

Π représente la **pression oncotique** c.à.d la pression osmotique d'une macromolécule chargée lorsque la membrane est dialysante compte tenu de l'équilibre de DONNAN. Elle est supérieure à la pression osmotique due exclusivement à la particule non diffusible ($R.T.C_{\text{I}}$).

Π est la somme de deux termes :

- * Un premier terme qui serait la valeur de la pression osmotique si la protéine était seule.
- * un deuxième terme qui s'ajoute au premier et qui est dû au phénomène de DONNAN.

$$\frac{C_{\text{I}}}{C_{\text{I}} + 2C_{\text{II}}} \text{ est le terme de correction.}$$

3-3- ÉTUDE DU TERME DE CORRECTION

$$\Pi = R.T.C_I \left(1 + \frac{C_I}{C_I + 2C_{II}} \right)$$

* Si $C_{II} = 0$; RNa est opposée au solvant pur ;

on obtient $\frac{C_I}{C_I + 2C_{II}} = 1$

et $\Pi = 2.R.T.C_I$

* Si $C_{II} \gg C_I$; RNa est opposée à un excès considérable d'ions diffusibles, le terme de correction devient négligeable :

$$\frac{C_I}{C_I + 2C_{II}} \approx 0$$

et $\Pi = R.T.C_I$; tout se passe comme si la macromolécule était seule.

On dit qu'il y a deux cas où le **phénomène de DONNAN disparaît**

- La macromolécule n'est pas chargée (la molécule est à son pHi).
- La macromolécule est opposée à un excès de sel.

3-4- LA MACROMOLÉCULE PORTE PLUSIEURS CHARGES ($Rn a_z$)

Les concentrations dans le compartiment I deviennent : C_I pour R^{z-} et $z.C_I$ pour Na^+ .

Dans le calcul de Π , nous remplacerons la concentration C_I de Na^+ par $z.C_I$; et la pression osmotique devient :

$$\Pi = R.T.C_I \left(1 + \frac{z^2.C_I}{z.C_I + 2C_{II}} \right)$$

3-5- POTENTIEL DE DONNAN.

Le fait essentiel dans le phénomène de DONNAN est qu'il existe une différence de concentration des ions diffusibles Na^+ et Cl^- entre les compartiments I et II correspondant à un état d'équilibre.

Cette inégale répartition ionique à l'équilibre est fortement associée à une polarisation électrique de la membrane avec apparition d'une différence de potentiel électrique ($V_{II} - V_I$) appelé potentiel de DONNAN.

Puisque seuls les transports passifs sont impliqués dans la répartition ionique d'équilibre, l'expression du potentiel de DONNAN est donnée par l'équation de NERNST appliquée à l'une des espèces des ions diffusibles.

$$V_{II} - V_I = \frac{R.T}{z.F} \text{Log} \frac{C_{II}}{C_I}$$

avec :

R = constante gaz parfaits,

T = température absolue,

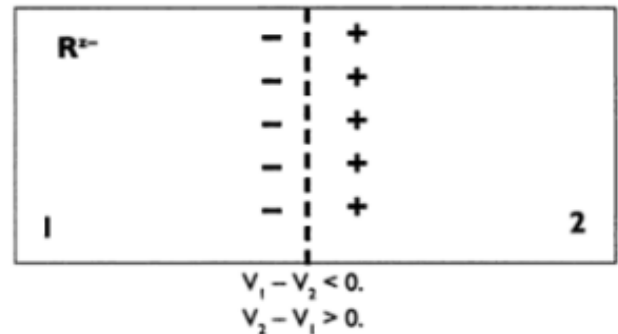
Z = valeur algébrique de la charge d'ion à considérer,

F = constante de faraday = 96500 coulombs.

Remarques :

- Bien que les concentrations ne soient pas égales, il est important de comprendre que l'équilibre de DONNAN respecte les lois de l'électroneutralité. Chacune des solutions est électriquement neutre.

- Le signe du potentiel dépend de la localisation de la protéine. Le potentiel du compartiment est de même signe que la protéine qu'il contient. Par exemple, si la protéine dans le compartiment 1 est chargée négativement le potentiel du compartiment 1 sera négatif. (figure 3)



3.6. RELATION DE DONNAN GENERALISEE

Lorsque nous avons plusieurs ions en solution : Na^+ , Cl^- , I^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , ... nous pouvons généraliser la relation de DONNAN et écrire :

$$\frac{[K^+]_I}{[K^+]_II} = \frac{[Na^+]_I}{[Na^+]_II} = \frac{[Cl^-]_I}{[Cl^-]_II} = \frac{[I^-]_I}{[I^-]_II} = \frac{[Ca^{2+}]_I}{[Ca^{2+}]_II} = \frac{[SO_4^{2-}]_I}{[SO_4^{2-}]_II}$$

4. APPLICATIONS BIOLOGIQUES

4.1. COMPOSITION ELECTROLYTIQUE DU MILIEU INTERSTITIEL

La paroi capillaire séparant le compartiment plasmatique du compartiment interstitiel se comporte comme une membrane dialysante (imperméable aux protéines). Les protéines sont présentes dans le milieu plasmatique à une concentration pondérale d'environ 70gL⁻¹ correspondant à une concentration molaire d'environ 1mmolL⁻¹. Elles sont quasiment absentes dans le tissu interstitiel. Au pH physiologique les protéines sont ionisées négativement avec une valence moyenne d'environ 16. Elles sont donc responsables d'un effet DONNAN expliquant que la composition en ions diffusibles du secteur interstitiel soit légèrement différente de celle du compartiment plasmatique :

Concentration	Compartiment plasmatique		Compartiment interstitiel
	mmol.L ⁻¹ d'eau de plasma	MEq.L ⁻¹ d'eau de plasma	mEq.L ⁻¹ d'eau
Protéines	1	16	4
Na ⁺	150	150	144
K ⁺	4	4	4
Cl ⁻	100	100	114
HCO ₃ ⁻	26	26	29

4.2. POTENTIEL DE REPOS CELLULAIRE

A cause de cette distribution inégale des ions entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, il y a une ddp transmembranaire, tout en gardant une électroneutralité des 2 compartiments.

Cette différence de potentiel d'équilibre (potentiel de DONNAN) peut être mesuré par l'équation de Nernst et contribue par ≈ -10 mV du potentiel de repos cellulaire. L'intérieur de la cellule est donc négatif. (figure 4).

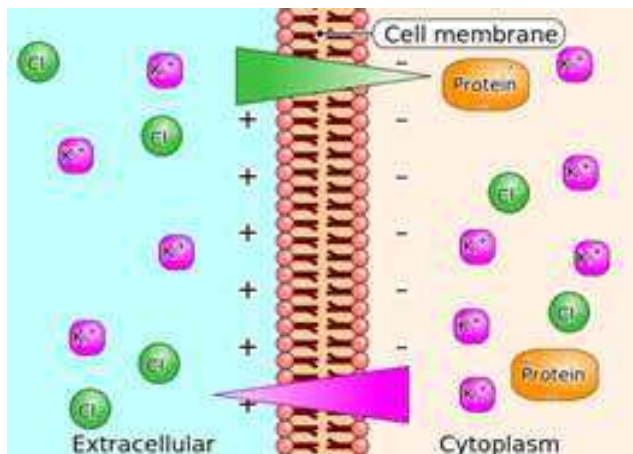


Figure 4

5. CONCLUSION

La présence dans un compartiment, séparé d'un deuxième compartiment par une membrane dialysante, d'un ion diffusible Rz^- entraîne l'existence d'une différence de concentration des ions diffusibles.

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1:

Soit un osmomètre à membrane dialysante contenant une solution **S** de protéine **RI** (R est un ion protéinate et I un ion univalent monoatomique) de molarité C_I plongeant dans une solution aqueuse de sel **IA** (A est un ion univalent monoatomique) de molarité C_{II} supposé totalement dissocié.

1/ Sachant que le pH de la solution de protéine est de 7,8 ; largement supérieur au pHi de cette protéine, trouver le signe de l'ion I.

2/ Soit x la concentration en ions formés de A qui traverse la membrane de l'osmomètre, retrouver la formule suivante:

$$x = \frac{C_I}{C_I + 2C_{II}}$$

3/ Calculer la pression osmotique **P** développée par la solution S sachant que $C_I = C_{II} = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; on prendra $RT = 24 \text{ litre.Atm.mol}^{-1}$.

4/ Que devient **P** Lorsque $C_I = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $C_{II} = 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$. Que faut-il déduire ?

Test 2. Deux compartiments I et II de volumes égaux à 1 litre chacun sont séparés par une membrane dialysante. Le compartiment I contient 75 g/l d'une protéine de masse molaire 75.000 g/mol ; 150 mmol.L⁻¹ de NaCl ; 5 mmol.L⁻¹ de CH₃COOH et 5 mmol.L⁻¹ de CH₃COONa. Le compartiment II contient de l'eau pure.

Le pK de l'acide éthanique et le pHi de la protéine ont la même valeur 4,8.

1/ La protéine a-t-elle une charge nette dans la solution ? Pourquoi ?

2/ le phénomène de DONNAN interviendra-t-il ? Pourquoi ?

3/ Calculer la pression osmotique au niveau de la membrane ; sachant qu'une mol.L⁻¹ développe une pression de 24 000 cm d'eau.

4/ Quelle est la conséquence sur la transparence de la solution ?

a/ dans le compartiment I ?

b/ dans le compartiment II ?

5/ On plonge une électrode d'argent dans chaque compartiment. La d.d.p mesurée entre les deux électrodes est nulle.

5-a/ De quel genre d'électrodes s'agit-il ?

5-b/ Donner la raison pour laquelle la tension mesurée est nulle ?

5-c/ Quelle est la valeur de la d.d.p de part et d'autre de la membrane ?

Test 3. Un osmomètre muni d'une membrane dialysante contient une macromolécule chargée **R^{z-}** et une solution électrolytique contenant les ions : Cl⁻ ; HCO₃⁻ ; Na⁺ et K⁺. Cet osmomètre dont le contenu est la solution **I** est plongé dans une solution électrolytique **II** qui contient les mêmes micro-ions.

On suppose l'équilibre réalisé, la composition en micro-ions des deux solutions est la suivante :

	Compartiment I	Compartiment II
Cl ⁻	80 mEq.L ⁻¹	88 mEq.L ⁻¹
HCO ₃ ⁻	100 mEq. L ⁻¹	110 mEq.L ⁻¹
Na ⁺	165 mEq. L ⁻¹	150 mEq.L ⁻¹
K ⁺	52,8 mEq. L ⁻¹	48 mEq.L ⁻¹

1/ L'électroneutralité est-elle respectée dans le compartiment II ?

2/ Quelle est la concentration équivalente de **R^{z-}** exprimée en mEq.L⁻¹?

3/ Quelle est la concentration molaire de **R^{z-}** en mM.L⁻¹, sachant que chaque ion porte z = 8 charges élémentaires.

4/ Calculer les rapports des concentrations :

$$\frac{[K^+]_I}{[K^+]_II} ; \frac{[Na^+]_I}{[Na^+]_{II}} ; \frac{[Cl^-]_I}{[Cl^-]_II} \text{ et } \frac{[HCO_3^-]_I}{[HCO_3^-]_II}$$

Quelle conclusion en tirez-vous ?

5/ Calculer l'osmolarité des deux solutions. Conclusion.

Test 4. Une membrane dialysante sépare deux compartiments **I** et **II** de volume 1 L chacun et remplis :

* l'un d'une solution de NaCl de concentration **C** = 2.10⁻² mol.L⁻¹

* l'autre d'eau pure.

A - 1/ Calculer la concentration **C'** de **Na⁺** et **Cl⁻** dans les deux compartiments à l'équilibre.

2/ Calculer la pression osmotique correspondante.

B - On ajoute dans le compartiment **I** un protéinate de Sodium **R.Na₄** à la concentration **C_i** = 10⁻³ mol.L⁻¹.

1/ Calculer la concentration **x** correspondant au **NaCl** qui a diffusé pour atteindre l'équilibre. Dans quel sens s'est faite la diffusion ?

2/ Calculer les concentrations de **Na⁺** et **Cl⁻** dans les deux compartiments au nouvel équilibre.

3/ Calculer la pression osmotique correspondante. On donne : R = 0,082 litre.Atm/° ; T = 27°C

Test 5.

I On réalise une solution **S** en mélangeant à 12 g d'urée :

* 900 mL d'acide éthanique CH₃COOH N/10 de pK = 4,7 * 100 mL de soude NaOH N/10

Déterminer pour la solution **S** :

1- Le pH.

2- La molarité des ions H⁺.

3- La molarité des ions CH₃COO⁻.

4- La molarité de l'acide non dissocié.

5- La molarité des ions Na⁺.

6- La molarité de l'urée.

7- L'osmolarité totale.

8- L'osmolarité efficace.

9- L'abaissement cryoscopique $\Delta\Theta$ mesuré à l'aide d'un thermomètre gradué au 1/100°C ; la constante cryoscopique de l'eau est : K_c = 1,86.

10- L'abaissement cryoscopique corrigé $\Delta\Theta_{\text{corr}}$.

11- La pression osmotique développée par la solution, si elle était placée dans un osmomètre à membrane dialysante (la cuve contient de l'eau pure).

12- La pression osmotique développée par la solution, si elle était placée dans un osmomètre à membrane hémiperméable.

II- On considère une cuve comprenant deux compartiments I et II séparés par une membrane dialysante.

Le compartiment I contient un litre de la solution S

Le compartiment II contient un litre d'eau pure.

1- Calculer l'osmolarité des constituants suivants à l'équilibre : CH_3COOH ; CH_3COO^- ; Na^+ ; urée.

2- Calculer le pH de chaque compartiment à l'équilibre.

III- On ajoute dans le compartiment II : 10^{-2} m.mol d'une protéine CH^3COOR (R étant un radical) de $\text{pH}_i = 4,7$ et de volume négligeable ; il en résulte une variation x de la concentration de l'acétate de sodium dans chacun des compartiments

1- Ecrire la relation à laquelle obéissent les concentrations de CH_3COO^- et de Na^+ dans les compartiments I et II à l'équilibre. De quelle relation s'agit-il ?

2- Calculer les concentrations de CH_3COO^- et de Na^+ dans les compartiments I et II à l'équilibre. Compléter le tableau.

compartiment I			compartiment II		
R	CH_3COO^-	Na^+	R	CH_3COO^-	Na^+
	Avant			à	
	l'équilibre			l'équilibre	

IV- On ajoute dans le compartiment I : 35 mmol de base (soude NaOH) contenues dans un volume supposé négligeable. On constate que la solution du compartiment II devient trouble.

1- Calculer le pH des deux compartiments, une fois qu'on ajoute la base ?

2- À quel phénomène est lié le trouble observé dans le compartiment II ?

3- Que devient la transparence de la solution du compartiment I ?

CHAPITRE XI : L'ÉLECTROPHORÈSE SUR SUPPORT

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage, l'étudiant devra être capable de :

1. Définir l'électrophorèse
2. Expliquer le principe de l'électrophorèse.
3. Citer ses applications médicales

Connaissances préalables requises

- Cours : « Propriétés électriques des micro et macromolécules ».

1. DEFINITION

On appelle électrophorèse, la migration d'une substance chargée dissoute ou en suspension dans un solvant sous l'action d'un champ électrique. Elle peut avoir lieu en phase liquide ou sur un support imprégné d'un électrolyte convenablement choisi.

L'électrophorèse peut être utilisée pour l'étude qualitative et quantitative de plusieurs substances biologiques.

2. PRINCIPE

- La réalisation technique d'un dispositif d'électrophorèse est simple ; il consiste dans le raccordement de deux électrodes chargées (générateur de courant) de signe opposé à l'aide d'une solution électrolytique tampon de composition et de pH connus (pH alcalin). L'établissement d'un champ électrique \vec{E} constant permet la réalisation de l'électrophorèse.

- Cette **solution tampon** imprègne un **support solide** (membrane d'Acétate de cellulose, gel d'Agarose ou gel de Polyacrylamide). En un point de ce support, on dépose en une **bande étroite** la solution à analyser. Les molécules chargées, vont migrer dans le champ électrique \vec{E} , selon leur **mobilité**, vers l'électrode de charge opposée.

- La zone de dépôt étant étroite, les constituants migrent selon des bandes nettement distinctes. Cette migration en zones indépendantes a donné le nom **d'électrophorèse de zones** (figure 1).

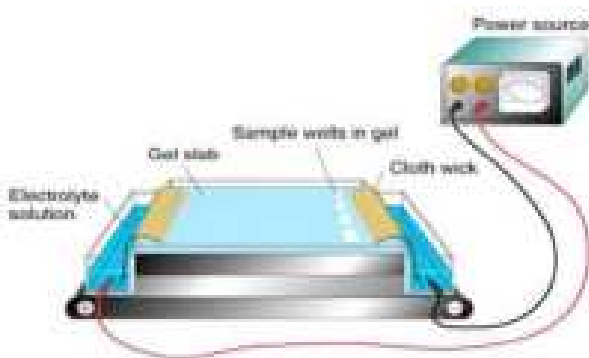


Figure 1

- Le support peut être de la forme :

- * d'une bande imprégnée de la solution tampon et tendue entre deux récipients contenant le même tampon.

- * d'un bloc plus ou moins épais obtenu par montage : une plaque par exemple.

- La nature du support peut être du papier, de la cellulose, de l'acétate de cellulose, du gel d'agar-agar, un gel de Polyacrylamide... ; La solution est emprisonnée dans la structure même du support.

- Le cheminement des substances en solution à travers les fibres du papier favorise au maximum les effets d'une éventuelle absorption ; ce qui donne une **traînée**.

- L'établissement d'un champ électrique \vec{E} constant permet la réalisation de l'électrophorèse. La réalisation d'une électrophorèse exige le contrôle et la surveillance des facteurs qui conditionnent la mobilité des macromolécules. Les variables sont : le champ électrique \vec{E} , le **pH**, la force ionique μ du milieu, et la température.

2-1- LE CHAMP

Le champ électrique \vec{E} doit être constant, il est obtenu à l'aide d'un générateur de courant continu stabilisé en tension.

$$\|\vec{E}\| = \frac{V}{L}$$

Comme $V = R \cdot i$; R étant la résistance et i l'intensité du courant.

Avec $R = \frac{\rho \cdot L}{S}$ et $\rho = \frac{1}{\chi}$; on peut écrire $\|\vec{E}\| = \frac{i}{S \cdot \chi}$

Pour i et S constants, le champ \vec{E} ne dépend que de la conductivité χ donc de la force ionique μ .

2-2- LA FORCE IONIQUE μ

Si dans une région la concentration ionique (donc la force ionique) est plus forte, la résistance est plus faible, le champ électrique moins intense et la vitesse des particules donc leur mobilité plus petite. Il convient donc que la concentration ionique de la solution colloïdale soit homogène et identique à celle du tampon. Avant de pratiquer l'électrophorèse, il faut donc dialyser la solution colloïdale contre le tampon. Ceci a l'avantage, entre autres, d'instituer une identité ionique presque parfaite entre les deux milieux.

3. FACTEURS INTERVENANT LORS D'UNE ÉLECTROPHORÈSE

La réalisation d'une électrophorèse exige le contrôle et la surveillance des facteurs qui conditionnent la mobilité électrophorétique des particules chargées. En effet, la mobilité **observée** des particules sur le support est une mobilité électrophorétique **apparente** qui dépend de plusieurs facteurs.

3.1. CARACTERISTIQUE DE LA MOLECULE CHARGÉE

La mobilité électrophorétique absolue de la particule dépend de sa charge électrique nette, sa taille et sa géométrie (forces de frottement) et de l'intensité du champ électrique E .

3.2. CARACTERISTIQUE DU SYSTEME ELECTROPHORETIQUE

Il existe un certain nombre de paramètres du système électrophorétique lui-même qui peut influencer la séparation des particules chargées. Les plus importants sont :

- Le pH et composition ionique de la solution tampon
- le voltage appliqué
- la température
- le type du support

3.3. COURANTS LIQUIDIENS

a. Courant d'Evaporation :

Le passage du courant dans le support d'électrophorèse provoque par effet Joule un échauffement du liquide tampon qui se traduit par une évaporation de l'eau de la solution électrolytique d'imprégnation. Or, les deux extrémités du support sont plongées dans des bacs contenant cet ce tampon. L'eau qui s'évapore est donc continuellement remplacée par du liquide frais provenant des bacs à électrode. Ceci provoque **un flux hydrodynamique** dont les effets viennent se superposer à ceux du champ électrique. (figure 2)

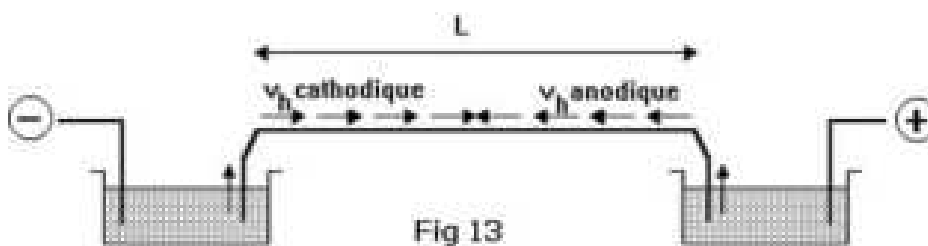


Figure 2

On remarque que la vitesse d'entraînement due au flux hydrodynamique peut être soit positive, soit négative et que son effet est maximum au milieu du support.

b. Courant d'Electro-endo-osmose :

En présence de la solution tampon à pH alcalin le support d'électrophorèse s'ionise avec apparition de charges négatives à sa surface. Les cations de la solution tampon électrolytique viennent se placer à la surface du support. Il se forme ainsi une gaine liquide contiguë au support chargée positivement qui migre vers la cathode (**flux d'électro-endo-osmose**) entraînant toutes les molécules à séparer (ionisées ou non).

Cette mobilité s'ajoute ou se soustrait à la mobilité élec-

trophorétique des particules selon leurs charges. (figure 3)

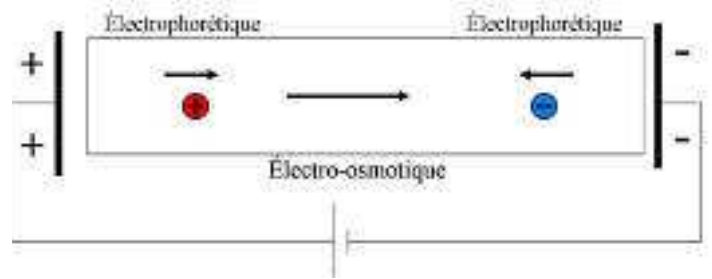


Figure 3

Le passage du courant à travers la solution électrolytique produit de la chaleur par l'effet Joule ; ce qui va faire évaporer l'eau du tampon. L'évaporation va créer un mouvement de tampon à partir des bacs où sont immergées les extrémités de la bande. Ce **flux hydrodynamique** dû à la compensation de l'évaporation confère au solvant une vitesse.

3.4. AVANTAGES ET INCONVENIENTS DE LA METHODE

- Elle est simple et peu onéreuse.
- L'adsorption sur le papier provoque un effet de traînage de la bande. L'acétate de cellulose réduit cet inconvénient.

Au Total : une particule, quelle que soit son point de départ sur le support, s'arrête en un point P dont la position ne dépend que de sa mobilité électrophorétique μ (le flux hydrodynamique et l'électro-endo-osmose sont les mêmes pour toutes les particules). La mobilité électrophorétique est une caractéristique de la particule en question. Donc, deux particules différentes s'arrêteront dans deux points différents.

4. APPLICATIONS MEDICALES

4.1. ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES

Avant l'électrophorèse, on ne connaissait dans le sérum que deux fractions protéiques : les **albumines** et les **globulines** obtenues séparément par relargage ou par centrifugation.

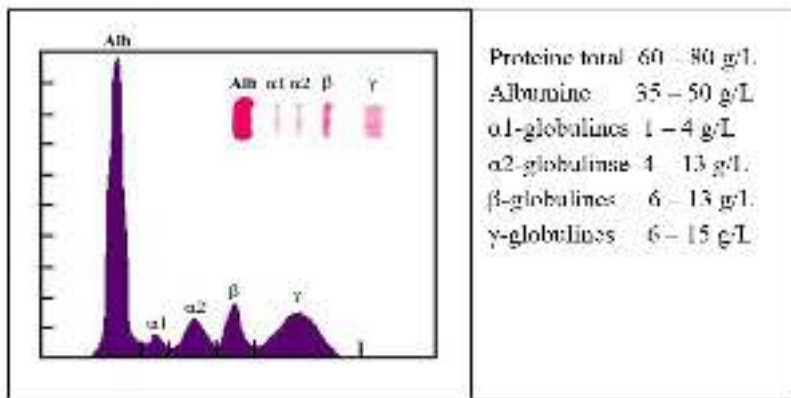
L'électrophorèse sur support permet la séparation de cinq fractions

protéiques dans le sérum : les albumines et les 4 fractions de globulines (α_1 , α_2 , β et γ).

Les pH iso-électrique (**pHi**) de ces fractions protéiques sont **inférieurs** au pH physiologique (=7,4) ou au pH alcalin (=8) de la solution tampon d'électrophorèse. Elles se chargent donc **négativement** et migrent vers le pôle positif selon l'ordre de mobilité décroissante suivant :

- **l'Albumine** de pHi= 4,7
- Les α_1 et α_2 globulines de pHi = 4,9
- Les β globulines de pHi = 5,4
- Les γ globulines de pHi = 6,3

Pour le plasma, constitué de sérum + fibrine, une sixième fraction apparaît entre β et γ : c'est le fibrinogène.



Tracé normal d'Électrophorèse des protéines sériques
donné par lecture au densitomètre

En pathologie, l'électrophorèse permet :

- D'apprécier les modifications quantitatives des constituants normaux telle qu'une diminution du taux d'albumine dans le syndrome néphrotique.
- De déceler la présence de constituants anormaux : augmentation par exemple le taux des γ globulines dans la maladie de Kahler.

4.2. L'IMMUNO-ELECTROPHORESE

Elle comprend deux étapes :

- D'abord une électrophorèse banale sur gel
- Puis, on dispose dans une gouttière latérale à l'axe de migration un sérum riche en anticorps-antisérum humain. Les protéines et les anticorps diffusent l'un vers l'autre et l'ensemble antigène-anticorps donne une réaction de précipitation visible sous forme d'un arc.

Cette méthode est :

- **Spécifique** : chaque arc correspond à une protéine.
- **Sensible** : quelques microgrammes d'échantillon suffisent.

CHAPITRE XII : APPLICATIONS MÉDICALES

I- INTRODUCTION

I-1- RAPPELS

Dans cette dernière partie, l'étudiant tâchera d'avoir une synthèse globale des notions acquises tout le long des enseignements de ce thème où nous avons vu de quoi est constitué le milieu intérieur (eau, solutions micro moléculaires, solutions macromoléculaires avec leurs propriétés respectives) et où nous avons défini les différents compartiments qui constituent ce milieu (compartiment vasculaire, interstitiel et intracellulaire), leur composition, ainsi que les lois physico-chimiques (diffusion Brownienne, lois de l'osmose, phénomène de Donnan ...) qui gèrent les échanges entre ces compartiments séparés par des membranes bien définies (membranes dialysantes, membrane hémiperméable...).

Fort de ces acquis, l'étudiant pourra aisément comprendre le **mécanisme exact des échanges** qui ont lieu au niveau des **anses capillaires** entre le sang et le secteur interstitiel d'une part, et entre le secteur interstitiel et intracellulaire d'autre part. La vie des cellules est, bien entendu, directement conditionnée par ces échanges.

Pour cela il est utile de revenir sur quelques notions relatives aux phénomènes osmotiques où nous avons vu entre autres, qu'il était dénué de sens de parler d'une pression osmotique d'une solution, tant qu'on ne suppose pas, au moins implicitement, qu'on oppose cette solution à son solvant **à travers une membrane** et qu'on ne précise pas le **type de membrane** utilisé.

En effet, la pression osmotique développée par une solution n'est pas une propriété intrinsèque de celle-ci puisque la présence d'une membrane est indispensable à son apparition et qu'elle varie en fonction du type de membrane choisi.

Il est également courant d'entendre parler de pression osmotique du plasma, ce qui sous-entend : pression osmotique développée par le plasma contre l'eau pure à travers une membrane strictement hémiperméable.

En fait, l'hémiperméabilité stricte n'est jamais réalisée. La paroi de l'hématie par exemple est perméable à d'autres molécules que les molécules d'eau (molécules d'urée ou de glucose par exemple) si bien que vis-à-vis de cette membrane que constitue la paroi de l'hématie, l'urée et le glucose font partie du solvant et non du soluté.

De même, vis-à-vis de la membrane que constitue la paroi vasculaire, tous les cristalloïdes du plasma font avec l'eau partie du solvant (ce solvant n'étant rien d'autre que le liquide interstitiel) le soluté se réduit alors aux macromolécules protéiques.

À ce couple soluté-solvant, c'est-à-dire macromolécules-liquide interstitiel, correspond une pression osmotique différente de celle du couple plasma-eau pure. Cette pression osmotique est appelée **pression oncotique** (ou **onkotique**) des protéines. L'équilibre de Donnan, ainsi obtenu et déjà défini dans le chapitre correspondant, fait que le nombre total d'ions diffusibles présents dans le compartiment contenant la protéine ionisée est **plus**

grand que dans l'autre compartiment.

La solution de macromolécules protéiques ionisées développera donc à l'équilibre une pression osmotique **supérieure** à celle qui serait développée par ces mêmes protéines non ionisées ; car elle proviendra d'une part de la présence des molécules protéiques et d'autre part de l'existence d'un excès d'ions diffusibles dans le compartiment contenant la solution.

Cette notion d'équilibre de Donnan intervient dans l'étude des mécanismes physiologiques d'échanges au niveau cellulaire.

En effet, la membrane d'une cellule de l'organisme sépare deux milieux (intracellulaire et interstitiel) de composition différente. Or le milieu intracellulaire contient une grande quantité de protéines qui, dans le domaine des pH biologiques, sont toutes ionisées négativement.

Ce sont donc les règles de l'équilibre de Donnan qui vont conditionner les échanges au niveau de cette membrane. Il en est de même pour toute membrane vivante, membrane d'une bactérie ou d'un virus par exemple.

En fait, ces membranes étant hémiperméables, il est en principe impossible d'obtenir un équilibre puisqu'il n'y a pas ici, comme c'était le cas dans l'osmomètre, une surpression hydrostatique s'opposant à l'appel osmotique.

Les cellules vivantes sont donc condamnées à lutter en permanence contre l'invasion liquidienne définie par la loi de Gibbs-Donnan, ou à mourir.

Ainsi, les bactéries peuvent résister à cette invasion en s'entourant d'une coque **lipido-protéique** indéformable qui opposera une résistance mécanique à cette pression osmotique. C'est la **sporulation**.

Les cellules de l'organisme ne pouvant lutter par un mécanisme analogue s'opposent à l'invasion par l'existence de **transports actifs** qui, utilisant l'énergie du métabolisme cellulaire, rejettent en permanence des ions diffusibles dans le milieu interstitiel.

I-2- TRANSPORT ACTIF

On appelle transport actif le mouvement d'une substance à travers une membrane, se produisant indépendamment des gradients de concentration (qu'il se produise dans le même sens : transport facilité, ou, le plus souvent en sens contraire : transport actif proprement dit). Ces mécanismes que l'on rencontre chez les êtres vivants consomment de l'énergie sous forme d'A.T.P.

Ainsi, c'est par un tel mécanisme que s'explique le fait que la concentration intracellulaire du Sodium (37mEq/l) reste constamment inférieure à sa concentration extracellulaire (143mEq/l).

Cette pompe à Sodium repose sur un mécanisme biochimique complexe au cours duquel une enzyme, la Phosphatidyl-Kinase, activée par l'A.T.P. va ioniser une molécule de Phosphatidyl-Inositol avec apparition d'ions PO_4^- . Ces groupements négatifs vont attirer les ions positifs présents dans le milieu tels que les ions Na^+ et K^+ . Or, les ions Na^+ et K^+ solvatés ont des diamètres différents et créent autour d'eux des champs électriques différents

entraînant une attraction des ions Na^+ et K^+ différente au niveau des pores de la membrane et ainsi, les ions Na^+ seront rejetés en permanence hors de la cellule. Insistons sur le fait que ces mécanismes ne sont possibles que pour une cellule vivante, puisqu'ils utilisent de l'énergie ; un des premiers signes biologiques de souffrance cellulaire est d'ailleurs la pénétration intracellulaire du Sodium (c'est par exemple ce qui se passe dans les fibres myocardiques au moment du rejet d'un transplant cardiaque).

II- OSMOSE ANORMALE

Nous avons étudié «l'osmose pure», c'est-à-dire l'osmose produite sans intervention de phénomènes autres que la diffusion Brownienne.

Nous avons ensuite constaté que, dans l'équilibre de Donnan, le champ électrique créé par les gros ions protéiques venait compliquer les phénomènes osmotiques. Il en est bien souvent ainsi en Biologie et les transferts d'eau observés sont alors la résultante de la diffusion et de l'effet de champs de forces surajoutés : on parle alors d'osmose «anormale».

II-1- PHYSIOPATHOLOGIE DES OEDÈMES

Les échanges intervenant au niveau des anses capillaires entre le sang et le secteur interstitiel conditionnent la vie des cellules (**Phénomène de Starling**).

Dans les conditions normales, la forte pression de rappel qui existe au niveau du pôle veineux de l'anse empêche toute accumulation de liquide dans le secteur interstitiel. Mais au cours de certains états pathologiques, des perturbations de ces mécanismes peuvent se produire, qui s'accompagneront d'une accumulation de liquide dans le secteur interstitiel ; l'infiltration liquidienne des tissus qui en résulte constitue un **oedème**.

D'une manière schématique, ces oedèmes peuvent se rencontrer dans les conditions suivantes :

* HYPERTENSION VEINEUSE (H.T.V)

Au cours d'une insuffisance ventriculaire droite par exemple, le cœur devenant incapable d'assurer un débit sanguin suffisant, on assistera à une stase sanguine en amont dont la conséquence sera une hypertension veineuse. Si la pression hydrostatique ainsi créée devient supérieure à la pression osmotique de rappel au pôle veineux de l'anse capillaire, le liquide qui aura quitté le secteur vasculaire au pôle artériel ne pourra plus le regagner au pôle veineux, ce qui entraînera un **oedème**, première manifestation de cette insuffisance cardiaque.

* HYPOPROTÉINÉMIE

La pression osmotique de rappel est créée par les protéines plasmatiques qui ne peuvent pas passer à travers la paroi capillaire. Si leur concentration sanguine venait à diminuer, on assistera à un effondrement de cette pression osmotique et là encore à un oedème. Ce mécanisme se rencontre dans les circonstances suivantes :

a/ Les syndromes néphrétiques : L'atteinte du parenchyme rénal au cours de nombreuses affections (glomérulonéphrite aiguë, néphrite chronique, diabète, intoxication, etc.) peut entraîner une protéinurie abondante.

Cette fuite des protéines plasmatiques par les urines entraînera une hypoprotidémie donc un oedème généralisé.

b/ Les carences alimentaire. Ce sont les oedèmes généralisés des périodes de disette dus là encore à une hypoprotidémie. Cette affection a sévi de façon massive lors de la dernière guerre mondiale dans les camps de prisonniers. Cette affection continue malheureusement à sévir de nos jours dans les pays «pauvres» où des milliers d'individus souffrent d'une malnutrition chronique.

c/ Certains troubles de la perméabilité capillaire pouvant se rencontrer dans les carences vitaminiques (avitaminoses) et certains troubles hormonaux, les modifications de la membrane capillaire font varier les pressions osmotiques et aboutissent à un déséquilibre des échanges avec oedème.

d/ Enfin à l'opposé. Si la pression hydrostatique au niveau du pôle artériel devient inférieure à la pression osmotique de rappel, le passage de liquide du sang vers le secteur interstitiel ne sera plus possible, les échanges avec les tissus disparaissent, un tableau d'anoxie tissulaire sera observé. C'est ce qui se passe au cours d'une hypotension artérielle sévère (h.T.A) consécutive par exemple à une hémorragie importante.

II-2- FILTRATION GLOMÉRULAIRE

De même, au niveau des glomérules rénaux, les échanges entre le secteur vasculaire et l'urine vont être conditionnés par une surpression hydrostatique ; les pressions en présence sont en effet les suivantes :

- * pression hydrostatique dans l'artère afférente glomérulaire = 60mm Hg
- * pression osmotique des protéines plasmatiques = 28mm Hg
- * pression hydrostatique de l'urine glomérulaire = 20mm Hg

Au total, la pression de filtration sera :

$$\Delta P = \Delta P_H - P_O$$

$$\Delta P = 60 - 20 - 28 = 12 \text{ mm Hg}$$

L'urine glomérulaire ne sera donc rien d'autre qu'un **ultrafiltrât du plasma**.

il y a environ 125ml/mn de liquide qui quitte ainsi le secteur vasculaire pour constituer l'urine glomérulaire, ce qui représente une quantité considérable (180 litres par jour). Heureusement, plus de 99% de cette urine sont réabsorbés au niveau de l'anse de Henlé et des tubes contournés proximaux et distaux, ce qui réduit la diurèse à 1,5litre/jour.

Là encore, des perturbations de ces mécanismes pourront apparaître au cours des :

- * Collapsus tensionnels (choc hémorragique par exemple)
- * Néphropathies glomérulaires (glomérulo-néphrite aiguë par exemple)
- * Troubles de l'évacuation glomérulaire (obstacle sur les voies excrétrices urinaires par exemple)

III- DIALYSE ET ÉPURATION EXTRA-RENALE : (E.E.R)

La dialyse réalise une séparation continue de particules par diffusion à travers une membrane dialysante. La membrane placée entre deux solutions joue le rôle de crible. Cette séparation s'effectue non seulement entre grosses et petites molécules, mais aussi entre espèces ioniques et moléculaires.

Nous prendrons, comme type de description, la dialyse in vivo telle qu'elle est réalisée par l'épuration extrarénale.

III-1- DISPOSITIF D'HÉMODIALYSE.

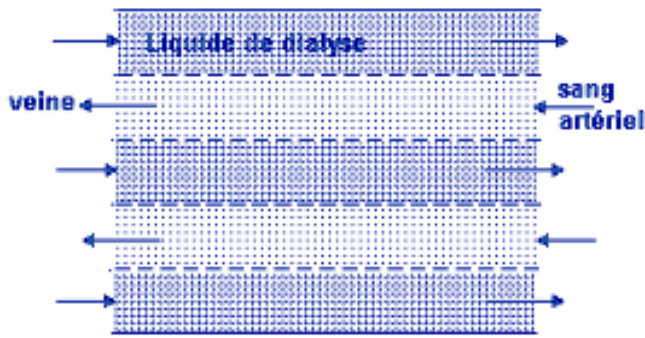


Fig 2

Coupe d'un élément de dialyse pour rein artificiel. Le sang artériel s'épure en passant entre les feuilles de cellophane qui le séparent du liquide de dialyse.

Le sang épuré est réinjecté dans la veine.

Les membranes utilisées sont :

- * Soit naturelles, comme le péritoine (dialyse péritonéale).
- * Soit artificielles : le type le plus répandu en est le cellophane ou ses dérivés comme le «cuprophane» en feuille ou en tube (**rein artificiel**).

Un élément de dialyse est constitué par des feuilles de cellophane superposées, entre lesquelles circule le sang qui doit être épuré. Ce sang prélevé dans une artère est réinjecté après dialyse dans une veine.

Généralement on utilise l'artère et la veine radiale, un shunt artérioveineux (fistule) restant en place chez les sujets devant subir régulièrement des séances d'épuration. Le liquide de dialyse circule à contre-courant (Fig2). Le débit sanguin est compris entre 100 et 300 ml/mn. Le liquide de dialyse est à 35°C. Sa composition dépend de l'état humoral du sujet, elle est adaptée en fonction des réponses des ionogrammes successifs pratiqués chez un sujet en épuration.

L'osmolarité du liquide de dialyse doit être égale à celle du plasma.

III-2- PHÉNOMÈNES INTERVENANT DANS L'HÉMODIALYSE

L'hémodialyse a pour but d'épurer l'organisme des déchets toxiques, le plus souvent endogènes (insuffisance rénale), plus rarement exogène (intoxication).

Au cours de la dialyse, les transferts de soluté et d'eau entre le sang et le liquide de dialyse résultent :

- * avant tout d'une diffusion de solutés en réponse aux gradients de concentration, compte tenu de l'équilibre de Donnan.
- * Plus accessoirement d'une ultrafiltration en réponse aux gradients de pression hydrostatique.

Dans les conditions techniques décrites ci-dessus, une séance d'hémodialyse dure 12 à 15 heures. Pour lutter contre les risques de coagulation à l'intérieur du rein artificiel, on rend le sang incoagulable à l'aide d'héparine puis, lors de la réinjection par voie veineuse, on redonne au sang des constantes de coagulabilité normales grâce à l'antidote de l'héparine qu'est la protamine.

La fréquence des séances d'hémodialyse est fonction du stade d'évolution de l'insuffisance rénale. Elle peut atteindre le rythme d'une séance tous les trois jours.

III-3- LES INDICATIONS DE L'ÉPURATION EXTRA RÉNALE

Elles sont de deux ordres :

A/ DANS L'INSUFFISANCE RÉNALE AIGÜE (I.R.A)

C'est la défaillance brutale des fonctions excrétrices du rein. L'insuffisance rénale aiguë peut se rencontrer au cours de l'évolution d'un assez grand nombre d'affections telles que les néphrites aiguës, les intoxications, les hémolyses aiguës (post-partum ou post-abortum), la thrombose des veines rénales, etc. ; ou lorsqu'existe un obstacle sur les voies excrétrices rénales (lithiase rénale, cancer du rein, de la prostate, etc.).

Dans une telle affection, apparaît après une phase d'agression une phase d'anurie qui si elle persiste évoluera vers le coma azotémique mortel alors que si la diurèse reprend, l'évolution favorable reste possible compte tenu bien sûr du caractère bénin ou malin de l'affection causale.

Dans l'I.R.A ; l'E.E.R sera donc indiquée pour passer le cap de la phase d'anurie.

B/ DANS L'INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE (I.R.C)

Cette affection est caractérisée par un trouble de la concentration des urines, des oedèmes, une anémie et souvent une H.T.A ; elle peut apparaître au décours d'une atteinte infectieuse du rein (G.N.A) ou d'une atteinte vasculaire (H.T.A).

Il n'y a pas d'anurie, mais l'évolution est à long terme péjorative, aboutissant au coma azotémique. C'est pourquoi l'I.R.C représente l'indication fondamentale de l'E.E.R.

La défaillance des fonctions excrétrices du rein va entraîner l'accumulation dans le sang de substances toxiques :

- * **L'urée** (taux normal : 0,35 g/L) dont on considère le taux comme pathologique lorsqu'il excède 0,60 g/L. L'urée en soi n'est pas toxique bien qu'elle soit responsable de certains symptômes rencontrés chez l'urémique (myosis, parotidite, givre d'urée, frottement péricardique terminal...), mais l'augmentation de sa concentration sanguine est un reflet de l'importance de l'atteinte rénale.
 - * **L'acide urique** : qui s'accumulant dans le sang, va donner naissance à des crises de goutte avec accès paroxystiques douloureux siégeant au niveau des gros orteils.
 - * **Les ions K^+** : hyperkaliémie mortelle.
 - * **Les ions Na^+** : hypernatrémie avec rétention d'eau et oedèmes.
 - * **Les ions NH_4^+** : surtout, très toxiques puisqu'ils entraînent un trouble de la régulation de l'équilibre acido-basique avec **acidose métabolique** prélude au coma azotémique.
- L'insuffisance rénale chronique sera donc une impérieuse indication de l'épuration extrarénale pour deux raisons majeures :

- * Permettre la survie de l'urémique en débarrassant son sang des substances toxiques qui s'y sont accumulées.
- * Rendre possible l'attente d'un donneur histocompatible en vue d'une transplantation rénale.

BIBLIOGRAPHIE

Éléments de Biophysique
F. GREMY et F. LETERRIER. Tome 1. Ed : Flammarion.

TESTS D'ÉVALUATION

Test 1

1- Expliquer les mouvements liquidiens au niveau des anses capillaires (schéma de Starling) ; on donne les pressions :

PA = pression artérielle = 40 mmHg

PV = pression veineuse = 15 mm Hg

PO = pression osmotique = 28 mm Hg

PH = pression hydrostatique = 5 mmHg

Sachant que

* au niveau de l'artériole il existe PA et PO

* au niveau de la veinule, il existe PV et PO

* au niveau du liquide interstitiel, il existe PH

2- Qu'est-ce qu'un œdème, comment peut-il se former ?

Test 2 Sachant que

* La pression hydrostatique dans l'artère afférente glomérulaire = 60mm Hg

* La pression osmotique des protéines plasmatiques = 28 mm Hg

* La pression hydrostatique de l'urine glomérulaire = 20 mm Hg

Calculer la pression de filtration glomérulaire.

Test 3

A- On effectue des mesures dans le plasma du sang d'un sujet et on trouve

* Urée = 4g/l osmolarité efficace = 300 mmol.L⁻¹

1- Calculer l'osmolarité de ce plasma (Masse molaire de l'urée = 60 g.mol⁻¹).

2- Ce plasma est-il iso-osmolaire, hypo-osmolaire, hyper-osmolaire ou isotonique à un plasma normal ?

3- Dans ce sang, les hématies ont une osmolarité efficace de 300 mmol.L⁻¹. Quelle est la concentration de l'urée dans les hématies ? Quelle est leur osmolarité ?

B- Pour ramener ce taux d'urée à la valeur normale 0,25 g.L⁻¹ ; on fait subir à ce sang une épuration par dialyse. On l'oppose, par l'intermédiaire d'une membrane hémiperméable, à une solution dans un bain de dialyse dont la composition est la suivante :

glucose 2 g M = 180 g.mol⁻¹

NaCl 6,30 g M = 58,5 g.mol⁻¹

NaHCO₃ 2,65 g M = 84 g.mol⁻¹

CaCl₂ 0,30 g M = 111 g.mol⁻¹

KCl de 0,30 g à zéro selon la kaliémie du sujet ; M = 74,5g.mol⁻¹

H₂O complément à 1000 ml

1- Le plasma du sujet et le bain de dialyse sont-ils : isoosmolaires, isoosmotiques, ou isotoniques ? Pourquoi ?

2- Pourquoi a-t-on choisi une membrane hémiperméable ?

THÈME VI : LE MILIEU INTÉRIEUR BIOCHIMIE

Le Module Biochimie du thème VI comporte les chapitres suivants :

CHAPITRE I : INTRODUCTION A LA BIOCHIMIE CLINIQUE

CHAPITRE II : EXPLORATION BIOCHIMIQUE DU MÉTABOLISME HYDROMINÉRAL

CHAPITRE III : EXPLORATION BIOCHIMIQUE DES COMPOSÉS AZOTES
NON PROTÉIQUES

CHAPITRE IV : EXPLORATION BIOCHIMIQUE DES PROTÉINES PLASMATIQUES

CHAPITRE V : EXPLORATION DE L'ÉQUILIBRE ACIDO-BASIQUE

CHAPITRE VI : EXPLORATION BIOCHIMIQUE DU MÉTABOLISME GLUCIDIQUE

CHAPITRE VII : EXPLORATION BIOCHIMIQUE DES LIPOPROTÉINES
PLASMATIQUES

CHAPITRE VIII : EXPLORATION BIOCHIMIQUE DES ENZYMES SÉRIQUES

INTRODUCTION A LA BIOCHIMIE CLINIQUE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Définir la biochimie clinique.
- 2- Définir les domaines d'application médicale des paramètres biochimiques.
- 3- Préciser les conditions de prescription d'une analyse médicale.
- 4- Connaître les conditions de prélèvement et de transport d'un échantillon sanguin et urinaire, ainsi que les sources d'erreur qui leur sont relatives.
- 5- Connaître le mode d'expression des résultats en biochimie clinique.
- 6- Définir l'intervalle de référence
- 7- Connaître l'impact des différents facteurs biologiques dans l'interprétation des paramètres biochimiques.

PLAN

1-INTRODUCTION

2- RÉPERTOIRE DES EXAMENS BIOCHIMIQUES

2-1-Milieus biologiques utilisés

2-2-Paramètres analysés

3-PLACE DE LA BIOCHIMIE CLINIQUE EN MÉDECINE

3-1-Application au diagnostic

3-2-Application au dépistage

3-3-Application au suivi des patients

3-4-Application au pronostic

4-LA PRESCRIPTION MÉDICALE

5-LES PRÉLÈVEMENTS

5-1-Les prélèvements sanguins veineux

Les tubes de prélèvement

Les conditions de prélèvement

Le jeûne

La position du patient

Le personnel

L'horaire et le matériel

Le garrot

La technique

5-2-Les prélèvements urinaires

Les urines des 24 heures

Échantillon d'urine fraîche

5-3-Transport de l'échantillon

5-4-Sources d'erreur

Réceptacle incorrect

Site de prélèvement inadapté

Stase prolongée pendant la ponction veineuse

Technique de prélèvement sanguin incorrecte

Erreur de temps

Modalité de transport et de conservation incorrects

Exposition à la lumière

6- EXPRESSION DES RÉSULTATS

7- INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

7-1-Notion d'intervalle de référence

7-2-Facteurs biologiques affectant l'interprétation des résultats

Sexe

Âge

Variations nycthémérales et rythme circadien

Cycle menstruel

La grossesse

La ménopause

Le stress

L'exercice musculaire

Le régime

Le tabagisme chronique

Le traitement

8-CONCLUSION

1-INTRODUCTION

La biochimie clinique est le domaine de la biologie médicale qui est concerné par l'analyse des molécules contenues dans les fluides corporels (sang, liquide céphalo-rachidien, urines, etc..) et l'interprétation des résultats de ces analyses dans le but de leur intégration en tant qu'outils pour la prise en charge des malades.

2- RÉPERTOIRE DES EXAMENS BIOCHIMIQUES

2-1- MILIEUX BIOLOGIQUES UTILISÉS

Différents milieux sont utilisés pour les analyses biochimiques et sont résumés dans le tableau 1. Toutefois, la majorité des examens biochimiques sont effectués sur le sang veineux ou les urines.

Tableau 1- Milieux utilisés pour les analyses biochimiques

Sang veineux
Sang artériel
Sang capillaire
Urine
Fèces
Liquide céphalo-rachidien (LCR)
Crachat et salive
Tissus et cellules
Liquide d'aspiration (pleural, ascite, articulaire, intestinal..)
Calculs

2-2-PARAMÈTRES ANALYSÉS

Il existe plus de 400 différents examens pouvant être effectués par des laboratoires de biochimie clinique. Ces examens varient du très simple, comme le dosage du glucose, aux dosages extrêmement complexes comme l'analyse de l'ADN.

Tous les laboratoires de biochimie peuvent effectuer les analyses « courantes », c'est-à-dire les examens les plus souvent demandés et dont la fréquence s'explique par leur utilité pour un grand nombre de patients (Tableau 2). Les dosages qui sont rarement effectués peuvent être envoyés à un laboratoire spécialisé. Ceci est intéressant du point de vue des coûts et de la fiabilité.

Des examens dynamiques nécessitent plusieurs échantillons prélevés à intervalles réguliers après un stimulus biochimique comme la charge en glucose dans l'épreuve d'hyperglycémie provoquée pour le diagnostic du diabète sucré.

Tableau 2- Répertoire analytique du laboratoire de biochimie clinique

TESTS BIOCHIMIQUES DE BASE	TESTS SPECIALISES
Glucose	Hormones
Glycémie post prandiale	Protéines spécifiques
Hémoglobine glyquée	Oligoéléments
Urée	Vitamines
Créatinine	Drogues (médicaments ou toxiques)
Clearance créatinine	Analyses de l'ADN
Ionogramme	
Protides	
Calcium	
Phosphore	
Magnésium	
Cholestérol	

Triglycérides

HDL cholestérol

LDL cholestérol

Amylase

Acide urique

Fer sérique

Enzymes sériques : aminotransférases, phosphatases.

Bilirubine totale et directe

C-Réactive Protéine

Microalbumine

3-PLACE DE LA BIOCHIMIE CLINIQUE EN MÉDECINE

La biochimie clinique n'est qu'une branche de la médecine de laboratoire et le laboratoire de biochimie clinique n'est qu'un des intervenants dans l'évaluation globale et la prise en charge du patient (figure 1).

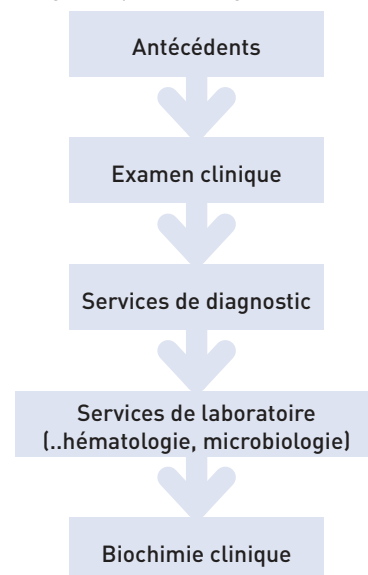


Figure 1-Place de la biochimie clinique en Médecine

Les paramètres biochimiques sont largement utilisés en médecine à la fois dans les pathologies qui ont une base métabolique évidente (par exemple le diabète sucré) ou celles pour lesquelles les perturbations biochimiques sont une conséquence de l'état pathologique lui-même (par exemple l'insuffisance rénale).

Les paramètres biochimiques sont appliqués au diagnostic, au pronostic, au suivi et au dépistage (figure 2).

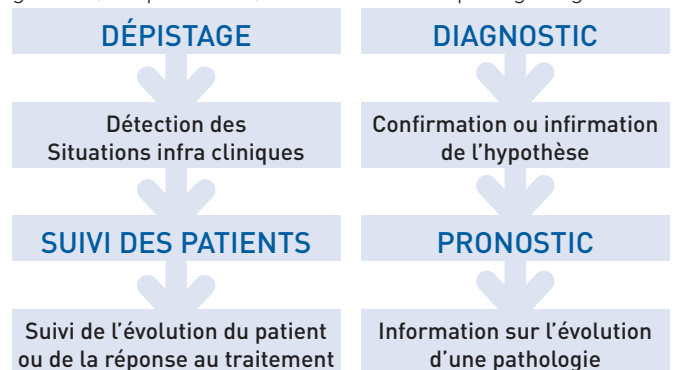


Figure 2- Domaines d'utilisation des paramètres biochimiques

3-1- APPLICATION AU DIAGNOSTIC

Le diagnostic médical repose sur l'histoire du patient, sur les signes cliniques trouvés lors de l'examen, sur les résultats des explorations radiologiques, biologiques et physiologiques.

Les explorations sont choisies pour infirmer ou confirmer une hypothèse diagnostique.

3-2- APPLICATION AU DÉPISTAGE

Les paramètres biochimiques sont largement utilisés pour rechercher la présence d'un état infra clinique (exemple dépistage du diabète sucré par les tests de glycémie et de glycémie post prandiale).

3-3- APPLICATION AU SUIVI DES PATIENTS

Une indication importante des paramètres biochimiques est le suivi des pathologies et de l'effet des traitements. Dans ce but, on doit disposer de marqueurs appropriés (exemple l'hémoglobine glyquée dans le suivi des diabétiques).

Le suivi biochimique permet aussi de déceler les complications d'un traitement (exemple l'hypokaliémie avec certains médicaments diurétiques)

Il est aussi largement utilisé pour la surveillance de la toxicité iatrogène, en particulier au cours des essais cliniques, mais aussi parfois dans des schémas thérapeutiques bien établis.

3-4- APPLICATION AU PRONOSTIC

Les paramètres biochimiques peuvent aussi fournir des informations sur l'évolution d'une pathologie et certains sont prescrits spécifiquement dans ce but.

4-LA PRESCRIPTION MÉDICALE

Le médecin doit toujours avoir à l'esprit qu'en demandant un examen biochimique, il pose une question au laboratoire. La réponse du laboratoire à cette question met en jeu un grand nombre d'étapes dont le point de départ est représenté par la prescription médicale. Celle-ci doit être faite par une personne habilitée à le faire et doit comporter les éléments suivants :

- Nom du patient, sexe et date de naissance,
- numéro d'identification propre à l'établissement hospitalier, le cas échéant,
- service/clinique/adresse,
- nom du médecin demandeur (n° téléphone pour les demandes urgentes),
- diagnostic ou contexte clinique,
- examen(s) demandé(s),
- nature du prélèvement,
- traitements médicaux en cours,
- la notion d'urgence est importante à préciser.

Il est fondamental de fournir suffisamment d'informations pour l'identification du patient.

Des données cliniques précises et la nature des traitements suivis, notamment médicamenteux sont nécessaires pour permettre aux biologistes d'apprécier les résultats dans le contexte clinique. Les médicaments sont susceptibles d'interférer in vitro avec les méthodes analytiques ou de provoquer des modifications in vivo simulant un processus pathologique.

5-LES PRÉLÈVEMENTS

Différents échantillons sont utilisés pour les analyses biochimiques. Toutefois, la majorité des examens sont effectués sur le sang veineux (sérum ou plasma) ou sur les urines.

5-1- LES PRÉLÈVEMENTS SANGUINS VEINEUX

TUBES DE PRÉLÈVEMENTS

Un prélèvement de sang veineux est effectué sur différents tubes selon le paramètre à doser et l'automate d'analyse sur lequel est réalisée la détermination. Il peut se faire sur tube sec sans anticoagulant (dosage sur du sérum) ou sur tube avec anticoagulant (dosage sur plasma). À la différence du plasma, le sérum ne contient pas de fibrinogène (protéine de la coagulation). En effet, le sérum est obtenu à partir du sang total après que le processus de la coagulation se soit effectué. Le plasma est le surnageant virtuellement acellulaire, obtenu par centrifugation du sang total, dont la coagulation a été inhibée par la présence de substances anticoagulantes. L'anticoagulant peut être l'héparine, l'éthylène diamine tétra acétique (EDTA), ou le fluorure. Ceux-ci agissent par différents mécanismes.

- L'héparine favorise l'inhibition du facteur Xa par l'anti-thrombine III.
- L'EDTA et le citrate ne sont employés que dans des cas particuliers en biochimie. Leur action anticoagulante résulte de leur pouvoir complexant du calcium.
- Les inhibiteurs de la glycolyse, fluorure de sodium et moniodacétate doivent être utilisés pour les prélèvements destinés à la mesure de la glycémie, dès que le prélèvement ne peut être traité dans l'heure qui suit le recueil. L'ion fluorure inhibe une enzyme de la glycolyse, l'énolase, alors que le moniodacétate agit sur la glycéaldéhyde 3 phosphate déshydrogénase.

Les avantages de l'utilisation d'un anticoagulant sont multiples:

- gain de temps, car l'attente pour permettre au processus de la coagulation de se dérouler est inutile,
- le volume du plasma récupéré est supérieur à celui du sérum (5 à 20 %) obtenu à partir d'un échantillon de même volume de sang prélevé sans anticoagulant,
- les risques d'hémolyse et de thrombocytolyse sont réduits.

En revanche, le plasma ne peut pas être utilisé dans certains cas, par exemple pour les électrophorèses des protéines, sous peine d'observer un pic supplémentaire, celui du fibrinogène présent entre la zone des bêta et des gammaglobulines.

D'une façon générale, l'héparine est l'anticoagulant le plus répandu pour les analyses de biochimie. Cependant:

- il ne protège pas de la dégradation du glucose,
- présenté sous forme de solution, il introduit un facteur de dilution non maîtrisé,
- les sels de sodium sont à proscrire pour les dosages du sodium.

CONDITIONS DE PRÉLÈVEMENT

Afin de mieux maîtriser les facteurs susceptibles d'entraîner une variabilité, les conditions de prélèvement sont standardisées :

- **Le jeûne:** Le patient doit être à jeun (sauf exception) n'ayant pas consommé de cigarettes.

Le jeûne est l'état dans lequel se trouve un sujet qui n'a pas ingéré d'aliments depuis au moins 10 heures. Il est conseillé pour un grand nombre d'analyses sanguines, de préférer un prélèvement effectué à jeun pour éviter des erreurs liées à une augmentation transitoire de certains métabolites en période post prandiale ou à des difficultés de dosage avec les techniques utilisées, liées à la turbidimétrie du sérum. Le respect du jeûne strict est indispensable avant toute exploration du métabolisme des glucides et des lipides, car les produits du métabolisme de ces aliments, rapidement absorbés, sont présents dans la circulation sanguine en moins d'une heure. Les conséquences de la phase post prandiale sur le prélèvement sont liées à la présence des chylomicrons, particules lipidiques très riches en triglycérides et qui interfèrent soit directement dans l'exploration des anomalies lipidiques, soit indirectement par le trouble qu'ils provoquent au moment de la mesure de la concentration d'autres constituants.

La caféine présente dans de nombreux aliments ingérés quotidiennement agit sur plusieurs systèmes enzymatiques du métabolisme physiologique. Elle inhibe la phosphodiesterase et donc ralentit la dégradation de l'AMP cyclique qui s'accumule. Ceci favorise l'augmentation de la concentration de glucose sanguin. Les conséquences sur la glycémie sont d'autant plus intenses que celle-ci est déjà augmentée suite à la néoglucogenèse due à la sécrétion d'adrénaline induite par la caféine. En activant la triglycéride lipase, la caféine augmente la concentration des acides gras non estérifiés liés à l'albumine. Ce mécanisme a pour conséquence de diminuer le nombre de sites de l'albumine disponibles pour des liaisons avec de nombreuses substances endogènes (hormones, vitamines) comme exogènes (médicaments) par un effet de déplacement. Le tabagisme récent induit des modifications d'origine métabolique résultant de l'augmentation des concentrations sériques/plasmiques des acides gras, de l'adrénaline, du glycérol libre, de l'aldostérone et du cortisol. Ces modifications se produisent dès la 1re heure suivant la consommation de 1 à 5 cigarettes.

Afin d'éviter toute interprétation erronée des résultats d'analyses biologiques, il est recommandé d'observer un jeûne strict de 12 heures avant le prélèvement (sauf exception). En cas de doute, il est recommandé de se renseigner auprès du biologiste qui réalisera l'examen, car les interférences sont variables selon la technique appliquée dans le laboratoire.

- **La position du patient:** Le patient doit être au repos, assis en position semi-allongée. En effet, la position du patient influe sur la concentration de certains paramètres tels que l'aldostérone. Il faut par ailleurs le rassurer et lui expliquer la procédure du prélèvement.
- **Le personnel:** Le prélèvement doit être effectué par un personnel qualifié. Certains prélèvements sanguins tels que les prélèvements pour gaz du sang sont réservés aux médecins.
- **L'horaire et le matériel:**
 - L'heure du prélèvement est standardisée entre 7H et 10 H du matin.

- Le matériel de prélèvement doit être soigneusement préparé (aiguille, garrot, antiseptique..).

- Le prélèvement doit se faire dans le tube approprié à l'analyse.

- **Le garrot:** La pose du garrot ne doit pas dépasser une minute. Le garrot est utilisé pour faciliter la recherche de la veine et l'exercice physique des muscles de l'avant-bras est préconisé pendant la pose du garrot, afin d'optimiser la mise en évidence du trajet veineux.

- **La technique:**

- le prélèvement se fait généralement au pli du coude, dans une veine non perfusée après désinfection.
- le volume du prélèvement est indiqué sur le tube. Celui-ci respecte le ratio anticoagulant/prélèvement.
- Le tube doit être fermé avec le bouchon correspondant et mélangé doucement pour homogénéiser le prélèvement avec l'anticoagulant.
- Tous les prélèvements doivent être considérés comme potentiellement contaminants (virus de l'hépatite B, C, VIH). L'usage de gants est indispensable.
- Les prélèvements doivent être correctement identifiés (nom et prénom du malade bien lisibles) et transportés au laboratoire dans les plus brefs délais.

5-2-PRÉLÈVEMENTS URINAIRES

- **Urines de 24 heures:** Le sujet vide sa vessie à une heure déterminée (exemple 6 H) et l'urine est jetée. À partir de ce moment, la totalité des urines émises est recueillie dans un récipient propre jusqu'au lendemain à la même heure (c'est-à-dire que les urines de 6 H feront partie du recueil). Les urines sont conservées à + 4 °C.

- **Échantillon d'urines fraîches:** Le sujet vide sa vessie à n'importe quel moment de la journée et recueille la totalité de l'urine qu'il transmet au laboratoire.

5-3-TRANSPORT DE L'ÉCHANTILLON

Les prélèvements doivent être transportés au laboratoire dans les délais, tout en respectant les conditions d'acheminement.

Le transport doit se faire dans un emballage étanche et résistant en position verticale. Il faut faire attention à ne jamais emballer les tubes dans les bons de demande d'examen.

Le maintien du prélèvement à une température donnée est impératif pour certaines analyses pendant toute la phase préanalytique. Le maintien à + 4°C est fréquemment indispensable afin de limiter l'activité du métabolisme cellulaire qui modifie certains constituants tels que les gaz du sang, l'ammoniac, les acides aminés, les hormones peptidiques, etc..

Le transport doit se faire dans des délais brefs d'au maximum 4 heures. Par ailleurs, le transport se fait à l'abri de la lumière et à température ambiante sauf exception.

5-4-SOURCES D'ERREUR

Des résultats erronés sont une source de problèmes et peuvent représenter un véritable danger. Les principales sources d'erreur sont :

- RÉCIPIENT INCORRECT

La nature du tube de prélèvement est importante à considérer, pour éviter une erreur pré analytique et un faux résultat rendu au clinicien. Exemples :

- une glycémie prélevée sur un tube sec conduit à un résultat très bas de la glycémie, si l'analyse n'est pas immédiate (< 1 h),
- le sang qui a été exposé même brièvement à l'EDTA aura une concentration de calcium fortement réduite.
- un tube contenant l'héparinate de lithium rebouchonné par le bouchon d'un tube contenant l'EDTA serait à l'origine d'une majoration de la valeur de potassium dans le sang, car l'EDTA est tripotassique.

En règle générale, si un échantillon est recueilli dans un récipient incorrect, il ne doit jamais être décanté dans un autre type de tube.

- SITE DE PRÉLÈVEMENT INADAPTÉ

Lors du prélèvement d'un patient recevant une perfusion intraveineuse, le sang doit être recueilli au niveau d'un site situé à distance (bras opposé) pour éviter toute interférence.

- STASE PROLONGÉE PENDANT LA PONCTION VEINEUSE

Un garrot maintenu trop longtemps, un prélèvement difficile, peut entraîner des modifications du taux de plusieurs paramètres sanguins. Dans ce cas :

- L'eau du plasma diffuse dans l'espace interstitiel et l'échantillon sérique ou plasmatique obtenu sera concentré. Les protéines et les composants liés aux protéines plasmatiques, comme le calcium seront faussement augmentés.

TECHNIQUE DE PRÉLÈVEMENT SANGUIN INCORRECTE.

La difficulté à obtenir un échantillon sanguin ou son agitation vigoureuse peut entraîner une dégradation des hématies ou hémolyse. Les constituants présents en forte concentration dans les hématies se répandent dans le sérum ou le plasma. L'hémolyse se reconnaît par une couleur plus ou moins rosâtre à franchement rouge du sérum/plasma obtenu après centrifugation. Toutefois une hémolyse peut être présente, sans que le phénomène soit détectable par l'œil humain. Le résultat final est entaché d'une erreur par excès qui peut être très importante (potassium, LDH, transaminases, etc..).

- ERREUR DE TEMPS

La plus grande source d'erreur dans la mesure de toute substance dans les urines des 24H est de ne pas respecter les horaires pour le recueil de l'échantillon.

- MODALITÉS DE TRANSPORT ET DE CONSERVATION INCORRECTES.

Le contact prolongé du plasma ou sérum avec les éléments figurés du sang peut être responsable de modification du taux de certains paramètres.

Les raisons principales sont récapitulées ci-après :

- Diffusion du contenu des cellules dans le plasma : potassium, phosphore, LDH.
- utilisation par le métabolisme cellulaire : glucose, oxygène, acide pyruvique.
- production par le métabolisme cellulaire : ammoniac, acide lactique..
- Dégradation ou transformation par les enzymes cellulaires.

- EXPOSITION À LA LUMIÈRE:

Certaines substances sont photosensibles telles que les porphyrines, la bilirubine et de nombreuses vitamines. L'exposition à la lumière entraîne des erreurs par défaut, de leur concentration.

6-EXPRESSION DES RÉSULTATS

La plupart des analyses biochimiques sont quantitatives, même s'il existe également des tests simples qualitatifs ou semi-quantitatifs, comme ceux recherchant la présence de glucose dans les urines.

Les résultats sont rapportés sous forme de concentrations. Les unités du système international doivent être définitivement adoptées (mol/l) à l'exclusion des anciennes unités pondérales (g/l). La quantité d'une substance quelconque s'exprime en mol = ensemble de 6.1023 particules matérielles. Le poids de cet ensemble définit le poids moléculaire de la particule. Chaque fois que le poids moléculaire est connu avec précision, les résultats sont exprimés en concentrations molaires.

Des tables de conversion sont aujourd'hui disponibles dans tous les laboratoires (tableau 3).

Tableau 3- Facteur de conversion des concentrations molaires (mol)

en concentrations pondérales (g)

PARAMÈTRE (mol/l)	CONVERSION (g/l)
Glucose	x 0.18 = g/l
Urée	x 0.06 = g/l
Créatinine	x 0.113 = mg/l
Sodium	x 1 = meq/l
Potassium	x 1 = meq/l
Chlorures	x 1 = meq/l/l
Calcium	x 40 = mg/l
Phosphore	x 31 = mg/l
Cholestérol	x 0.387 = g/l
Triglycérides	x 0.857 = g/l
Acide urique	x 0.168 = mg/l
Fer sérique	x 0.0558 = mg/l
Bilirubine totale	x 0.585 = mg/l
Bilirubine directe	x 0.585 = mg/l

Il faut noter que la concentration d'une substance dans un compartiment organique est un rapport : celui de la quantité de substance dissoute dans un volume connu. Une concentration peut varier pour deux raisons : la quantité de substance peut augmenter ou diminuer ; le volume de liquide dans lequel la substance est dissoute peut changer de la même manière.

Les macromolécules comme les protéines sont exprimées en unité de masse (g) par litre, car le poids moléculaire des protéines n'est pas connu avec précision.

Les enzymes ne sont généralement pas exprimées en moles, mais en unité d'activité enzymatique. Les dosages enzymatiques sont effectués de telle sorte que l'activité mesurée soit directement proportionnelle à la quantité d'enzyme présente.

Les résultats des gaz du sang (pO_2 , pCO_2) sont exprimés en Kilo Pascals (kPa) ou en mm Hg.

7-INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

7-1-NOTION D'INTERVALLE DE RÉFÉRENCE

Les résultats des examens biochimiques sont généralement comparés à un intervalle de référence. Pour définir l'intervalle de référence d'un paramètre, on établit la distribution des valeurs du paramètre dans une population en bonne santé (l'échantillon doit être représentatif et de taille suffisante). Si la distribution est normale, la théorie statistique prédit qu'environ 95 % des valeurs de la population se situeront dans un intervalle donné par la moyenne \pm deux fois l'écart-type (figure 3).

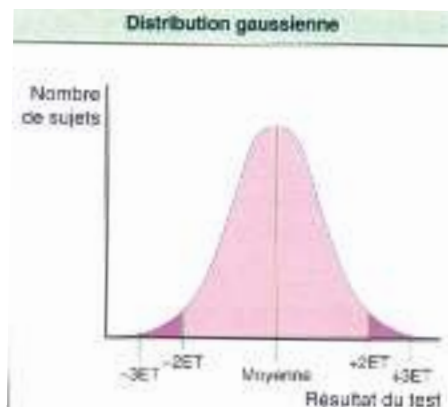


Figure 3- Distribution normale des valeurs d'un paramètre biochimique

L'intervalle de référence représente en termes statistiques, l'intervalle de « normalité ». Il en découle plusieurs notions importantes :

- Bien que la population soit supposée en bonne santé, 5 % des individus présentent par définition des valeurs en dehors de l'intervalle défini.
- L'utilisation du mot « normal » dans sa signification statistique ne correspond pas à ce que l'on comprend généralement par ce terme, c'est-à-dire « physiologique ».

L'intervalle de normalité ainsi défini et calculé présente un intérêt très limité. Il permet seulement de définir l'intervalle des valeurs le plus souvent rencontré chez des individus comparables à ceux chez qui l'intervalle a été défini.

Dans la pratique, il n'existe pas de limites rigides différenciant la population malade de la population saine; toutefois, plus le résultat est loin des limites de la fourchette de référence, plus il a des chances d'indiquer la présence d'une maladie. Dans certaines situations, il est utile de définir des « limites d'action » auxquelles une intervention appropriée doit être faite en réponse à un résultat biochimique. Comme par exemple on peut citer le cholestérol plasmatique.

Il est important de comprendre qu'un résultat anormal n'indique pas toujours la présence d'une maladie, pas plus qu'un résultat normal n'indique l'absence d'une maladie. Veiller à ne pas réagir excessivement à un résultat légèrement anormal chez un sujet sain.

7-2-FACTEURS BIOLOGIQUES AFFECTANT L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

La discrimination entre résultats normaux et anormaux est affectée par divers facteurs physiologiques qui doivent être pris en compte avant d'interpréter tout résultat. Ces facteurs sont les suivants:

- LE SEXE: Il s'agit d'un facteur très important à prendre en considération surtout pour les paramètres sous la dépendance de mécanismes hormonaux, ou ceux liés à la masse musculaire du sujet (créatinine).

Exemple, la ferritinémie des femmes en période d'activité génitale est toujours abaissée (de 2 à 4 fois) par rapport à celle de l'homme du même âge, conséquence de la spoliation sanguine régulière subie lors de chaque menstruation.

- L'ÂGE: La plupart des constituants plasmatiques de l'organisme sont influencés par ce paramètre. Il conviendra de bien connaître les variations de chaque analyse selon qu'elle est effectuée chez le nouveau-né, le nourrisson, le jeune enfant, l'enfant en période de croissance, l'adolescent, l'adulte ou le vieillard, pour une interprétation judicieuse des résultats. À titre d'exemple, la phosphatase alcaline sérique d'un enfant en période de croissance est 3 à 7 fois plus élevée que celle de l'adulte.

- LES VARIATIONS NYCTHÉMERALES ET RYTHME CIRCADIEN:

La concentration plasmatique de certains analytes fluctue au cours de la journée. Ce phénomène est lié à la variation du métabolisme pendant les périodes diurnes et nocturnes et pendant le sommeil. Ce rythme retentit sur la concentration plasmatique de nombreuses hormones ainsi que celle des substrats dont le métabolisme est influencé par les synthèses hormonales. Il convient de tenir compte de ces variations pour interpréter certains résultats chez les sujets dont le rythme nyctéméral est inversé.

Il existe des variations saisonnières. Les principales sont celles du 25 OH cholécalciférol qui augmente en été et celle de la tri-iodothyronine qui au contraire diminue l'été d'environ 20%.

- LE CYCLE MENSTRUEL: Le profil hormonal varie au cours du cycle menstruel. Par exemple, la concentration d'aldostérone plasmatique est deux fois plus élevée avant l'ovulation que pendant la phase folliculaire. De la même façon, la concentration de rénine plasmatique est plus élevée en période pré ovulatoire. Le cholestérol sérique diminue significativement pendant l'ovulation. Fer et phosphate sérique diminuent pendant la période de menstruation.

- LA GROSSESSE: Pendant la grossesse normale, la production hormonale influence non seulement la concentration des hormones circulantes, mais également celle de nombreuses autres substances du métabolisme. Au cours de la grossesse normale, le volume plasmatique s'élève de 2600 ml à 3900 ml. La filtration glomérulaire augmente d'un taux pouvant atteindre 50 % au cours du 3e trimestre.

Parmi les mécanismes responsables des principales modifications observées, on citera les suivants :

- induction enzymatique : phosphatases alcalines
- hémolisation : protéines totales, albumine
- augmentation des protéines de transport : thyroxine, lipides, céruloplasmine
- accélération du processus métabolique : clairance de la créatinine
- situation carencielle liée à une augmentation des besoins : fer, ferritine

- LA MÉNOPAUSE: Elle est à l'origine de modifications de différents métabolismes qui devront être prises en compte pour interpréter correctement les résultats des examens effectués. On assiste en effet après la ménopause, à une augmentation des concentrations plasmatiques du cholestérol, des phosphates, de l'acide urique, du calcium, des phosphatases alcalines, de la ferritine et une diminution de la progestérone suivie de celle des œstrogènes.

- LE STRESS: L'importance du stress est fréquemment sous-estimée. Cependant, il provoque spécifiquement la sécrétion d'hormones notamment surrénaliennes et thyroïdiennes. Il est également susceptible d'augmenter la concentration du cholestérol, des triglycérides, des acides gras, du glucose et de l'acide urique.

- L'EXERCICE MUSCULAIRE: les changements de la concentration des analytes pendant l'exercice sont dus :

- aux déplacements des liquides entre le secteur intravasculaire et le compartiment interstitiel,
- aux pertes par la sueur
- aux sécrétions hormonales: augmentation entre autres des catécholamines, du cortisol, du glucagon et diminution de l'insuline. Ces modifications stimulent la production de glucose.

On observe également une augmentation de l'acide urique sanguin, en relation avec une réduction de l'excrétion urinaire, elle-même due à l'augmentation des lactates.

Chez les marathoniens, des anomalies dans les concentrations de créatine kinase (CK) sont mises en évidence. Les iso-enzymes CK MB augmentent jusqu'à plus de 8% des CK totales, sans signe d'une quelconque altération des fonctions myocardiques.

- LE RÉGIME: En ce qui concerne les conséquences des régimes à long terme, les variations que l'on met en évidence sont liées à la composition des aliments ingérés, à leur association, tout autant qu'à leur quantité. Il sera très difficile d'apprécier leur impact sur la variation des résultats. Ainsi par exemple, une alimentation riche en viande et protéines aura pour effet une élévation de l'urée et de l'uricémie. Certains sujets ont des habitudes alimentaires particulières, qu'il convient de connaître pour interpréter les résultats. Un exemple est représenté par l'exploration du statut en fer chez les végétariens.

- LE TABAGISME CHRONIQUE: Il modifie, hormis le nombre de leucocytes circulants, la concentration de la carboxyhémoglobine, des lipoprotéines plasmatiques, l'activité de nombreuses enzymes, les hormones, vitamines, marqueurs tumoraux et métaux lourds. L'importance des modifications induites dépend de la quantité de tabac consommé, de sa nature (cigarettes, cigares, narguilé) et de la technique d'imprégnation (avec ou sans inhalation). Des facteurs extérieurs tels que la présence et la nature des goudrons résultant de la combustion du papier accompagnant le tabac ont également une influence. Enfin, l'âge et le sexe du fumeur sont responsables de variations individuelles.

- LES TRAITEMENTS: Un grand nombre de médicaments influence les résultats des analyses biologiques, soit de façon directe par un mécanisme métabolique, soit indirectement par les interférences qu'ils provoquent pendant le dosage proprement dit.

Afin de pouvoir interpréter rigoureusement ces résultats, le biologiste doit être informé de la façon la plus précise possible des traitements en cours ainsi que de leur mode d'administration. Dans certains cas, il sera préférable de réaliser le prélèvement avant l'instauration du traitement, ou après observation d'une fenêtre thérapeutique d'une durée appropriée, sous peine que le résultat ne soit pas interprétable, donc inutile.

8-CONCLUSION

L'analyse des molécules contenues dans les fluides corporels permet de répondre à différentes questions que le médecin se pose par rapport à son malade et constitue de ce fait un outil parmi plusieurs autres pour le diagnostic et la prise en charge thérapeutique.

MÉTABOLISME HYDROMINÉRAL

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1 - Définir la notion de capital hydrique en fonction de l'âge, du sexe et sa répartition selon les tissus.
- 2 - Identifier les 3 principaux compartiments liquidiens de l'organisme.
- 3 - Décrire les échanges mettant en rapport le milieu intérieur et le milieu environnant en mettant en valeur la place particulière du liquide plasmatique.
- 4 - Énoncer la composition ionique en mEq/l du compartiment plasmatique.
- 5 - Décrire les différentes formes plasmatiques du Ca, Mg et P en précisant leur proportion et leur rôle respectif.
- 6 - Distinguer les principales différences de composition ionique caractérisant chacun des 3 secteurs.
- 7 - Apprécier l'effet de l'hémolyse et de la diffusion ionique sur les résultats des dosages plasmatiques.
- 8 - Rapporter au poids corporel les volumes en eau de chaque compartiment
- 9 - Enumérer les principales entrées et voies d'élimination de l'eau, du Na, K, Cl, Ca Mg et P.
- 10 - Décrire les mouvements hydro électrolytiques à travers la membrane cellulaire.
- 11 - Indiquer les éléments qui permettent d'évaluer les variations du capital hydrique.
- 12 - Indiquer les paramètres biologiques permettant une exploration indirecte des variations des volumes liquidiens.
- 13 - Citer les éléments habituellement dosés dans le cadre d'un ionogramme et les renseignements apportés par le dosage de chaque élément.

PLAN

I- LES COMPARTIMENTS LIQUIDIENS DE L'ORGANISME

A) CAPITAL HYDRIQUE ET SA DISTRIBUTION

- 1) Variations physiologiques
- 2) Distribution
 - a) degré d'hydratation des tissus
 - b) secteurs hydriques
 - c) cas du nourrisson

B) COMPOSITION IONIQUE DES SECTEURS HYDRIQUES

- 1) Schéma de GAMBLE
- 2) Particularités ioniques

II- ECHANGES HYDROELECTROLYTIQUES

A) LES BILANS

- 1) Capital hydrominéral
- 2) Apports et éliminations
 - a) Eau
 - b) Na, K et Cl

c) Ca, Mg et P

B) LES MOUVEMENTS HYDROELECTROLYTIQUES

- 1) À travers la membrane capillaire
- 2) À travers la membrane cellulaire
- 3) Les déplacements liquidiens

III- EXPLORATION DE L'ÉQUILIBRE HYDROMINÉRAL

A) ÉVALUATION DES VARIATIONS DU CAPITAL HYDRIQUE

B) MESURE DES COMPARTIMENTS HYDRIQUES

C) MÉTHODES INDIRECTES D'EXPLORATION

- 1) Cryoscopie
- 2) Ionogramme plasmatique
 - a : définition
 - b : valeur sémiologique

IV- LES TROUBLES HYDROELECTROLYTIQUES

L'eau représente le constituant le plus abondant de notre organisme : $\geq 50\%$ du poids du corps. Elle participe par ses molécules autant par ses ions OH^- et H^+ à tous les échanges et à de très nombreuses réactions. Son métabolisme et son étude ne peuvent pas être dissociés des électrolytes.

I- LES COMPARTIMENTS LIQUIDIENS DE L'ORGANISME

A) CAPITAL HYDRIQUE ET SA DISTRIBUTION

Chez le sujet de 10 à 40 ans, la masse d'eau contenue dans l'organisme ou eau somatique totale (E.S.T) représente 60 % du poids corporel (P.C.)

1) VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

Le pourcentage de l'EST subit des variations physiologiques selon :

- le degré d'adiposité : en raison de la pauvreté de la masse grasseuse en eau, l'EST est relativement plus importante chez l'homme adulte (60 % PC) que chez la femme adulte (50 % PC), chez le maigre (70 % PC) que chez l'obèse (50 % PC).
- l'âge : fœtus de 3 mois (94 % PC)
nourrisson (75 % PC)
adulte (60 % PC)

2) DISTRIBUTION

a) degré d'hydratation des tissus

Le degré d'hydratation des tissus varie de façon importante :

squelette	25 %	muscles :	75 %
tissu adipeux	20 %	poumons :	78 %
cartilage	55 %	cerveau :	80 %
Peau	72 %		

b) compartiments hydriques

Pour la commodité de son étude, l'EST est subdivisée en compartiments ou secteurs hydriques qui sont caractérisés par :

- une individualité anatomique (membrane cellulaire, endothélium, épithélium)
- une composition chimique définie et soumise à régulation
- une fonction physiologique propre
- l'existence d'échanges constants entre eux

L'eau corporelle totale peut-être répartie en 2 espaces principaux : l'eau extracellulaire et l'eau intracellulaire séparées par les membranes cellulaires.

b1) l'eau extracellulaire (L.E.C)

L'eau extracellulaire représente chez l'adulte 20 % du PC soit environ 33 % de l'EST.

Ce liquide se subdivise lui-même en compartiment plasmatique, interstitiel et transcellulaire (Tableau 1).

- le compartiment plasmatique (L.P)

Il représente chez l'adulte 4 % du P.C. C'est l'eau contenue dans le système vasculaire en dehors des éléments figurés du sang. L'eau plasmatique met en rapport le liquide interstitiel avec le milieu extérieur par l'intermédiaire des organes nourriciers (tube digestif, poumons) et excréteurs (peau, poumons, reins).

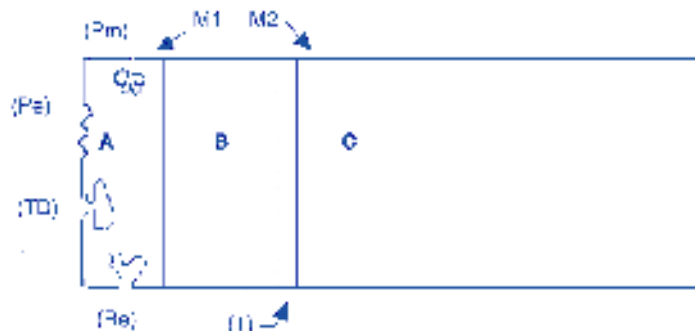


Figure 1. Compartiments liquidiens de l'organisme.

$\Delta = \text{LP } 4\% \text{ PC}$, $B = \text{LI} = 16\% \text{ PC}$, $A+B = \text{LEC} = 20\% \text{ PC}$

$C = \text{LIC} = 40\% \text{ PC} = 67\% \text{ EST}$, $A+B+C = \text{EST} = 60\% \text{ PC}$

(Pm) = Poumons M1 = membrane Cap.

(Re) = Reins M2 = membrane Cell.

(Pe) = Peau

(TD) = Tube digestif T = eau transcellulaire (2%PC)

- le compartiment interstitiel (L.I)

Il représente chez l'adulte 16 % du P.C.

Ce liquide correspond à l'environnement direct de la cellule auquel il assure les apports nutritifs et un rejet rapide des déchets puisqu'il est en rapport à la fois avec le plasma par l'intermédiaire de la membrane capillaire et avec les cellules par l'intermédiaire de la membrane cellulaire. On rattache aux liquides interstitiels la lymphe et l'eau d'imbibition de l'os et du tissu conjonctif.

- le compartiment transcellulaire (T)

Il représente 2 % du PC. Il est constitué de fluides isolés du plasma par un épithélium.

Ce compartiment regroupe les sécrétions digestives, le liquide céphalo-rachidien, les liquides synovial, pleural, péritonéal, péricardique et les humeurs aqueuse et vitrée. Ce compartiment peut devenir important dans certaines conditions pathologiques et former un «troisième secteur» (liquide d'ascite, liquide pleural, liquide péricardique).

b2) L'eau intracellulaire (L.I.C)

Représente 40 % du PC chez l'adulte soit environ 67% de l'E.S.T. C'est le liquide retenu à l'intérieur des membranes cellulaires.

c) Cas du nourrisson

Le nourrisson est exposé à la déshydratation, car son organisme est plus hydraté et plus de la moitié de son eau se trouve en contact direct avec le milieu extérieur.

B) COMPOSITION IONIQUE DES SECTEURS HYDRIQUES

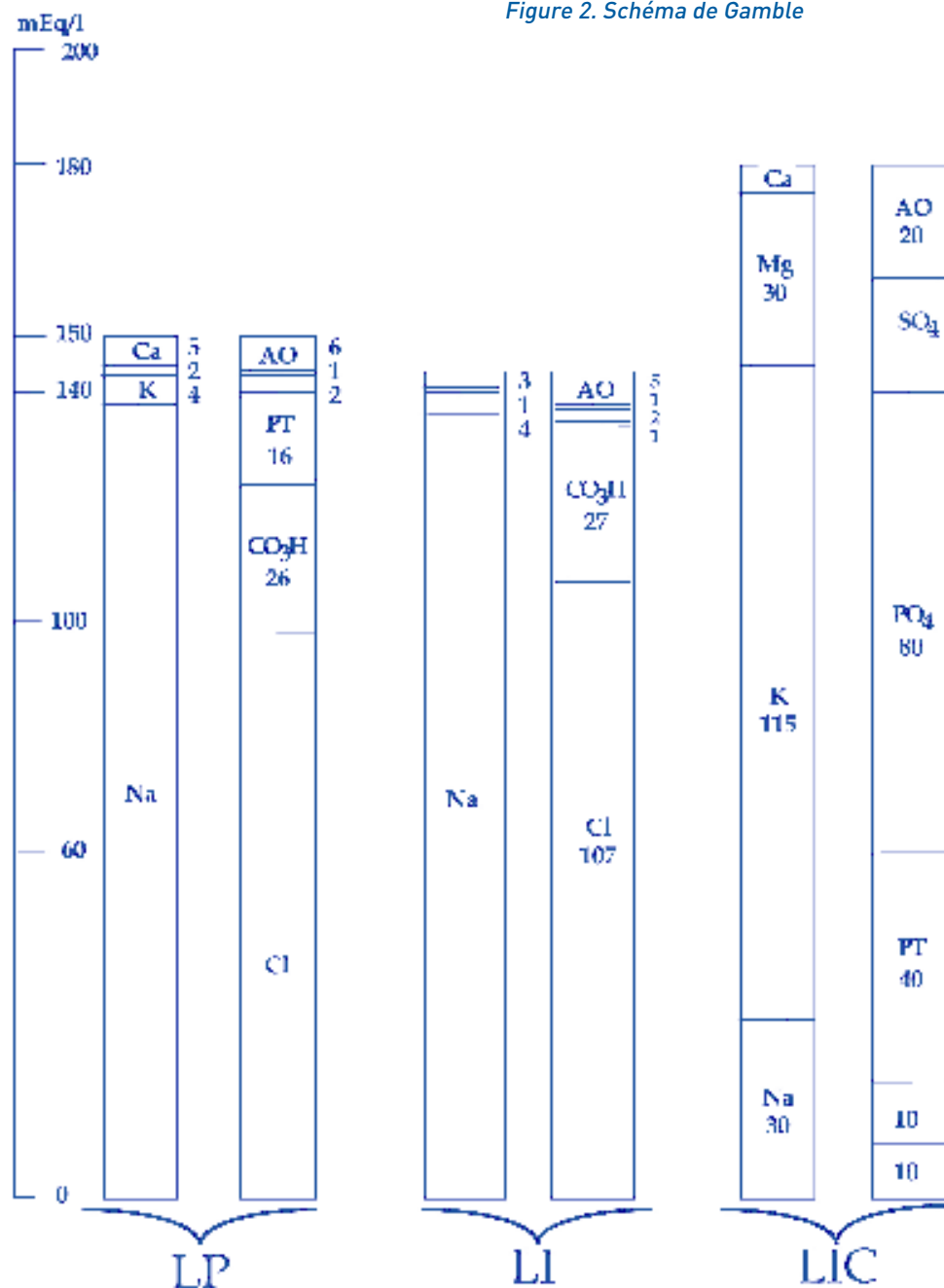
1) SCHÉMA DE GAMBLE (Figure 2)

C'est une représentation commode de la composition électrolytique des secteurs plasmatique, interstitiel et intracellulaire.

Chaque secteur est représenté par 2 colonnes qui sont :

- parallèles, une colonne pour les cations et une pour les anions
- faites de zones qui représentent la part en milliéquivalent par litre (mEq/l) de chaque ion
- de hauteur égale à la somme des cations ou la somme des anions en mEq/l
- de même concentration exprimée en mEq/l traduisant la neutralité électrique des cations et des anions.

Figure 2. Schéma de Gamble



*LG: liquide globulaire
a) le liquide intracellulaire (LIC)

Le LIC est caractérisé :

- pour les cations : par une concentration élevée en potassium (115 mEq/l) en magnésium (30 mEq/l) et faible en sodium (30 mEq/l) et en calcium (5 mEq/l)

- pour les anions : le LIC est riche en phosphate (80 mEq/l) en protéines (40 mEq/l), en sulfate et anions organiques (20 mEq/l) et pauvre en bicarbonates (10 mEq/l) et en chlorures (5mEq/l) sauf dans l'érythrocyte.

Le potassium intracellulaire existe sous 2 formes :

- libre jouant un rôle osmotique et s'équilibrant avec les anions.

- liée aux protéines et au glycogène

Le calcium intracellulaire se trouve principalement dans les mitochondries, combiné à des protéines, le cytoplasme en contient une très faible concentration sous forme ionisée libre. Bien qu'en quantité négligeable, le calcium intracellulaire joue un rôle capital dans la régulation de nombreuses activités enzymatiques et peut intervenir comme second messager.

b) le liquide extracellulaire (LEC)

2) PARTICULARITÉS IONIQUES (tableau 1)

Tableau 1: Particularités ioniques de chaque secteur liquidien

	LP	LI	LIC	LG*
Ca ⁺⁺	5	5	5	1
K ⁺	4	5	115	100
Na ⁺	140	135	30	20
Mg ⁺⁺	2	2	30	6
Pt ⁻	16	1	40	-
CO ₃ ⁻	27	30	10	-
Cl ⁻	102	107	5	50
PO ₄ 3 ⁻	2	2	80	16
Autres	7	4	40	-
Somme	310	294	350	-

Le LEC est dominé par le NaCl, en effet le Na⁺ est le cation majeur du secteur extracellulaire (50 % environ du capital sodique de l'organisme se trouve dans le LEC) et le Cl⁻ est l'anion le plus abondant du compartiment extracellulaire (80 % de Cl⁻ se trouve dans le LEC).

b1) le liquide plasmatique

Le liquide plasmatique a une composition caractéristique: il est riche en Na (142 mEq/l soit 92 % des cations) et en Cl⁻ (103 mEq/l soit 67 % des anions). Ces 2 ions règlent l'essentiel de l'équilibre osmotique et acido-basique du milieu extracellulaire. Ils se trouvent à l'état totalement ionisé. Protéines (16 mEq/l) et bicarbonates (27 mEq/l) constituent les 2 autres ions importants du liquide plasmatique. Ces 2 anions contribuent efficacement au maintien de l'équilibre acido-basique et osmotique de ce secteur. D'autres ions sont par contre très peu représentés dans le LEC : Ca, K et acides organiques (5 mEq/l) Mg (3mEq/l), Phosphates (2mEq/l) et sulfates (1mEq/l).

Les apports quotidiens nécessaires doivent donc être d'environ 150 ml/Kg chez le nouveau-né et d'environ 100 ml/Kg à l'âge de 1 an.

Les sorties (S) d'eau comportent aussi une fraction fixe et une fraction ajustable :

Fraction fixe	perspiration, transpiration	= 500ml
	respiration	= 300ml
	selles	= 100ml
	urines	= 400ml
Fraction ajustable	urines	= 1200ml
		= 2500ml

Dans les conditions normales, le bilan hydrique est équilibré $E=S = 2,5 \text{ l/24 h}$ et $E-S = 0$. Il n'y a pas de réserve hydrique. Tout écart par rapport à cet équilibre va être mal toléré et va se traduire par une hyperhydratation ou par une déshydratation (tableau 3).

La diminution des apports ou l'augmentation des sorties (diarrhée, fièvre, hypersudation polyurie) entraînent une déplétion hydrique. La rétention de l'eau dans l'organisme s'observe essentiellement dans les insuffisances rénales ou cardiaques.

Tableau 3. Les différents états d'hydratation de l'organisme

BILAN E/S	Capital hydrique	État
Équilibré $E=S$	Inchangé	normal
Positif $E > S$	Rétention hydrique	hyperhydratation
Négatif $E < S$	Déplétion hydrique	déshydratation

b) Sodium, Potassium et Chlore

Les apports sont variables selon les habitudes alimentaires, mais couvrent largement les besoins (tableau 4). La carence est donc peu probable et le bilan reste équilibré tant que les voies d'élimination fonctionnent normalement.

Tableau 4. Apports et besoins en ions alcalins

Électrolyte	Na (CL)	K
Besoins (g/j)	1	0.5
Apports (g/j)	6-12	2-4

L'élimination des sels alcalins est très variable et dépend de l'apport alimentaire et des besoins de l'organisme. Différentes voies d'élimination sont possibles. La voie rénale est de loin la plus importante. L'élimination par la sueur et les matières fécales est normalement beaucoup plus restreinte (tableau 5).

Tableau 5. Voies d'élimination des ions alcalins

Voie d'élimination	Na (CL)	K
Urines	90 %	80 %
Sueurs	5 %	5 %
Selles	5 %	15 %

b1) Élimination rénale

Chez le sujet normal, le Cl et le Na apparaissent en quantité presque égale dans les urines et sont éliminés à un taux analogue à celui du plasma. Ils s'y trouvent essentiellement sous forme de NaCl, mais aussi sous forme de KCl, NH_4Cl , $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$. L'excrétion urinaire de Na permet le maintien d'un bilan nul et varie en moyenne entre 50 et 200 mEq/24h, pouvant s'abaisser au voisinage de zéro et atteindre 300 mEq voire plus.

L'excrétion urinaire de K pour l'équilibre du bilan est lente et ne se fait qu'après plusieurs jours. La kaliurie ne chute pratiquement pas au-dessous de 10 mEq/j, car le K urinaire provient principalement de la sécrétion tubulaire distale.

b2) Élimination sudorale

Comme dans les urines, l'élimination sudorale du Na est parallèle à celle de Cl⁻ et se fait essentiellement sous forme de NaCl, mais aussi de KCl. La sueur est normalement hypotonique par rapport au plasma : Na = 55 mEq/l; Cl = 45 mEq/l; K = 12 mEq/l

b3) Élimination fécale

L'élimination fécale est relativement plus importante pour le K (15%) que pour le NaCl (5%). Ceci est dû en grande partie à une sécrétion active de K au niveau du colon et explique le fait que dans les états diarrhéiques, le risque de perte de K est plus fort. Par ailleurs, la richesse du suc gastrique en Cl (100 mEq/l) explique l'existence d'hypochlorémie lors des vomissements.

c) Calcium, Magnésium et Phosphate

Dans les conditions normales, les besoins sont de l'ordre de 0,4 g pour Ca, 1 g pour P et 0,25g pour Mg. Ces besoins sont couverts par les apports, mais les risques de carence sont plus fréquents qu'avec les ions alcalins (tableau 6).

Tableau 6. Apports et besoins en ions alcalino-terreux

Électrolyte	Ca	P	Mg
Besoins (g/j)	0.4	1	0.25
Apports (g/j)	1	2	0.5

Contrairement à l'absorption intestinale des ions alcalins qui est presque totale, l'assimilation des ions alcalino-terreux ne représente qu'une fraction de l'apport alimentaire. Seuls 40% du Ca, 60% du P et 50% du Mg apportés par l'alimentation sont absorbés.

La carence peut résulter d'un apport insuffisant, de besoins accrus ou d'une absorption entravée. Différents facteurs modifient l'absorption intestinale du Ca, P et Mg

- le pH gastrique élevé (Sels $\text{Ca}^+ \rightarrow \text{Ca}^{++}$ seule forme absorbée)
- le régime déséquilibré
 - = rapport molaire. Ca/ P anormal (normalement compris entre 0,5 et 1)
 - = Carence en vitamine D
 - = Alimentation riche en anions complexants : Phytates,

oxalates (sels insolubles),
 = Présence d'acides gras (→ savons alcalino-terreux)
 L'élimination du Ca et du Mg se fait essentiellement par voie fécale (≈ 3/4); tableau 7. Elle comprend surtout des ions exogènes non absorbés, mais aussi dans les conditions normales, une faible quantité d'ions endogènes provenant des sécrétions digestives. L'élimination rénale représente la voie principale pour les phosphates (≈2/3). Ces derniers sont éliminés essentiellement sous forme de phosphates inorganiques dont les 2/3 sont constitués par des phosphates solubles de Na et de K et le 1/3 restant par des phosphates moins solubles de Ca et de Mg.

Tableau 7. Voies d'élimination des ions alcalino-terreux

Voie d'élimination (%)	Ca	P	Mg
Selles	80	34	70
Urines	20	66	30
Sueurs	1	0.3	0.5

B) LES MOUVEMENTS HYDROELECTROLYTIQUES

Les mouvements de l'eau dans l'organisme sont liés aux mouvements des électrolytes et des substances dissoutes

1) À TRAVERS LA MEMBRANE CAPILLAIRE

La membrane capillaire est perméable à l'eau et aux sels minéraux. Elle présente une perméabilité sélective pour certaines protéines qui peuvent passer dans les espaces interstitiels. Les échanges entre plasma et liquide interstitiel sont régis par les forces de STARLING :

Au niveau du pôle artériel des capillaires, la pression sanguine est supérieure à la pression osmotique développée par les protéines (pression oncotique). Il en résulte une sortie d'eau et de sels minéraux vers le secteur interstitiel.

Au contraire, au niveau du pôle veineux, la pression sanguine est inférieure à la pression oncotique ce qui entraîne un rappel de l'eau et des petits ions vers le plasma. Toute anomalie de ce mécanisme entraîne l'apparition d'une surcharge hydroélectrolytique des liquides interstitiels (Oedèmes).

2) À TRAVERS LA MEMBRANE CELLULAIRE

La membrane cellulaire sépare 2 milieux de composition très hétérogène. Son rôle sera de maintenir malgré les gradients de concentration et les potentiels électriques, cette hétérogénéité. C'est donc une membrane sélective et dynamique qui utilise pour ce faire une part importante de l'énergie cellulaire. Le déséquilibre ionique est réglé par un mécanisme actif, les pompes ioniques qui sont nombreuses et variées :

- pompe anionique pour le Cl^- bien connue au niveau de la membrane du globule rouge
- pompes pour les cations monovalents Na^+ et K^+
- pompes des cations divalents Ca^{++} et Mg^{++}

Parmi ces mécanismes actifs, le plus répandu et le plus actif est une pompe du sodium et du potassium encore appelée Na^+ , K^+ - ATPase. Le fonctionnement de cette enzyme permet à la fois l'hydrolyse d'une molécule d'ATP

en $\text{ADP} + \text{Pi}$, le transport de 3 ions Na^+ vers l'extérieur de la cellule et de 2 ions K^+ vers l'intérieur. La fonction de cette enzyme est capitale pour les cellules si on en juge par le fait qu'elle dépense à elle seule le tiers de l'énergie cellulaire.

Les mouvements du K sont également tributaires du métabolisme cellulaire et de l'équilibre acido-basique du secteur extracellulaire. Glycogénogenèse, synthèse protidique et alcalose provoquent une pénétration du K extracellulaire à l'intérieur de la cellule. Il en est de même pour le Mg. Le mouvement inverse se produit en cas de glycogénolyse, de catabolisme protidique, d'acidose et lors de l'exercice musculaire. L'augmentation du métabolisme glucidique entraîne aussi une pénétration accrue de phosphate à l'intérieur de la cellule.

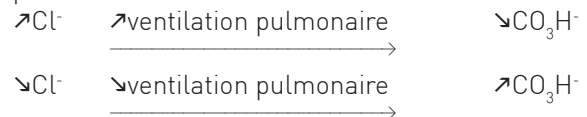
Dans la cellule au repos, le niveau de base du calcium dans le cytoplasme est très faible, car il est évacué en permanence vers l'extérieur grâce à une pompe de Ca qui fonctionne de façon active en consommant de l'ATP. Une pompe du Ca au niveau du réticulum endoplasmique et au niveau de la membrane mitochondriale permet de stocker le Ca dans ces organites dont la teneur est beaucoup plus élevée que celle du cytoplasme.

3) LES DÉPLACEMENTS LIQUIDIENS

Les transferts d'eau d'un secteur à l'autre sont liés à ceux des substances dissoutes et à leur concentration.

Le sodium extracellulaire joue un rôle fondamental, car il est pratiquement le seul ion responsable de l'osmolarité extracellulaire et maintient en conséquence l'hydratation correcte du secteur intracellulaire. En effet, le sodium est un ion hydratant c'est-à-dire que toute variation de la natrémie ne peut être compensée que par un déplacement d'eau et non par une substitution ionique. Aucun autre cation ne peut le remplacer, car à la concentration nécessaire, il manifesterait des actions toxiques pour l'organisme.

En revanche, le chlore est un ion non hydratant bien qu'il représente avec le Na le principal support de l'osmolarité plasmatique. En effet, les variations de la chlorémie ne sont pas compensées par un déplacement d'eau, mais par un réajustement des bicarbonates, éléments facilement variables selon les besoins grâce à la régulation pulmonaire :



Les molécules de faible masse moléculaire (urée, glucose) ne jouent pratiquement pas de rôle dans les mouvements de l'eau entre LEC et LIC, car elles diffusent à travers la membrane plasmique. Elles n'interviennent que lors des élévations importantes de leur taux circulant.

III- EXPLORATION DE L'ÉQUILIBRE HYDROMINÉRAL

A) ÉVALUATION DES VARIATIONS DU CAPITAL HYDRIQUE

1) SURVEILLANCE DU POIDS

La surveillance du poids est un geste simple et essentiel.

Les variations aiguës du poids peuvent renseigner sur une perturbation hydrique surtout chez le nourrisson.

2) ASPECT DE LA PEAU ET DES MUQUEUSES

L'aspect de la peau et des muqueuses fournit avec les autres signes cliniques des indications utiles pour caractériser les hyperhydratations ou les déshydratations.

Déshydratation extracellulaire = pli cutané, hypotonie des globes oculaires, pouls faible et rapide

Déshydratation cellulaire : sécheresse de la langue et des muqueuses, soif, signes neurologiques.

3) MÉTHODE DES BILANS

C'est la détermination précise des entrées et des sorties d'eau quotidiennes pour le calcul du bilan aqueux (Entrées-sorties) ml/24 heures. Cette méthode ne peut s'appliquer qu'en milieu hospitalier spécialisé. Elle est sujette à de nombreuses erreurs.

B) MESURE DES COMPARTIMENTS HYDRIQUES

Ces méthodes sont basées sur le principe de dilution, qui consiste à déterminer le volume de diffusion d'une substance injectée par voie intraveineuse et qui doit être non toxique, de diffusion rapide, mais limitée au secteur étudié, d'élimination lente et de dosage facile.

Le choix de la substance dépend des secteurs à explorer (figure 5).

A) EAU SOMATIQUE TOTALE (1) : les substances utilisées sont très diffusibles et pénètrent dans tous les compartiments hydriques : urée, isotopes de l'eau (eau lourde ou eau tritiée).

B) LEC (2) : Les substances choisies sont arrêtées par la membrane cellulaire : inuline, sodium radioactif (^{24}Na).

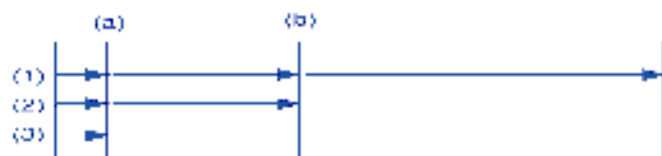
C) LIQUIDE PLASMATIQUE (3) : les substances utilisées sont arrêtées par la membrane capillaire : albumine marquée à l'iode 131 ou au bleu d'Evans.

D) LIC ET LI SONT DÉDUITS DES MESURES PRÉCÉDENTES :

$$\text{LIC} = \text{EST} - \text{LEC} ; \quad \text{LI} = \text{LEC} - \text{LP}$$

Les résultats obtenus varient selon la qualité de la substance injectée. Il faut toujours préciser la technique utilisée.

Ces méthodes sont théoriquement satisfaisantes, mais



sont complexes à réaliser non dénuées de risque et surtout incompatibles avec l'urgence des résultats.

Figure 5. Diffusion des substances dans les compartiments hydriques

(1) = Eau somatique totale ; (2) = LEC ; (3) = LP ;

(a) = membrane capillaire ; (b) = membrane cellulaire

C) MÉTHODES INDIRECTES D'EXPLORATION

1) CRYOSCOPIE :

La mesure du delta cryoscopique (Dq) est l'étude du

point de congélation d'un liquide par rapport à celui de l'eau pure. Le (Dq) est proportionnel au nombre de moles dissoutes, aussi bien les électrolytes que les molécules non dissociées (glucose, urée...). La détermination du Dq permet la mesure directe de l'osmolarité plasmatique.

Plasma normal	$0,54 \leq \text{Dq} \leq 0,58$ (osm = 300 mmol/kg)
hypertonie plasmatique	$\text{Dq} > 0,58$ (osm > 310 mmol/kg)
hypotonie plasmatique	$\text{Dq} < 0,54$ (osm < 290 mmol/kg)

2) IONOGRAMME PLASMATIQUE

a) Définition

C'est le schéma de GAMBLE du liquide plasmatique que l'on construit en additionnant les résultats en mEq/l des dosages chimiques de chaque anion et de chaque cation. En pratique courante, 5 dosages suffisent pour construire l'ionogramme :

- 2 cations : $\text{Na} + \text{K} = 147/155$ soit 95% des cations
- 3 anions : $\text{Cl} + \text{RA} + \text{PT} = 146/155$ soit 94% des anions

b) valeur sémiologique

L'ionogramme est un examen d'urgence de pratique courante qui permet d'apporter des renseignements rapides à la fois sur l'équilibre hydrominéral et l'équilibre acido-basique. Les différents composés dosés dans l'ionogramme nous permettent d'apprécier.

b1) l'osmolarité plasmatique

Natrémie et chlorémie constituent un reflet fidèle de l'osmolarité plasmatique puisqu'ils représentent 245/310 = 80 % de l'électrolytémie totale.

La natrémie seule permet dans la très grande majorité des cas de juger de l'osmolarité plasmatique puisqu'elle représente 92 % des cations soit environ la moitié des osmoles et de ce fait reflète l'hydratation du secteur intracellulaire.

b2) le volume plasmatique (VP)

Le VP peut être apprécié par le dosage de la protidémie (Pt) et de l'hématocrite (Ht) qui est souvent demandée en même temps que le dosage de la protidémie.

$$\text{Pt} = 72 \pm 7 \text{ g/l} \quad \text{Ht} = 45 \% \text{ (Homme)}, 41 \% \text{ (Femme)}$$

$$\text{Pt} = \frac{\text{Protéines circulantes (g)}}{\text{VP (l)}} \quad \text{Ht} = \frac{\text{VGT} \times 100}{\text{VST}}$$

VGT : volume globulaire total

VST (volume sanguin total) = VGT + VP

Les variations de la Pt et de l'Ht peuvent nous renseigner indirectement sur le volume du secteur extracellulaire à condition :

- d'éliminer les causes de variations intrinsèques sans rapport avec l'état d'hydratation du sujet tel qu'anémie ou dysprotidémie.
- de vérifier la concordance de la variabilité de ces paramètres
- de confirmer les résultats par des dosages répétés et les signes cliniques

Dans ces conditions lorsque :

Pt et Ht augmentent = Hémococoncentration (baisse du VP)
Pt et Ht diminuent = Hémodilution (augmentation du VP)

b3) L'équilibre acido-basique

La kaliémie et la réserve alcaline (CO_2 total plasmatique) fournissent des renseignements sur l'équilibre acido-basique. Ces constituants plasmatiques se trouvent perturbés en cas de :

Acidose métabolique : Baisse RA, Augmentation K

Alcalose métabolique : Augmentation RA, Baisse K

De plus, le dosage du K^+ permet d'apprécier les risques myocardiques liés à une hypo ou hyperkaliémie

b4) L'équilibre entre anions et cations

L'existence d'une différence entre la somme des cations et la somme des anions dans le sens d'un déficit apparent en anions définit le trou anionique (TA) :

$$\text{TA} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^- + \text{Pt}^-)$$

$$\text{TA} = 147 \text{ mEq/l} - 146 \text{ mEq/l} \approx 1 \text{ mEq/l}$$

L'élévation du TA s'observe dans les acidoses métaboliques au cours desquelles il se produit une accumulation de :

- anion minéral : SO_4^{2-} , PO_4^{3-} (Rétention lors d'insuffisance rénale)
- anion organique AO (coma diabétique)

Dans ces conditions, ces substances s'élèvent anormalement et chassent le CO_3H^- qui est un anion volatil.

IV- LES TROUBLES HYDROELECTROLYTIQUES

Hyperhydratation et déshydratation sont les 2 ordres de troubles que l'on rencontre en pathologie hydrominérale. Ces perturbations peuvent être limitées à un seul secteur ou retentir à la fois sur les 2 secteurs extra et intracellulaire. Le trouble commence toujours au niveau du LEC puis retentit sur le LIC par déplacement liquidien, seulement lorsque le trouble initial engendre une variation de la tonicité plasmatique.

- DH extracellulaires (perte d'eau et de sels)

= Isotonique (eau = sels) : DHEC isolée

= Hypotonique (eau < sels) : DHEC + HHIC

= Hypertonique (eau > sels) : DHEC + DHIC

- HH extracellulaires (rétention d'eau et de sels)

= Isotonique (eau = sels) : HHEC isolée

= Hypotonique (eau > sels) : HHEC + HHIC

= Hypertonique (eau < sels) : HHEC + DHIC

TESTS D'ÉVALUATION

- 1) Représenter à l'aide d'un schéma les différents compartiments hydriques chez un adulte :
- en respectant les proportions
 - en les situant les uns par rapport aux autres
 - en précisant leurs rapports anatomiques

- 2) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la (les) lettre(s) identifiant le ou les complément(s) correspondant(s)

1. Son E.S.T représente les 3/4 du PC :

2. Près des 2/3 de l'E.S.T. est extracellulaire :

3. LIC est deux fois plus important que LEC :

4. LI est huit fois plus important que LP :

5. LP représente 4 à 5 % du PC :

6. Est plus exposé à la déshydratation :

A. Adulte

B. Nourrisson

- 3) Compléter le tableau suivant :

	L.P	L.I	L.I.C
Charge ionique totale (mEq/l)			
Cation(s) prédominant(s)			
Anion(s) prédominant(s)			
Sel(s) prédominant(s)			

- 4) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s).

- A. le rapport LP/LG des concentrations en mEq/l du Na⁺ est inférieur à 1. ☐ OUI ☐ NON
- B. Le rapport LP/LG des concentrations en mEq/L du K⁺ est inférieur à 1. ☐ OUI ☐ NON
- C. L'hémolyse in vitro entraîne une erreur par excès des valeurs de la natrémie. ☐ OUI ☐ NON
- D. L'hémolyse in vitro entraîne une erreur par excès des valeurs de la kaliémie. ☐ OUI ☐ NON
- E. Tout retard d'exécution du dosage entraîne des erreurs par excès de la kaliémie. ☐ OUI ☐ NON

- 5) Indiquer la nature de la forme prédominante du calcium :

- Dans la cellule : _____

- Dans le plasma : _____

6) Classer selon leur importance quantitative les trois formes de Ca et de Mg plasmatiques.

1^{er} : _____
2^e : _____
3^e : _____

7) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la lettre identifiant le complément correspondant :

1. Constitue une réserve immédiatement disponible _____
 2. Représente la forme biologiquement active _____
 3. Est la forme quantitativement la plus importante _____
 4. Est une forme ultrafiltrable _____
 5. Ses variations sont parallèles à celles des protides sériques _____
- A. Calcium ionisé plasmatique B. Calcium non dialysable plasmatique

8) Quelle est la forme prédominante dans le liquide plasmatique du :

- Sodium : _____	- Calcium : _____
- Potassium : _____	- Phosphore : _____
- Chlore : _____	- Ortho phosphates : _____

9) Dégager l'importance du compartiment plasmatique et l'intérêt pratique de la situation qu'il occupe dans le circuit hydrique.

- Importance quantitative : _____
- Situation du M.E : _____
- Situation vis-à-vis du M.I. : _____

10) Indiquer par rapport à l'adulte les 3 différences caractérisant l'équilibre hydrique du nourrisson qui l'expose plus particulièrement aux risques de déshydratation.

11) Citer les 5 voies d'élimination de l'eau par l'organisme :

- Fixe (s) (1300 ml) = _____
- Ajustable(s) (1200 ml) = : _____

12) Citer trois raisons pour lesquelles les états de carence sont plus probables avec les ions alcalino-terreux qu'avec les ions alcalins.

13) En considérant les voies de sortie de l'eau, citer les circonstances qui présentent un risque de déshydratation pour l'organisme :

14) Expliquer pourquoi l'ion sodium est appelé « ion hydratant » alors que le chlore n'a pas cette propriété.

- Na.

- Cl.

15) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la lettre identifiant le complément correspondant.

1. Les apports alimentaires couvrent largement les besoins en ces ions : _____
2. Leur absorption intestinale est restreinte : _____
3. Les besoins en ces éléments augmentent chez la femme enceinte : _____
4. Leur absorption est influencée par la qualité du régime alimentaire : _____
5. La carence en ces ions est peu probable : _____

A. Ions alcalins (Na,K)

B. Ions alcalino-terreux (Ca, P, Mg).

16) Compléter le tableau suivant en précisant le sens des variations éventuelles de la tonicité plasmatique (T), des déplacements liquidiens (DL), ainsi que de l'état d'hydratation ET des secteurs extracellulaire et intracellulaire.

T	DL	EH
eau < sels	LC --- LIC	
eau = sels	LC --- LIC	
eau > sels	LC --- LIC	

17) Devant chaque bilan identifié par un chiffre, on notera la lettre identifiant le complément correspondant.

- | | | |
|--------------------------|--------------------|-------|
| 1. Protidémie = 20 mEq/l | Hématocrite = 52 % | _____ |
| 2. Protidémie = 11 mEq/l | Hématocrite = 30 % | _____ |
| 3. Protidémie = 16 mEq/l | Hématocrite = 30 % | _____ |
| 4. Protidémie = 11 mEq/l | Hématocrite = 42 % | _____ |

À Hémodilution

B. Hemoconcentration

C. Aucune des deux

18) Le tableau biologique suivant : Na⁺= 151mmol/l ; Cl⁻=114mmol/l ; Ht=50% ; créatininémie=170 µmol/l ; urée= 8,8 mmol/l ; protidémie= 82 g/l est celui d'une :

- A. Hyperhydratation intracellulaire pure
- B. Hyperosmolarité plasmatique
- C. Déshydratation globale
- D. Déshydratation intracellulaire pure
- E. Pseudohyponatrémie

19) Inscrire dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondant(s) à la ou aux proposition(s) exacte(s).

- A. Une diarrhée profuse retentit plus sur le capital sodique que sur le capital potassique.
- B. Les vomissements abondants peuvent provoquer une hypochlorémie.
- C. Une hypersudation risque de provoquer une déplétion du capital sodique.
- D. En cas de carence potassique, la kaliurie est nulle.
- E. En cas de baisse de l'apport sodique la natriurie est nulle.

20) Citer cinq conditions pouvant entraver l'absorption intestinale du calcium :

1.

2.

3.

4.

5.

21) Un ionogramme sanguin pratiqué en urgence chez un malade donne les résultats suivants :

- . Natrémie : 155 mEq/l

- . Kaliémie : 6 mEq/l

- . Chlorémie : 115 mEq/l

- . R.A : 10 mEq/l

- . Protidémie : 20 mEq/l

- . Hématocrite : 55 %

- a). Indiquer dans l'espace réponse prévu les renseignements apportés par chaque résultat.
b). Calculer le taux anionique chez ce malade

- c). Définir l'état de l'équilibre hydrominéral et acido-basique chez ce malade :

LES CONSTITUANTS AZOTES NON PROTÉIQUES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Définir le « constituant azoté non protéique ».
- 2- Citer les différents composés azotés non protéiques de l'organisme.
- 3- Décrire l'origine biochimique et les voies d'élimination de chacun des composés azotés non protéiques.
- 4- Connaître les variations physiologiques et la valeur sémiologique de chacun de ces composés.

PLAN

INTRODUCTION

I-AMMONIAC

A) ORIGINE

B) DESTINÉES

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

II-URÉE

A) ORIGINE

B) DESTINÉES

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

III-CRÉATININE

A) ORIGINE

B) DESTINÉES

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

IV- ACIDE URIQUE

A) ORIGINE

B) DESTINÉES

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

V-ACIDES AMINES

A) ORIGINE

B) DESTINÉES

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUES

CONCLUSION

INTRODUCTION

Toutes les substances azotées du plasma qui ne sont pas précipitées par les agents de déprotéinisation sont regroupées sous le terme de «constituants azotés non protéiques». Exprimées en azote, elles constituent l'«Azote Total Non Protéique» (NTNP) qui représente 0,20 à 0,35 g (14 à 25 mmol) par litre de plasma.

On distingue essentiellement six types de composés azotés non protéiques. L'urée en représente le constituant quantitativement le plus important.

Urée : 0,15 à 0,45 g/l soit 50 % de l'NTNP

Acides aminés (AA): 0,30 à 0,35 g/l soit 16 % de l'NTNP

Acide urique : 30 à 70 mg/l soit 8 % de l'NTNP

Créatinine : 7 à 15 mg/l soit 5 % de l'NTNP

Ammoniaque : 0,15 à 0,45 mg/l soit 1 % de l'NTNP

Bilirubine: 10 mg/l soit 5% de l'NTNP (cf cours thème XIV)

Le reste soit 15 % de l'NTNP est attribué à des oligopeptides et à «l'Azote indéterminé» (guanidine, indoxyle, vitamines, ...)

Tous ces éléments sont :

- soit des produits d'élaboration du muscle, du rein ou de l'intestin, en transit vers le foie ou le cerveau (Acides aminés, oligo-peptides...)
- soit surtout des déchets du catabolisme azoté (urée, NH_3 , créatinine, Acide urique, bilirubine) en transit vers les émonctoires pour y être éliminés.

I- AMMONIAC

A) ORIGINE

Quelle que soit leur source, les acides aminés qui ne sont pas immédiatement incorporés dans de nouvelles protéines sont rapidement dégradés. Il n'existe pas en effet de mise en réserve pour les acides aminés excédentaires.

La partie carbonée est catabolisée pour former de l'énergie alors que l'azote sera éliminé soit sous forme de NH_3 soit sous forme d'urée.

L'ammoniac (NH_3) est issu du catabolisme du groupe-ment α aminé des AA. Dans les liquides biologiques, il se combine avec l'eau pour former l'ammoniaque (NH_4^+) ou ion ammonium. L'ammoniac prend naissance dans de

nombreux tissus au cours des réactions de transamination et de désamination oxydative. Les molécules ainsi formées se combinent à l'acide glutamique grâce à la glutamine-synthétase pour donner la glutamine.

La glutamine est une forme de transport de l'ion ammonium (NH_4^+) et peut être hydrolysée par la glutaminase en redonnant l'ammoniac. Elle est régulièrement captée du plasma par les tissus splanchniques (foie et intestin) ainsi que par le rein.

D'autre part, dans le tractus intestinal, la flore bactérienne produit des quantités importantes de NH_3 transportées par la veine porte. Normalement, le foie capte rapidement le NH_3 apporté par le sang porte de telle sorte que le sang qui sort du foie est pratiquement dépourvu d'ammoniac. Cette condition est essentielle, car ce dernier, même en très petite quantité, est toxique pour le système nerveux central (coma hépatique).

Ainsi, bien que constamment produit dans tous les tissus, l'ammoniac n'est présent qu'à l'état de traces dans le sang (0,15 à 0,45 mg/l soit 20 à 60 mmol/l) puisqu'il est rapidement converti en glutamine puis éliminé par le rein soit sous forme d'ions ammonium soit sous forme d'urée.

B) DESTINÉES (Figure 1)

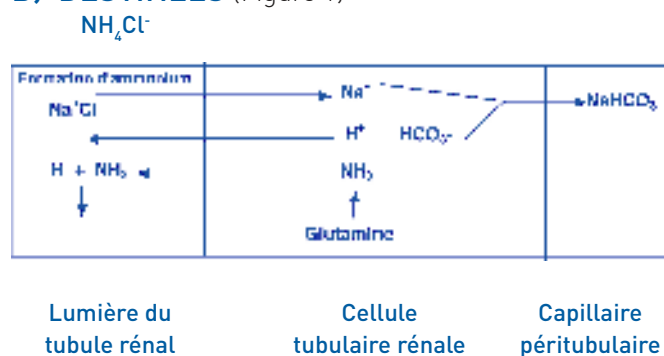


Figure 1. Destinée de l'ammoniac

L'ammoniac est éliminé sous forme d'un ion ammonium (NH_4^+) qui s'échange avec le sodium urinaire qui est réabsorbé. Ceci permet l'élimination d'acides forts (H^+) sous forme de sels d'ammonium permettant une économie du capital sodé (CO_3HNa ou Réserve Alcaline).

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

Le dosage est difficile, car la quantité est faible et il doit être pratiqué rapidement, sur des échantillons transportés dans la glace, sinon la glutamine est hydrolysée et libère NH_3 qui fausse le dosage. Les valeurs physiologiques de l'ammoniémie varient entre 0,15 et 0,45 mg/l (20 à 60 mmol/l).

Les principales augmentations sont observées en hépatologie (hépatites graves- cirrhoses). Il existe en pareil cas une formation de NH_3 accrue dans le tractus digestif en relation avec la présence de sang (hémorragies digestives) et la protéolyse microbienne.

II- URÉE

A) ORIGINE

L'urée c'est le terme ultime du catabolisme des acides aminés. Elle constitue la principale forme de détoxica-

tion de l'ammoniaque chez l'homme.

Le taux plasmatique de l'urée est en moyenne de 0,30 g/l (5 mmol/l) et représente environ 50 % de NTNP.

L'essentiel de l'uréogénèse (95 %) se fait au niveau du foie. Le rein et le cerveau participent aussi à la formation de l'urée bien que cette uréogénèse ne joue pas un rôle important dans le processus de détoxification.

B) DESTINÉES

Les 2/3 de l'urée sont éliminés par le rein et le reste par la sueur et les fécès. Le passage de l'urée sanguine dans les urines est directement sous la dépendance du taux de filtration glomérulaire. Une partie est réabsorbée par simple diffusion osmotique pendant le passage du filtrat glomérulaire à travers le tubule.

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

Le taux sérique de l'urée (encore appelé azotémie) varie avec l'âge :

Nourrisson : 0,10 à 0,20 g/l (soit 1,7 à 3,3 mmol/l)

Enfant : 0,15 à 0,30 g/l (soit 2,5 à 5,5 mmol/l)

Adulte : 0,15 à 0,45 g/l (soit 2,5 à 7,5 mmol/l).

Ces valeurs s'élèvent avec des régimes hyperprotidiques (0,50 g/l chez l'adulte). À l'opposé un régime végétarien peut faire descendre le taux de l'urée chez l'adulte à 0,20 g/l.

La production de l'urée est donc fonction de l'intensité du catabolisme azoté de l'organisme. Elle augmente dans toute pyrexie, caractérisée par une dégradation accélérée des protéines de l'organisme dont résulte souvent un bilan azoté négatif. Une urémie élevée s'observe également au cours des néphropathies, des obstacles urinaires sur les voies d'excrétion et dans les « azotémies par manque de sel ».

Les valeurs diminuent au cours des atteintes importantes du parenchyme hépatique, associées à l'effondrement d'autres molécules synthétisées par le foie (albumine, facteurs de la coagulation). Toutefois, il existe de rares maladies génétiques touchant le cycle de l'urée et diminuant sa synthèse comme le déficit en carbamyl phosphate synthétase.

Par ailleurs une augmentation importante de la diurèse peut également faire baisser le taux d'urée sanguine (Grossesse)

III- CRÉATININE

A) ORIGINE

La créatine est l'acide méthyl-guanidine acétique. Elle est fabriquée dans le foie à partir du glycocolle, de l'arginine et d'un donneur de méthyle, la S-adénosyl-méthionine.

Elle gagne le muscle en cheminant par voie sanguine. Son taux sanguin est plus élevé chez la femme que chez l'homme. La quantité synthétisée par le foie est la même dans les 2 sexes, mais comme la masse musculaire totale est plus faible chez la femme, la créatine est moins captée par les muscles.

L'élimination rénale de la créatine est très faible chez l'homme, un peu plus élevée chez la femme. Il existe une réabsorption tubulaire presque totale qui permet à l'or-

ganisme de conserver sa créatine.

Parvenue dans les cellules musculaires, la créatine fixe du phosphate à partir de l'ATP et se transforme ainsi en phospho-créatine (phosphagène), qui est une forme de réserve d'énergie chimique immédiatement utilisable par la contraction musculaire. Une petite fraction de ce phosphagène constante pour une même masse musculaire se cyclise au cours des réactions d'échange d'énergie, en perdant son phosphate, et donne la créatinine qui n'est pas utilisable par le muscle. C'est un produit de déchet.

Chez un individu sain, la créatinine est de tous les constituants azotés sériques celui dont le taux est le plus constant se situant entre 7 et 14 mg/l (62 à 124 mmol/l). Sa production est pour un même sujet presque constante d'un jour à l'autre (0,02 g/kg/24h) et indépendante des apports exogènes. Sa valeur dépend de la masse musculaire et de la valeur de la fonction rénale. La créatinine plasmatique et urinaire est le reflet de la masse musculaire du sujet.

B) DESTINÉES

La créatinine est éliminée par les urines après filtration glomérulaire. Elle n'est pas réabsorbée, mais peut être sécrétée par la cellule tubulaire lorsque les taux plasmatiques sont élevés.

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

La créatinine :

Chez l'homme 7 à 15 mg/l (62 à 133 mmol/l)

Chez la femme 5 à 12 mg/l (44 à 106 mmol/l)

La créatininémie ne dépend ni du régime, ni de l'exercice, ni d'autres variations physiologiques. Elle ne varie qu'en fonction de la masse musculaire (ce qui explique les variations selon le sexe) et de son élimination rénale (d'où son intérêt dans l'appréciation d'un trouble de la filtration glomérulaire). Quand la filtration glomérulaire diminue de 50 %, la créatinine sérique double. Une créatininémie supérieure à 40 mg/l (354 mmol/l) est d'un pronostic très sévère.

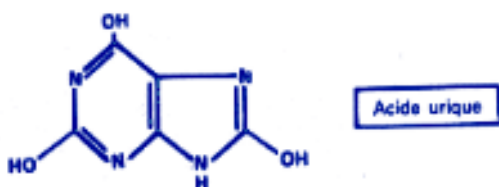
IV- ACIDE URIQUE

A) ORIGINE

L'acide urique est chez l'homme le produit final du catabolisme des bases puriques. Les entrées dans le pool d'acide urique sont surtout représentées par la purino-synthèse de « novo » (70%), la dégradation des acides nucléiques n'en fournit que 10% et le reste est apporté par l'alimentation.

Dans le plasma sanguin comme dans les urines, l'acide urique est en équilibre avec ses sels, les urates, en fonction du pH et existe en solution sursaturée stabilisée par des protéines.

À l'état normal, l'uricémie varie en moyenne entre 30 et



60 mg/l (178 à 357 mmol/l).

Figure 2. L'acide urique

B) DESTINÉES

L'urate est filtré au niveau du glomérule, totalement réabsorbé dans le tube proximal, puis sécrété par le tube distal.

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

Le taux sanguin d'acide urique varie selon le sexe et selon l'âge.

- homme 30 à 70 mg/l (soit 0,18 à 0,42 mmol/l)
- femme 25 à 60 mg/l (soit 0,15 à 0,36 mmol/l)
- enfant 10 à 35 mg/l (soit 0,06 à 0,21 mmol/l)

L'absorption d'alcool peut engendrer une augmentation de 25 % de l'uricémie. Chez le sujet normal, les exercices violents peuvent aussi augmenter les valeurs.

Les principales augmentations pathologiques s'observent au cours de :

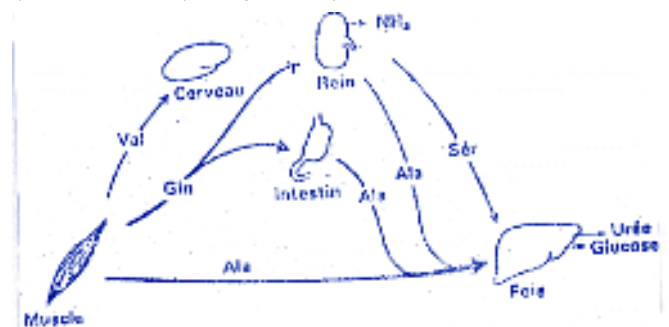
- la goutte
- l'hypercatabolisme cellulaire de certaines hémopathies surtout traitées par les cytolytiques
- l'insuffisance rénale
- traitement prolongé par la plupart des salidiurétiques
- déficit génétique de l'enzyme hypoxanthine phospho-riboseyl transférase (HGPRTase) qui permet normalement à l'organisme de recycler certaines bases puriques provenant du catabolisme des acides nucléiques.

V- ACIDES AMINES (A.A)

A) ORIGINE

Les acides aminés ont une double origine : une origine exogène alimentaire et une origine endogène par synthèse de « novo » et dégradation tissulaire.

L'azote aminé plasmatique représente 30 à 60 mg/l (2,1 - 4,2 mmol/l). Le maintien d'une concentration plasmatique équilibrée des AA dépend des échanges entre les organes. Plus de 50 % de l'azote total des AA, libéré du tissu musculaire, provient de l'Alanine et de la Glutamine. Le foie est le premier site d'absorption de l'Alanine et l'intestin est le site d'utilisation de la glutamine qui relibère la plus grande partie de ces AA sous forme



d'alanine (Ala) ou de NH_3 libre.

Figure 3. Origine des acides aminés.

Le rein est la principale source de libération de la sérine destinée aux muscles, foie et intestin qui l'extraient de la circulation. Le rein libère aussi Ala, et enlève la glutamine (Glu), la proline (Pro) et la glycine (Gly) de la circulation. La capture de la valine (Val) par le cerveau excède celle

de tous les autres A.A. Le cerveau semble être le premier site d'utilisation des AA à chaîne ramifiée (Leu, Ile, Val).

B) DESTINÉES

Les acides aminés parvenus au foie par la veine porte peuvent subir plusieurs sortes de transformations. Une partie des acides aminés comprenant notamment les 8 AA dits essentiels (Val, Leu, Ile, Thr, Met, Lys, Phe, Trp) entre dans l'édification de nouvelles protéines de type humain. Une autre partie est métabolisée par des voies extrêmement variées selon la nature de l'AA. Les plus importantes voies analogues sont la désamination ou la transamination en acides α - cétoniques et la décarboxylation en amine.

Le radical aminé est transformé en NH_3 et urée. Une dernière partie des AA est transportée dans le plasma vers les tissus où elle servira à des synthèses protéiques ou au métabolisme cellulaire.

Les Acides aminés plasmatiques sont filtrés au niveau du glomérule puis des systèmes actifs de réabsorption tubulaire récupérant environ 95 % des acides aminés filtrés.

Plusieurs hormones contrôlent le métabolisme azoté en influant sur les destinées des AA :

- hormone de croissance et androgènes favorisent la synthèse des protéines tissulaires
- thyroxine et corticostéroïdes favorisent leur catabolisme et augmentent ainsi l'excrétion azotée.

C) EXPLORATION ET VALEUR SÉMIOLOGIQUE

Les AA que renferment le sérum et l'urine sont à la fois nombreux (une vingtaine) et en très faible proportion ce qui rend leur dosage très délicat en présence d'autres substances azotées. La chromatographie a permis de résoudre ce problème de dosage. C'est par cette méthode qu'on a pu doser chaque acide aminé.

L'évaluation quantitative des A.A. du sérum montre que la glutamine est la plus abondante, viennent ensuite Ala, Lys, Pro, Leu . Les autres AA ont une concentration sérique $\leq 15 \text{ mg/l}$.

Le dosage plasmatique des acides aminés pris séparément a permis le dépistage d'un nombre important d'aminopathies, affections génétiques d'origine enzymatique congénitale (phénylcétonurie ou oligophrénie pyruvique, tyrosinose congénitale, histidinémie...). L'accumulation d'un acide aminé particulier constitue le marqueur de l'affection.

Il est également possible de doser globalement les acides aminés. Dans le sang, il existe environ chez l'adulte 0.30 à 0.35 g/l d'AA ce qui représente 40 mg/l d'azote.

Chez les enfants, les valeurs sont plus faibles, mais elles sont plus élevées chez les nouveau-nés et surtout les prématurés.

En fait le taux global des AA n'a qu'un intérêt sémiologique limité.

Une hyperaminoacidémie accompagnée d'hyperaminoacidurie est chez l'adulte signe d'insuffisance hépatique, tandis que chez le nouveau-né, elle démontre une absence de maturation hépatique.

Les hyperaminoaciduries avec aminoacidémie normale ou abaissée ont plusieurs causes :

augmentation du flux de filtration glomérulaire (grossesse), une non-réabsorption des AA par le tubule (syndrome de Toni-Debré-Fanconi). Une hypoaminoacidémie

globale est constatée dans le syndrome néphrotique et le Kwashiorkor.

VI - BILIRUBINE ET DERIVES: PIGMENTS BILIAIRES

La bilirubine est le principal pigment biliaire. C'est un pigment jaune responsable de la coloration de la bile. Bien qu'elle ne soit pas d'origine hépatique, elle subit dans le foie une importante modification de sa structure avant d'être excrétée dans les voies biliaires.

99% de la bilirubine de la bile se trouve sous forme glucuronoconjugée, soluble dans l'eau. C'est un produit d'excrétion qui ne joue aucun rôle dans la digestion. L'augmentation de la concentration de la bilirubine plasmatique se traduit par une coloration jaune à bronze des téguments (peau, muqueuses et sclérotiques oculaires) appelée «ictère» (jaunisse).

A) ORIGINE

La bilirubine plasmatique provient du catabolisme de l'hème, groupement prosthétique de l'hémoglobine, de la myoglobine et des autres protéines héminiques (cytochromes, catalase et peroxydases). La majorité (80%) de la bilirubine formée quotidiennement chez l'adulte sain provient de la dégradation de l'hémoglobine des érythrocytes sénescents captés et hémolysés en moyenne après 120 jours de vie sanguine par les macrophages du système réticuloendothélial (rate, foie et moelle osseuse). Elle peut aussi provenir d'une synthèse excédentaire d'hémoglobine ou d'une érythropoïèse inefficace (10%). Le reste (10%) est issu du catabolisme hépatique de l'hème non érythropoïétique.

La bilirubine, ainsi formée, est expédiée par voie sanguine vers le foie. Cette bilirubine, peu hydrosoluble, est presque totalement liée à l'albumine, ce qui permet son transport plasmatique. Au pôle sinusoidal de l'hépatocyte, le complexe se dissocie et la bilirubine est captée à l'aide d'une «protein carrier».

B) DESTINÉE

1) GLUCURONOCONJUGAISON DE LA BILIRUBINE

Dans le cytoplasme hépatocytaire, la bilirubine captée est liée à d'autres protéines, les ligandines Y et Z, pour être acheminée vers le réticulum endoplasmique lisse où elle est conjuguée à deux molécules d'acide glucuronique afin de la rendre plus hydrosoluble. La conjugaison de la bilirubine est catalysée grâce à la glucuronyltransférase (GT) qui permet le transfert de deux molécules d'acides glucuroniques depuis l'UDPG (acide Uridine Di Phospho Glucuronique) jusqu'à la bilirubine.

2) SÉCRÉTION DE LA BILIRUBINE CONJUGUÉE DANS LA BILE

La bilirubine conjuguée est transportée vers le pôle biliaire de l'hépatocyte (canalicule biliaire). Elle peut alors être sécrétée dans la bile grâce à un transport actif, saturable, compétitif et sélectif.

3) SÉCRÉTION DE LA BILIRUBINE CONJUGUÉE DANS L'INTESTIN

La bilirubine conjuguée chemine dans la bile vers l'intestin. A ce niveau, elle subit une déconjugaison par une B glucuronosidase bactérienne. La bilirubine libre est en-

suite réduite, au niveau du côlon, en urobilinogènes incolores (UBG). La majeure partie des UBG se retrouve dans les matières fécales (stercobilinogènes) et s'oxydent au contact de l'air pour donner des stercobilines colorées: pigments bruns.

4) CYCLE ENTÉROHÉPATIQUE (CEH) DE LA BILIRUBINE ET DES UBG

Une faible proportion de bilirubine et des UBG effectue un CEH. Durant ce CEH, une proportion négligeable d'UBG passe dans la circulation systémique d'où elle est ultérieurement éliminée par les reins. Au contact de l'air ces UBG s'oxydent en urobilines colorées: pigments bruns. Stercobilines et urobilines confèrent aux selles et aux urines leur couleur habituelle

C) EXPLORATION ET VALEUR SEMIOLOGIQUE

1) DÉTERMINATION DE LA BILIRUBINE PLASMATIQUE

Chez le sujet normal, la bilirubine est trouvée dans le plasma sous 2 formes:

- une forme non conjuguée (BNC); c'est la forme hydrophobe qui est presque totalement liée à l'albumine. De ce fait, la BNC ne peut franchir la barrière glomérulaire normale. Il n'y a donc pas de BNC dans les urines.
- une forme conjuguée à l'acide glucuronique (BC); c'est la forme hydrosoluble qui est normalement éliminée dans la bile.

L'ensemble de ces deux formes constitue la bilirubine totale (BT). La BT sérique est normalement comprise entre 5 et 17 $\mu\text{mol/l}$ (5-18 mg/l) presque entièrement sous forme de BNC. La bilirubine étant sensible à la photo-oxydation, les prélèvements de sang doivent être acheminés très rapidement au laboratoire d'analyses et être protégés de la lumière. Son dosage s'effectue par une méthode colorimétrique.

L'augmentation de la bilirubine peut porter sur la BNC, la BC ou les deux fractions. Une augmentation de la bilirubinémie entre 20 et 45 $\mu\text{mol/l}$, n'est pas détectable cliniquement.

2) RECHERCHE DE BILIRUBINE DANS LES URINES

Il n'existe pas normalement de bilirubine dans les urines. Sa présence dans les urines est la conséquence d'une élévation de BC dans le plasma. Elle est mise en évidence par une réaction colorimétrique qualitative réalisée sur bandelettes.

3) RECHERCHE ET DÉTERMINATION DES UROBILINOGENES ET UROBILINES DANS LES URINES

Les méthodologies analytiques étant peu satisfaisantes, on se contente, en pratique, d'une appréciation semi-quantitative de ces pigments. Pour cela, il existe des bandelettes réactives qui les détectent dans les urines. Leur présence est importante dans l'ictère hémolytique contrairement à l'ictère cholestatique où ils n'apparaissent qu'à l'état de traces dans les urines.

4) IMPORTANCE CLINIQUE DE LA DÉTERMINATION DE LA BILIRUBINE

En cas de surproduction ou de défaut de conjugaison, on observe une augmentation de la BNC. En cas de lésion hépatique ou d'obstacle à l'écoulement biliaire, la BC reflue dans le plasma. Ainsi, les ictères peuvent ainsi être

classés en : ictères à BNC et ictères à BC.

a) Ictères à BNC

Les principales causes en sont:

- l'hyperhémolyse ou la dysérythropoïèse (destruction intra médullaire des hématies nouvellement formées) impliquant une saturation de la conjugaison,
- la diminution de l'activité enzymatique de la Glucuronyl transférase (GT).

La diminution de la conjugaison par la GT reconnaît plusieurs causes. Chez le nouveau-né, la maturation complète de cette activité enzymatique peut être retardée de quelques jours expliquant en partie l'ictère néonatal dit physiologique qui n'est jamais marqué et disparaît rapidement. Deux anomalies génétiques différentes déterminent une diminution constitutive de l'activité enzymatique : le syndrome de Gilbert (déficit partiel) et le syndrome de Crigler-Najjar (déficit héréditaire total).

Les caractéristiques des ictères à bilirubine nonconjuguée sont les urines claires.

Lorsque la concentration plasmatique en BNC est trop élevée, ayant un caractère peu hydrosoluble, la BNC peut franchir les membranes cellulaires et manifester une cytotoxicité sur les cellules nerveuse appelé encéphalopathie bilirubinique.

Le nouveau-né y est donc particulièrement exposé au cours des hyperhémolyses de l'incompatibilité foetomaternelle et du syndrome de Crigler-Najjar.

b) Ictères à BC

Ils sont dus au reflux dans le milieu intérieur de la bilirubine déjà conjuguée. Ce reflux peut être la conséquence soit d'un dysfonctionnement des hépatocytes (constitutionnel ou acquis), soit d'une obstruction des voies biliaires.

- **Ictère constitutionnel:** Comme l'ictère de Dubin-Johnson: il est dû au déficit du transporteur spécifique de la BC de l'hépatocyte vers les canalicules biliaires.
- **Ictère cholestatique:** On désigne sous le nom de «cholestase» l'ensemble des manifestations liées à la diminution ou à l'arrêt de la sécrétion biliaire. La cholestase peut être due soit à l'obstruction des voies biliaires (intra ou extra hépatiques), soit à l'arrêt ou à la diminution de la production de la bile par les hépatocytes. L'obstruction des voies biliaires intra hépatiques est due le plus souvent à des cancers intra hépatiques. La cholestase extra hépatique est due à l'obstruction de la voie biliaire principale. Les causes les plus fréquentes sont la lithiase et le cancer de la tête du pancréas.

Les conséquences de la cholestase sont en rapport, d'une part, avec l'accumulation dans l'hépatocyte et par voie de conséquence (reflux dans le sang sinusoidal) dans le sang périphérique des substances normalement excrétées par voie biliaire et d'autre part, avec la diminution de ces substances dans la lumière digestive. Le reflux de la BC a pour conséquence l'ictère. Le reflux des acides biliaires pourrait être responsable du prurit.

L'absence de sels biliaires dans la lumière intestinale entraîne une malabsorption des graisses et des vitamines liposolubles A, D, E et K. L'absence de bilirubine dans la lumière intestinale entraîne la disparition des urobilinogènes fécaux avec pour conséquence la décoloration des selles.

Sous l'influence de la cholestase, et selon des mécanismes mal connus, l'hépatocyte fabrique en excès un certain nombre d'enzymes dont la concentration sérique augmente.

Au cours de ces ictères, la BC à caractère hydrosoluble régurgitée dans le sang, passe dans les urines. Les conséquences de ce trouble sont la coloration foncée des urines et la décoloration des selles proportionnelles au degré de cholestase (selles blanc mastic lorsque la cholestase est complète). En cas d'obstruction biliaire totale, on assiste à divers syndromes carentiels: dénutrition (maldigestionabsorption des graisses), déminéralisation (hypovitaminose D), hémorragie (hypovitaminose K).

c) Ictère à BNC et BC (ictère mixte).

C'est le cas de la cirrhose hépatique, au cours de laquelle l'ictère est dû à un métabolisme hépatique ralenti de la bilirubine associé à une perturbation de l'écoulement de la bile.

CONCLUSION

Si les substances azotées non protéiques constituent pour la plupart des déchets du catabolisme azoté, les variations de leur taux sanguin constituent quelques fois de bons indices d'exploration d'un organe comme c'est le cas pour l'urée ou la créatinine. Dans d'autres cas, les troubles de leur métabolisme s'accompagnent de maladies graves qu'il faut savoir reconnaître.

TESTS D'ÉVALUATION

1) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre (s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s)

A - L'NTNP représente la fraction azotée précipitée par les agents de déprotéinisation du plasma

B - L'NTNP représente environ 2 % de l'azote plasmatique total.

C - L'azote uréique constitue 50 % de l'NTNP.

D - L'azote des AA représente l'essentiel de l'azote résiduel pouvant être dosé.

E - L'ammoniac est le principal constituant de l'azote résiduel.

2) Dans les conditions physiologiques, l'ammoniac sanguin

A- Provient en grande partie du catabolisme des acides aminés

B- Existe essentiellement sous sa forme libre

C- Est destiné essentiellement à l'uréogénèse

D Est toxique sous forme libre pour le système nerveux central

E- Son élimination est biliaire

3) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la lettre identifiant le complément correspondant.

1. Est en majorité transporté(e) dans la circulation sous forme de glutamine : _____

2. Est toxique pour le système nerveux : _____

3. Est produit(e) essentiellement par la cellule hépatique : _____

4. Est produit(e) dans toutes les cellules : _____

5. Intervient dans la régulation rénale de l'équilibre acido-basique : _____

A - Urée

B - Ammoniac

4) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la lettre identifiant le complément correspondant.

1. Sa synthèse fait intervenir 3 AA et 2 organes : _____
 2. Sa synthèse est étroitement liée au métabolisme des purines : _____
 3. Sa production journalière est fonction de la masse musculaire du sujet : _____
 4. Existe en solution sursaturée dans la circulation : _____
 5. Sa source est à la fois alimentaire et tissulaire : _____
- A - Acide aminé B - Acide urique C - Créatine D - Créatinine

5) Vous inscrivez dans, l'espace réponse prévu la ou les lettres correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s).

À l'état physiologique,

- A - L'acide urique n'est pas réabsorbé par les tubules rénaux
- B - L'acide urique est sécrété par le tube distal
- C - La créatinine est réabsorbée par les tubules rénaux
- D - Les AA sont réabsorbés dans leur majorité par les tubules rénaux.
- E. L'élimination urinaire de la créatinine dépend de l'apport alimentaire.

6) Quel est le composé azoté non protéique qui intervient dans l'élimination rénale d'acides forts (H⁺)

Sous quelle forme ce composé est-il éliminé dans les urines ?

7) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la ou les lettre(s) identifiant le ou les complément(s) correspondant(s).

Les valeurs plasmatiques sont :

1. plus faibles chez la femme : _____
2. plus faibles en régime végétarien : _____
3. effondrées au stade ultime d'une insuffisance hépatique : _____
4. augmentées en cas d'insuffisance rénale : _____
5. augmentées au cours de la goutte et certaines hémopathies : _____

A - Acide urique B - Créatinine C - Urée

8) Vous inscrivez dans, l'espace réponse prévu la ou les lettres correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s).

La créatinine plasmatique :

- A. représente 50 % de l'azote total.
- B. est un bon reflet de la fonction rénale.
- C. est la principale forme de détoxication de l'ammoniaque chez l'homme.
- D. subit une réabsorption tubulaire.
- E. possède une production indépendante des apports exogènes.

LES PROTÉINES PLASMATIQUES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1 - Identifier une protéine plasmatique sur la base de ses caractères structuraux et de ses propriétés physico-chimiques.
- 2 - Classer les protéines plasmatiques selon leurs fonctions.
- 3 - Expliquer le rôle respectif de chaque protéine plasmatique et préciser la signification physio-pathologique de ses variations.
- 4 - Définir les modalités de synthèse et de dégradation des protéines plasmatiques.
- 5- Citer, selon un choix raisonné les techniques d'exploration des protéines plasmatiques.
- 6 - Formuler le principe des méthodes d'investigation des protéines plasmatiques.

PLAN

I- PROPRIÉTÉS DES PRINCIPALES PROTÉINES PLASMATIQUES

- A) SOLUBILITE
- B) MOBILITÉ ÉLECTROPHORÉTIQUE
- C) PROPRIÉTÉS IMMUNOLOGIQUES
- D) POLYMORPHISME GÉNÉTIQUE

II- PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES DES PROTÉINES PLASMATIQUES

III - MÉTABOLISME ET FONCTIONS DES PROTÉINES PLASMATIQUES

- A) SYNTHÈSE
- B) DÉGRADATION
- C) FONCTIONS
 - 1) Fonctions de l'albumine
 - 2) Les protéines de transport spécifique
 - 3) Les protéines de la coagulation
 - 4) Les protéines de la défense immunitaire
 - 5) Les protéines de l'inflammation
 - 6) Inhibiteurs des protéases
 - 7) Autres protéines circulantes :
 - a) Marqueurs tumoraux
 - b) Protéines de la grossesse
 - c) Enzymes et hormones peptidiques

IV- MÉTHODES D'EXPLORATION ET INTÉRÊT CLINIQUE

- A) CHOIX DES EXAMENS
 - 1) Protidémie totale
 - 2) Protidogramme sur acétate de cellulose
 - 3) Immunoélectrophorèse, immunofixation
 - 4) Dosage spécifique isolé d'une protéine
 - 5) Profils protéiques
- B) APPLICATIONS CLINIQUES

Les protéines du plasma forment un mélange très complexe de protéines simples (holoprotéines) et des formes conjuguées (hétéroprotéines) telles que les glycoprotéines et les lipoprotéines. Elles constituent la majeure partie du résidu sec plasmatique (environ 70 g/l).

Le nombre des protéines connues dépasse la centaine et croît au fur et à mesure des progrès analytiques.

Les protéines plasmatiques assurent de nombreuses fonctions dont le transport plasmatique (métaux, métabolites, hormones, vitamines, xénobiotiques...), le maintien de l'équilibre hydrique, la défense immunitaire, la coagulation

On peut les classer selon leur solubilité (albumine, globulines et fibrinogène) ou leur mobilité électrophorétique (albumine et globulines alpha, bêta et gamma). On peut aussi les ranger selon leur fonction, lorsqu'elle est connue.

L'exploration globale (protéïnémie) ou spécifique des protéines plasmatiques, permet dans de nombreux processus pathologiques, une approche diagnostique et pronostique et peut souvent refléter un suivi thérapeutique.

I- PROPRIÉTÉS DES PRINCIPALES PROTÉINES PLASMATIQUES

A) CARACTERES DE SOLUBILITE

La séparation de protéines individuelles, à partir du plasma, peut être réalisée en utilisant divers solvants et/ou des solutions d'électrolytes.

L'emploi de différentes concentrations de sulfate de sodium ou d'ammonium permet habituellement de séparer les protéines du plasma en 3 groupes principaux : sérum-albumine, sérum-globulines et fibrinogène.

B) MOBILITÉ ÉLECTROPHORÉTIQUE

Les protéines, étant amphotères, se chargent négativement si elles sont placées à un pH supérieur à leur pHi et positivement si le pH est inférieur au pHi.

Placées dans un champ électrique, elles seront soumises à une force capable de provoquer leur migration à une vitesse qui dépend de leur charge nette et de l'importance des forces de frottement dues à la viscosité ou à la texture du milieu ainsi qu'à la forme et aux dimensions des molécules protéiques.

On utilise un tampon de force ionique modérée, un pH franchement alcalin (8,2 à 9,2) et l'acétate de cellulose gélifié ou le gel d'agarose comme support poreux. Dans ces conditions, on obtient une séparation rapide (30 mn à 200 V) des protéines sériques en cinq zones. Après coloration et transpa-risation des bandes, leur balayage densitométrique permet d'établir une courbe caractéristique. L'intégration automatique des aires de chaque pic permet d'obtenir le pourcentage de chacune des 5 fractions et de calculer la concentration absolue (g/l) de celles-ci en se rapportant à la protéïnémie.

Les plus importantes protéines sériques ainsi que leurs valeurs usuelles sont présentées ci-dessous, dans leur ordre de déplacement électrophorétique :

	%	g/l
Albumine	61, 5 ± 6	39 - 54
Globuline α 1	4 ± 1,5	2 - 4
Globuline α 2	8 ± 3	4 - 8
Globuline β	11,5 ± 2,5	6 - 12
Globuline γ	15 ± 5	7 - 16

La séparation des protéines sériques peut être également réalisée par la méthode d'électrophorèse capillaire en veine liquide, qui est plus performante que l'électrophorèse classique, utilisant un flux d'électroendosmose.

C) PROPRIÉTÉS IMMUNOLOGIQUES

Les protéines d'une espèce animale, introduites dans l'organisme d'un animal d'une autre espèce, se comportent comme des antigènes (Ag) suscitant la formation d'anticorps (Ac). Ag et Ac sont capables de se fixer l'un à l'autre en donnant dans certaines conditions, des complexes insolubles. La réaction Ag - Ac est spécifique et très sensible. La réaction Ag-Ac est largement utilisée pour identifier ou doser spécifiquement une protéine donnée.

D) POLYMORPHISME GÉNÉTIQUE

De nombreuses protéines plasmatiques présentent des variantes génétiquement déterminées.

L'intérêt de ces variantes est considérable, car ils constituent un matériel marqueur, héréditairement transmis, d'un apport important pour des études génétiques et anthropologiques. Certains variants génétiques présentent un énorme intérêt clinique quand ils se trouvent associés à une maladie.

Polymorphisme génétique de α 1A : L'ensemble des variantes moléculaires de l' α 1A est réuni sous le vocable «système Pi» (Protéase Inhibitor). Quelques 30 allotypes distincts désignés par le préfixe Pi suivi d'une lettre (B,C,D,E,F,G,I,M,N,P,S, V,W,Y,Z,nul.....) ont été décrits. Certains génotypes aboutissent à une baisse de la sécrétion de l' α 1A par le foie.

L'emphysème pulmonaire est associé avec les phénotypes Pi ZZ et Pi SZ qui s'accompagnent d'une déficience sévère en α 1A. Les poumons sont continuellement exposés à l'inhalation de particules diverses (poussières, fumée de cigarette, bactéries...) qui provoquent une activité phagocytaire importante avec libération d'enzymes lysosomiales du macrophage telles que l'élastase. En cas de déficience en α 1A, celles-ci attaquent le tissu élastique des poumons et provoquent la distension des alvéoles. Quelque 10 à 20 % d'enfants Pi ZZ développent une hépatite néonatale qui évolue dans le 1/3 des cas vers une cirrhose fatale.

II - PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES STRUCTURALES ET FONCTIONNELLES DES PROTÉINES PLASMATIQUES

Les caractéristiques structurales et fonctionnelles des principales protéines plasmatiques sont résumées dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Propriétés et fonctions des principales protéines plasmatiques

Protéine	EP	Demi-vie	Normes (g/l)	B1
Préalbumine (TBPA)/ transthyréline	Alb	2 j	0,25	-transport T3 et T4 & RBP
Albumine	Alb	20 j	45	-transport non spécifique maintien pression oncotique
À fœto-protéine (AFP)	α1	-	-	sécrété par foie fœtal
α1 glycoprotéine acide (α1 GPA)/ Orosio		-	-	très solubilité
α1 anti trypsin (α1 A)		-	3,0	inhibiteur de protéase
Anti thrombine (AT)			-	anti protéase/ cofact. héparine
	α2			anti protéase
α2 macroglobuline (α2 M)			2,5	
				complexe l'hémoglobine
Haptoglobine (Hp)			1,7	
Céruleoplasmine (Cp)	β		-	ferrioxdase, transport Cu
Transferrine (Tf)		-	3	transport fer
Antigène carcino embryonnaire (ACE)	β/γ	-	-	sécrété par colon fœtal
Fibrinogène (Fg)		-	3	coagulation
Immunoglobuline A (IgA)	γ	-	-	immunité humorale
Immunoglobuline M (IgM)		-	-	
Immunoglobuline D (IgD)		-	-	
Immunoglobuline E (IgE)		-	-	
Immunoglobuline G (IgG)		24 j	10	

Demi-vie : temps nécessaire pour que la moitié de la protéine marquée ait disparu de la circulation.

III- MÉTABOLISME ET FONCTIONS DES PROTÉINES PLASMATIQUES

A) SYNTHÈSE

La plupart des protéines plasmatiques sont synthétisées dans le foie. Les immunoglobulines sont produites exclusivement par les cellules B sensibilisées. Des protéines de la surface cellulaire telles que la β2 microglobuline sont fabriquées par plusieurs cellules différentes

1) SYNTHÈSE HÉPATIQUE : Elle est à l'origine de la presque totalité des protéines du plasma. Le facteur essentiel de sa régulation est la disponibilité des acides aminés. Des facteurs toxiques, tels que l'éthanol peuvent inhiber cette synthèse. Certaines hormones exercent un effet important :

Protéines	Corti-coïdes	Androgènes	Œstrogènes
TBPA	-	+	-
Albumine	-	N	-
Orosio-mucoïde	+	+	-
a1A		N	++
Hp		+	++
Cp		N	N
Tf		N	+

2) SYNTHÈSE DES IMMUNOGLOBULINES: se fait par les plasmocytes, qui dérivent des lymphocytes B sensibilisés (Cf cours immunologie)

3) SYNTHÈSE DE LA β2 MICROGLOBULINE: est synthétisée par presque toutes les cellules nucléées. Les cellules tumorales et les lymphocytes ont une production particulièrement élevée. Son dosage présente un intérêt dans la surveillance de l'évolution des leucémies, lymphomes et myélomes.

B) DÉGRADATION

La destruction des protéines plasmatiques se produit à des degrés divers dans la plupart des cellules de l'organisme. Cette dégradation a lieu dans les cellules de l'endothélium capillaire après pinocytose et digestion par les enzymes lysosomiales. Le rôle du foie dans le catabolisme protéique est également capital.

Le côté glucidique de la chaîne peptidique semble jouer un rôle clé dans le contrôle de cette dégradation. Les glycoprotéines plasmatiques possèdent sur chacune de leurs chaînes glucosidiques en position la plus externe, un résidu d'acide sialique, suivi d'un résidu de galactose, le premier signal de dégradation est le clivage de l'acide sialique, démasquant le galactose.

Après désialylation, les glycoprotéines exprimant le galactose sont captées très rapidement par les récepteurs à galactose et dégradées par les enzymes lysosomiales. Ainsi, une copule glucidique intacte ralentit donc le catabolisme hépatique des glycoprotéines plasmatiques.

Les glycoprotéines dont la partie glucidique a pour résidu d'ose le plus superficiel, un mannose, une N-acétylglucosamine ou un glucose, sont fixées par des récepteurs spécifiques de la membrane des macrophages, internalisées et détruites.

Le signal de dégradation des holoprotéines tel que l'albumine n'est pas connu.

Le rein a depuis longtemps, été connu comme étant le site de dégradation des protéines de faible PM telles que β_2 microglobuline ou les chaînes légères des Ig.

C) FONCTIONS DES PRINCIPALES PROTÉINES PLASMATIQUES

En dépit de l'immense développement de nos connaissances concernant les protéines plasmatiques au cours des dix dernières années, la fonction biologique de plusieurs d'entre elles reste encore non élucidée.

1) FONCTIONS DE L'ALBUMINE : Ses fonctions multiples lui confèrent une place à part.

- Transport de molécules endogènes (acides gras, bilirubine, hormones, acide urique, cations, anions...) ou exogènes (colorants, métaux, médicaments tels que barbituriques, sulfamides, antibiotiques, anti-vitamine K, anti-inflammatoires...)
- Maintien de la pression oncotique dont elle prend une part importante (75 %)
- Réserve d'acides aminés couvrant les besoins de la synthèse protéique.

Le dosage de l'albumine présente un intérêt diagnostique, pronostique et de suivi des états de dénutrition chroniques.

2) PROTÉINES DE TRANSPORT SPÉCIFIQUE : certaines protéines sont présentes dans le plasma pour assurer le transport de molécules biologiquement actives soit pour les solubiliser soit pour les neutraliser, soit encore pour en constituer une réserve immédiatement disponible.

a) Les lipoprotéines : sont des complexes macromoléculaires sphéroïdales associant des apoprotéines et différents lipides (cf cours lipoprotéines).

b) Hormones et vitamines :

- Transthyrétine (TTR) anciennement appelée TBPA (thyroxin binding prealbumin) pour sa migration électrophorétique : transporte les hormones thyroïdiennes, mais se lie également à la RBP (Retinol binding protein), protéine de transport plasmatique de la vitamine A. Elle est considérée comme un marqueur nutritionnel de choix pour le diagnostic des états de dénutrition aigus et le suivi de la prise en charge nutritionnelle.

- TBG (Thyroxin binding globulin) : transporte plus spécifiquement environ les 3/4 de T3 et T4

- SHBG (sex hormone binding globulin) : fixe la majeure partie de la testostérone et de l'œstradiol

- TC (Transcobalamine) : synthétisée par les granulocytes (TCI) et par le foie (TCII), transporte la vitamine B12.

c) Métalloprotéines :

- Cp ou ferroxydase : fixe près de 95 % du cuivre plasmatique. Elle manifeste également une activité ferroxidasique et contrôle l'incorporation du Fe^{3+} dans la transferrine.

- Tf ou sidérophiline : assure l'essentiel du transport plasmatique du fer (Fe^{3+}), mais n'est saturée normalement qu'au 1/3 de sa capacité. Son dosage est un marqueur de l'état nutritionnel.

- Hp : En cas de processus hémolytique, l'Hp se lie rapidement à l'Hb et le complexe est rapidement éliminé de la circulation par l'hépatocyte. Sa concentration diminue en cas d'hémolyse intravasculaire et d'insuffisance hépatique.

3) PROTÉINES DE LA COAGULATION : Une dizaine de protéines plasmatiques se trouvent impliquées dans le processus de la coagulation sanguine : ces protéines activées par des réactions de clivage enzymatique en cascade aboutissent à la transformation de la prothrombine en thrombine. Cette dernière transforme le fibrinogène soluble en fibrine, dont les molécules s'associent pour former un polymère insoluble. Le système de coagulation sanguine est soigneusement contrôlé pour éviter la formation intempestive de caillots par l'existence de l'AT et de l'héparine, la sécrétion de la thrombine sous forme de proenzyme et l'activation du plasminogène en plasmine qui digère la fibrine et dissout le caillot.

4) PROTÉINES DE LA DÉFENSE IMMUNITAIRE :

a) Immunoglobulines :

- IgG : présentes à forte concentration dans le plasma (75 % des Ig plasmatiques). Elles ont une demi-vie longue (24 j). Ce sont les seules Ig traversant le placenta pendant le dernier trimestre de la gestation.

- IgA : existent dans le plasma essentiellement sous la forme d'un monomère. Elles sont surtout synthétisées dans les lymphocytes des muqueuses digestive et respiratoire. L'IgA pénètre dans les cellules de la muqueuse qui en forment un dimère destiné à être sécrété à la surface luminale pour protéger les muqueuses contre l'invasion microbienne.

- IgM : sont largement confinées dans l'espace vasculaire, à cause de leur PM très élevé. L'IgM est présente avec les IgD à la surface des lymphocytes B non stimulés et est la première sécrétée à la suite de la stimulation par l'ag. Les iso-hémagglutinines du groupe sanguin sont des IgM.

- IgD : jouent avec les IgM, le rôle de récepteur membra-

naire sur le lymphocyte B. Sa région charnière est très sensible aux enzymes protéolytiques ce qui explique sa faible teneur dans le plasma.

- IgE : synthétisées au niveau des amygdales, des formations adénoïdes, des ganglions lymphatiques bronchiques et péritonéaux. La fixation des IgE sur les mastocytes et les basophiles préalablement sensibilisés provoque la libération de médiateurs (histamine, sérotonine, kinines) qui entraînent une hyperperméabilité capillaire et la contraction des muscles lisses. C'est la réaction d'hypersensibilité immédiate (asthme, urticaire...).

b) Complément :

C'est un ensemble d'une quinzaine de protéines (α , β , γ) qui, après activation, interagissent l'une avec l'autre d'une manière séquentielle pour produire des molécules facilitant l'élimination des ag par lyse et phagocytose. Les glycoprotéines du système C représentent 5 à 10 % des globulines du sérum humain normal et sont synthétisées par les macrophages du SRE (foie, rate, ganglions, poumons), certaines cellules épithéliales de l'intestin et du foie et les fibroblastes.

Les activités biologiques du complément sont nombreuses : fixation sur des complexes immuns avec modification de leur solubilité, cytolyse, neutralisation virale, inflammation (perméabilité vasculaire, chimio- tactisme, libération de médiateurs comme l'histamine, phagocytose)

c) Protéine C réactive:

En formant des complexes avec des glycopeptides contenant un N-acétyl galactosamine 6 phosphate comme résidu terminal, la CRP active le complément et facilite la phagocytose.

d) **Procalcitonine (PCT)**: Marqueur récent, sensible et spécifique de l'origine bactérienne du syndrome inflammatoire. Contrairement aux **cytokines** pro-inflammatoires et à la **CRP**, la PCT s'élève au cours des infections bactériennes, parasitaires et fongiques, mais pas au cours des infections virales ou des pathologies inflammatoires non infectieuses. Elle est utilisée comme marqueur biologique de la gravité d'une **infection**.

5) PROTÉINES DE L'INFLAMMATION

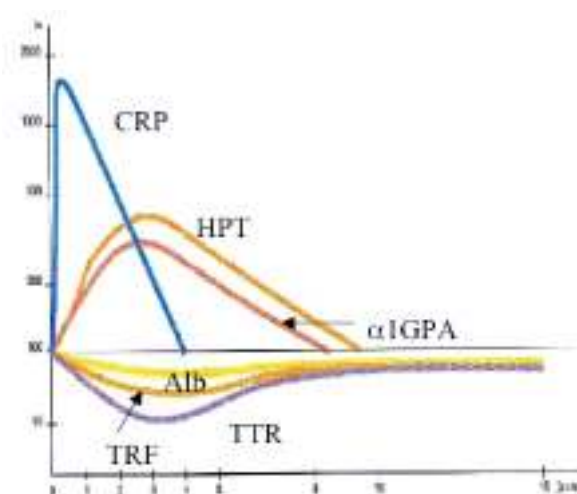
Au cours du processus inflammatoire (infection, traumatisme, brûlure, formation d'immuns complexes et processus malins), le foie, informé par des substances libérées à partir des tissus lésés et des macrophages, modifie la synthèse et la sécrétion protéique. Il se produit une augmentation échelonnée dans le temps de certaines protéines, appelées protéines de la phase aiguë de l'inflammation «acute phase reactant proteins».

Parallèlement, il se produit une légère baisse des protéines négatives de l'inflammation, dont l'albumine, la TTR et la Tf. Cliniquement, le dosage du taux sérique de

ces protéines est d'un grand intérêt pour la détection, le pronostic et le suivi thérapeutique des phénomènes de l'inflammation (tableau 2 , figure 1).

Tableau 2 : Protéines de la phase aiguë de l'inflammation

Protéine	Délai de réponse	Rôle
CRP	6 à 10 heures	Opsonine
α 1 AT, Hp	24 heures	Inhibiteur de protéase
α 1GPA (Oroso)	24 à 48 heures	Inhibiteur de l'agrégation pq, de l'activation des PNN et la production des cytokines



Fibrinogène	24 à 48 heures	Coagulation
Cp	24 à 48 heures	Élimination des radicaux libres

Figure 1 : Cinétique des principales protéines de l'inflammation

6) LES INHIBITEURS DES PROTÉASES

Ces protéines s'associent aux protéases libérées, notamment lors de la phagocytose, permettant de neutraliser leur activité catalytique. Elles assurent la protection des protéines structurales et fonctionnelles de la protéolyse. Un déficit en ces protéases peut s'associer à diverses pathologies.

- Le déficit en α 1A se traduit par de l'emphysème chez l'adulte et un ictère néonatal chez l'enfant.
- Une baisse de l' α 2M est observée dans la pancréatite aiguë
- De faibles taux de AT peuvent s'associer à une tendance à développer des thromboses.

7) AUTRES FONCTIONS

a) **Les marqueurs tumoraux** : Il semble probable que plusieurs protéines tissulaires sont déversées dans le plasma comme résultat du turn-over cellulaire. Ceci est

vrai pour certaines enzymes et quelques protéines de la membrane cellulaire telles que β_2 microglobuline. Certaines tumeurs malignes sont capables également d'induire l'expression de gènes normalement réprimés dans les cellules matures et rendre détectable le taux plasmatique de certaines protéines (AFP, ACE). L'augmentation de leur concentration, malgré son manque de spécificité, permet par une étude cinétique quantitative de suivre l'évolution du processus pathologique.

b) Les protéines de la grossesse : La concentration de diverses protéines plasmatiques varie au cours de la grossesse. Plusieurs d'entre elles sont synthétisées dans le foie :

- Albumine, orosomucoïde et Hp : baissent
- AFP, α_1A , α_2M , Cp, Tf, LP, IgD : s'élèvent.

Depuis quelques années, on a isolé du placenta et du sérum, des protéines plus spécifiques : - SP1, SP2, SP3 et PAPP.

IV- MÉTHODES D'EXPLORATION ET INTÉRÊT CLINIQUE

Le dosage des protéines par diverses méthodes apporte des renseignements fort utiles pour le diagnostic et le suivi de nombreuses pathologies aiguës ou chroniques.

A) CHOIX DES EXAMENS

1) PROTÉINÉMIE TOTALE

La protidémie est de 72 ± 7 g/l chez l'adulte et de 50 ± 10 g/l chez l'enfant.

- L'hyperprotidémie (> 80 g/l) peut s'observer en cas d'hémoconcentration ou d'hypersécrétion d'une ou plusieurs protéines, souvent d'immunoglobulines.
- L'hypoprotidémie (< 60 g/l), s'accompagnant souvent d'œdèmes, peut être observé en cas d'hémodilution, de diminution des apports (carence, malabsorption), de défaut de synthèse endogène (insuffisance hépatique), perte exagérée rénale (syndrome néphrotique) ou digestive (entéropathie exsudative). Une protidémie normale peut cacher une dysprotéinémie masquée (rapport Alb/Globulines inversé).

2) ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES SÉRIQUES

Cette analyse, simple et peu coûteuse, est couramment pratiquée. Bien qu'il s'agisse d'une analyse semi-quantitative peu précise et peu reproductible, elle peut fournir des renseignements fort utiles lorsqu'on considère les variations combinées des différentes fractions. Cependant, certains profils électrophorétiques sont caractéristiques de pathologies précises comme la dysglobulinémie et le syndrome néphrotique.

La variation de chacune des fractions traduit la variation de la ou des protéines majoritaires au sein de la fraction. Les variations des protéines mineures ne peuvent en aucun cas être observées sur le protidogramme.

a) Albumine : L'hypo albuminémie répond aux mêmes causes d'hypoprotidémie.

b) Zone α_1 : constituée essentiellement de l' α_1A et

l' α_1 GPA (orosomucoïde). Cette fraction baisse en cas de déficit en α_1A et en cas d'insuffisance hépatique et s'élève dans les états inflammatoires.

c) Zone α_2 : constituée principalement de α_2M et Hp. Cette fraction baisse en cas d'hémolyse in vivo (l'Hp se fixe sur l'hémoglobine et le complexe est phagocyté et dégradé) et s'élève dans les états inflammatoires.

d) Zone β : constituée principalement par la Tf et les β lipoprotéines. Cette fraction baisse en cas d'atransferrinémie et s'élève en cas d'anémie ferriprive et dans les hypercholestérolémies.

e) Zone γ : constituée principalement par les immunoglobulines. Les IgA ont la mobilité la plus anodique et migrent dans l'interzone β/γ . Une déficience en IgA est suggérée par une pâleur inhabituelle de cette zone et les taux élevés d'IgA (cirrhose...) aboutissent à une fusion des bandes β et γ (bloc $\beta\gamma$).

L'augmentation polyclonale des Ig peut concerner toutes les sous-classes (augmentation généralisée des gamma). Les Ig monoclonales (Igmc) sont le plus souvent observées au niveau de la bande γ ou pré γ . Elles peuvent être notées en β ou même α_2 si elles forment des complexes avec d'autres protéines. Parce que la concentration plasmatique normale des IgG est plus élevée que celle des autres Ig, la bande γ -globulines visualisée sur l'électrophorèse d'un sérum normal est en grande partie due aux IgG.

La CRP forme une bande très étroite au milieu de la bande des γ -globulines.

3) IMMUNO-ÉLECTROPHORÈSE / IMMUNOFIXATION/ IMMUNOTYPAGE

Elles sont des méthodes qualitatives, permettant de déceler et de caractériser une Igmc. L'immunofixation et l'immunotypage sont plus rapides, plus objectifs, mais plus coûteux.

4) DOSAGE SPÉCIFIQUE ISOLÉ D'UNE PROTÉINE :

Plusieurs techniques sensibles permettent actuellement de doser spécifiquement une protéine donnée du plasma. Pour les protéines dont la concentration est de l'ordre du gramme ou milligramme, on peut utiliser l'immunodiffusion radiale (IDR), l'électroimmuno diffusion (EID), la turbidimétrie ou la néphélémétrie. Les protéines dont la concentration est de l'ordre des microgrammes ne peuvent être dosées que par les méthodes radio immunologiques (RIA) ou immunoenzymatiques (ELISA).

Cette quantification précise des protéines plasmatiques apporte des renseignements sémiologiques supplémentaires aux classiques profils électrophorétiques et permet de mieux suivre l'évolution d'un syndrome biologique et d'apprécier l'efficacité thérapeutique

5) PROFIL PROTÉIQUE :

Correspond au dosage simultané par néphélémétrie de 8 des principales protéines du plasma ; Albumine, α_1 GPA (Orosomucoïde), Hp, Tf, CRP, IgG, IgA, IgM et C3. Il apporte au clinicien des informations plus fines et plus fiables que l'électrophorèse. En permettant de déceler des variations mêmes faibles, particulièrement de certaines protéines dont la concentration plasmatique est faible, le profil protéique permet le dépistage précoce de certaines affections cliniquement muettes. Toutefois, le

coût très élevé du profil protéique limite son utilisation en pratique médicale. La meilleure stratégie serait d'associer l'électrophorèse des protéines au dosage d'une ou de deux protéines spécifiques choisie(s) en fonction des circonstances cliniques (CRP, α 1GPA ou α 1 A pour l'inflammation; Alb, TTR ou RBP pour la malnutrition; Ig A, G, M ou C3 pour les troubles immunitaires, Hp pour l'hémolyse; Tf pour l'exploration des anémies ...).

B) APPLICATIONS CLINIQUES

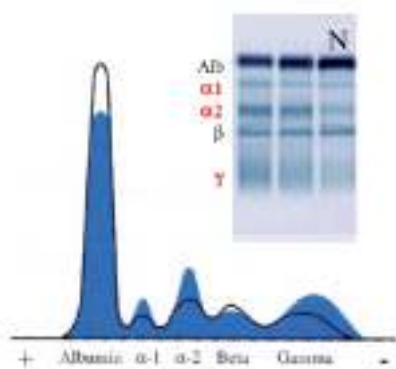
La combinaison du dosage spécifique des protéines plas-



matiques et de l'électrophorèse présente une grande valeur diagnostique pour certaines affections.

1) MALADIES DU FOIE :

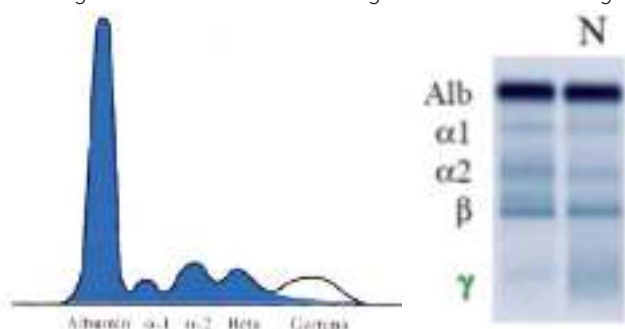
- Hépatite : augmentation α 1A, IgG et IgM (A) ou IgG (B); diminution Alb
- Cirrhose : augmentation IgA surtout (Bloc β - γ) et α LP; diminution Alb, Hp, Tf
- Ictère par rétention : augmentation Cp, Lpx
- Maladie de Wilson : diminution Cp



2) INFLAMMATION :

Le dosage des protéines de l'inflammation (CRP, α 1GPA ou α 1 A) est utilisé dans le diagnostic et la surveillance des états inflammatoires.

Les modifications électrophorétiques se traduisent par une augmentation des α 1 et α 2 globulines et une légère



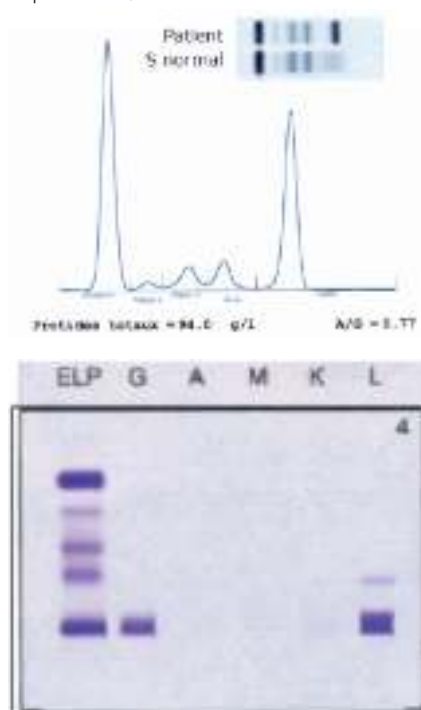
baisse de l'albumine

3) MALADIES IMMUNITAIRES :

Certaines s'accom-

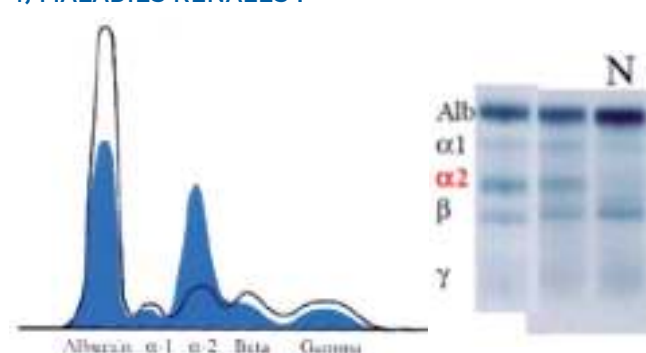
pagent de changements protéiques particuliers :

- Un déficit immunitaire à l'origine d'infections récurrentes, est diagnostiqué devant une baisse importante d'une ou des immunoglobulines (dosage spécifique) et/ou une diminution importante de la fraction γ globulines.
- La formation d'immuns-complexes circulants au cours de glomérulonéphrites et des endocardites bactériennes est diagnostiquée par la baisse de la fraction C3 du complément,



- Une augmentation du taux des IgM dans le sang du cordon ou chez le nouveau-né est le signe d'une infection intra-utérine.
- La dysglobulinémie est suspectée devant la mise en évidence d'une Igmc à l'électrophorèse et confirmée par immunoelectrophorèse ou immunofixation. Ces dernières permettent le typage de dysglobuline monoclonale.

4) MALADIES RÉNALES :



La perte glomérulaire des protéines s'accompagne de taux plasmatiques élevés de α 2M et β LP avec baisse de Alb, Tf et IgG. En électrophorèse, on note une baisse du pic de l'albumine avec augmentation des α 2 et des β globulines.

La clairance des protéines à faible PM comme la β 2 microglobuline est très utile pour évaluer une atteinte tubulaire.

5) TROUBLES DE L'HÉMOSTASE : Ils sont explorés par dosage spécifique des différents facteurs de la coagulation.

6) MALADIES CANCÉREUSES :

Plusieurs types de tumeurs produisent des protéines qui peuvent être utilisées avec des degrés divers de spécificité pour leur diagnostic et leur surveillance :

- AFP (hépatome), ACE (K. colorectum, K. pancréas...)
- $\beta 2$ microglobuline (leucémies, lymphomes, myélomes)
- Igmc (myélomes, Waldenström)
- oroso, Hp et Cp (maladie de Hodgkin)
- oroso, Hp (K. rein, bronches, ovaires...)

7) HÉMOLYSE INTRA VASCULAIRE : diagnostiquée par un effondrement de l'Hp et une baisse de la fraction $\alpha 2$ en électrophorèse

8) CARENCE EN FER : en plus de la baisse du taux de fer sérique, il existe une élévation de la Tf et une baisse de la ferritine (protéine de stockage du fer, présente en faible concentration dans le sérum).

9) MALNUTRITION : La baisse de l'Alb se voit en cas de malnutrition chronique (demi vie=20j) et la baisse de la TTR (demi-vie= 2 j) signe la malnutrition débutante.

TESTS D'ÉVALUATION

1) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s)

Les protéines plasmatiques :

- A - constituent plus des 4/5 du résidu sec du plasma
- B - totalisent plus de 100 g par litre de plasma
- C - leur nombre dépasse la centaine
- D - sont composées essentiellement de globulines
- E - sont responsables de la plupart des fonctions du sang

2) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s)

Le fibrinogène :

- A - est une protéine plasmatique
- B - est présent dans le sérum sanguin
- C - est une des protéines les plus abondantes dans le plasma
- D - est un facteur de la coagulation
- E - donne un pic γ à l'électrophorèse des protéines sériques

3) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la lettre identifiant le complément correspondant.

- 1) La plus abondante des protéines plasmatiques _____ :
- 2) Insoluble(s) à 1/2 saturation de $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$ _____ :
- 3) Mélange complexe de protéines _____ :
- 4) Classe homogène de protéines _____ :
- 5) Absente(s) du sérum sanguin _____ :

A) Albumine

B) Globulines

C) Fibrinogène

4) Citer par ordre croissant de leur mobilité électrophorétique, les différentes classes de protéines plasmatiques en précisant leurs proportions relatives habituelles et leur concentration en g/ pour une protidémie normale de 75 g/l

	Classe	%	g/l
1)	_____	_____	_____
2)	_____	_____	_____
3)	_____	_____	_____
4)	_____	_____	_____

5) _____

5) Classer les protéines plasmatiques suivantes selon leur mobilité électrophorétique

	Symbole	μ
1) Transferrine	_____	_____
2) Ceruloplasmine	_____	_____
3) Haptoglobine	_____	_____
4) Fibrinogène	_____	_____
5) Immunoglobulin G	_____	_____
6) Antithrombine III	_____	_____

6) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre on note la lettre identifiant le complément correspondant.

- | | | | |
|--|-------|---|-------|
| 1) Assure le transport du fer (Fe^{+++}) | _____ | : | _____ |
| 2) Contrôle l'incorporation du fer (activité ferroxidasique) | _____ | : | _____ |
| 3) Accélère l'élimination de Hb en cas d'hémolyse | _____ | : | _____ |
| 4) Transporte les hormones thyroïdiennes | _____ | : | _____ |
| 5) Assure le transport des acides gras | _____ | : | _____ |

A - Cp

B - Hp

C - Tf

D - Albumine

E - TTR

7) Citer les deux protéines plasmatiques :

- Les plus anodiques à l'électrophorèse des protéines sériques : _____
- Les plus utilisées dans la surveillance des états de dénutrition : _____
- Qui présentent une activité ferroxidasique : _____
- Majoritaires en migration α_2 à l'électrophorèse des protéides sériques : _____

8) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s)
L'albumine

A) est une holoprotéine

B) a une teneur plasmatique normale de 20 g/l

C) transporte le Fe^{3+}

D) a une demi-vis de 1,9 jours

E) augmente au cours des états inflammatoires

9) Citer 5 protéines plasmatiques, de mobilité alpha, produites par l'hépatocytes :

10) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre on notera la ou les lettre(s) identifiant le ou le complément(s) correspondant.

- | | | | |
|--|-------|---|-------|
| 1) Est (sont) une (des) métalloprotéine(s) | _____ | : | _____ |
| 2) Est (sont) une (des) antiprotéase(s) | _____ | : | _____ |
| 3) Est (sont) une (des) protéine fœtale(s) | _____ | : | _____ |
| 4) Grande affinité pour le cuivre | _____ | : | _____ |
| 5) Grande affinité pour l'hémoglobine | _____ | : | _____ |

À - AFP

D - Hp

B - AT III

C - α 2M

E - Tf

F - Cp

11) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s)

- A) Le foie est à l'origine de plus des 4/5 des protéines plasmatiques
- B) Certaines hormones influent sur la synthèse des protéines plasmatiques
- C) Toute cellule nucléée produit de l'albumine
- D) la β 2 m est synthétisée exclusivement par les lymphocytes B
- E) Le foie est le site de dégradation de la β 2 m

12) Préciser le sens des variations plasmatiques (+ ou -) des protéines suivantes au cours de la grossesse (œstro-gènes) ou lors d'un état inflammatoire (corticoïdes)

	Grossesse	Inflammation
TBPA, Alb		
A1GPA, Hp		

13) Citer trois protéines plasmatiques dont la teneur augmente au cours de la grossesse :

14) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s)

La dégradation des protéines plasmatiques

- A - Est réalisée par les enzymes lysosmiales après pinocytose
- B - Est réalisée essentiellement par les macrophages
- C - Est réalisée essentiellement par le foie
- D - utilise comme 1er signal de dégradation le clivage de l'acide sialique
- E - Est ralentie par la présence d'une copule glucidique intacte.

15) Citer quatre sites de dégradation possibles des protéines plasmatiques.

16) Citer pour la sérum -albumine :

- 2 propriétés structurales _____
- 2 Propriétés électrophorétiques _____
- 3 Fonctions : _____

17) Citer trois protéines plasmatiques impliquées dans le processus de la coagulationsanguine.

18) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre on noter la lettre identifiant le complément correspondant.

- 1) Confinée(s) dans l'espace vasculaire _____ : _____
- 2) Représente (nt) 75 % des Ig plasmatiques _____ : _____
- 3) Les iso-hémagglutinines du groupe sanguin appartiennent à cette classe d'Ig : _____ : _____
- 4) Traverse (nt) le placenta _____ : _____

5) Est (sont) la (les) première(s) sécrétée(s) après stimulation par l'ag : _____ : _____

A- IgG, B-IgM

19) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre on noter la lettre identifiant le complément correspondant.

1) Est (sont) une (des) lg de surface _____ : _____

2) Est la première sécrétée à la suite de la stimulation
des lymphocytes B par l'ag spécifique _____ : _____

3) À (ont) une demi-vie de 24 jours _____ : _____

4) Protège(nt) les muqueuses contre l'invasion microbienne _____ : _____

5) responsable(s) de la réaction d'hypersensibilité immédiate _____ : _____

À -IgG, B-IgA, C-IgM, D-IgD, E-IgE

20) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettres(s) correspondant la ou aux proposition(s) exacte(s)
Les immunoglobulines M :

A - Sont sécrétées en réponse à la présence d'organismes parasites dans l'espace vasculaire.

B - Provoquent, par leur combinaison à l'ag spécifique, la dégranulation des mastocytes.

C - Forment les iso-héماغلutinines du groupe sanguin.

D - Traversent le placenta

E - Existents dans le plasma essentiellement sous la forme d'un dimère.

21) Citer quatre protéines de la phase aiguë de l'inflammation migrant respectivement en :

- α_1 : _____ - β/γ : _____

- α_2 : _____ - γ : _____

22) Citer en fonction de leur rapidité de variation, six protéines de la phase aiguë de l'inflammation :

- 6 heures : _____

- 24 heures : _____

- 36 heures : _____

23) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre on noter la lettre identifiant le ou les complément(s) correspondant(s).

1) protéine(s) de défense immunitaire _____ : _____

2) protéine(s) de l'inflammation (Phase aiguë) _____ : _____

3) protéine(s) de transport spécifique _____ : _____

4) inhibiteur(s) des protéases _____ : _____

5) Facteurs(s) de la coagulation _____ : _____

A - α_1A B- Cp C-Fg D-CRP E-IgG

24) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre on noter la lettre identifiant le ou les complément(s) correspondant(s).

1) Active(nt) le C' et facilite(nt) la phagocytose _____ : _____

2) Contribue(nt) à l'élimination rapide des protéases _____ : _____

3) Contribue(nt) à l'élimination rapide de l'Hb _____ : _____

4) Détruit(ent) les radicaux libres des peroxydes _____ : _____

5) Déclenche(nt) le processus de la coagulation _____ :

A - α 1GA B- α 1A C- α 2M D-Cp E-Hp F- CRP

25) Citer trois protéines dont le taux sérique augmente au cours de la grossesse normale :

1) d'origine maternelle : _____

2) d'origine fœtale : _____

3) d'origine placentaire : _____

26) Citer le nom de trois alpha-globulines et d'une β globuline d'origine maternelle dont la teneur sérique augmente au cours de la gestation.

1) α 1 globuline(s) : _____

2) α 2 globuline(s) : _____

3) β globuline : _____

27) Classer par ordre de priorité (1 à 4) les méthodes suivantes d'exploration des protéines plasmatiques :

1) Immunoélectrophorèse _____ :

2) Dosage spécifique d'une protéine _____ :

3) Protidogramme sur acétate de cellulose/gel d'agarose _____ :

4) Protidémie _____ :

28) Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettres(s) corespondant la ou aux poposition(s) exacte(s)

Une protidémie :

A) est le dosage global de l'albumine et des globulines plasmatiques

B) peut renseigner sur les variations du volume plasmatique

C) est considérée normale à 58 g/l chez l'enfant

D) est abaissée en cas de syndrome néphrotique

E) permet, quand son taux est normal, d'exclure toute anomalie des protéines plasmatiques.

29) Citer trois circonstances pathologiques s'accompagnant d'une hypoalbuminémie :

1) par défaut de synthèse : _____

2) par Perte exagérée : _____

3) par diminution des apports : _____

30) Devant chaque proposition identifiée par un chiffre on noter la lettre identifiant le complément correspondant.

1) Élévation du taux des α 1 et α 2 globulines _____ :

2) Élévation du taux des α 1 et des β globulines _____ :

3) Augmentation polyclonale des γ globulines _____ :

4) Augmentation monoclonale d'une γ globuline _____ :

5) Augmentation « d'un bloc β -gamma _____ :

A- Hépatite B- Cirrhose du foie C- Sd.néphrotique D- Sd. inflammatoire E- Myélome

31) Indiquer le sens de la variation de chaque fraction du protidogramme en inscrivant le signe (+, - ou =) dans les cases correspondantes du tableau :

	Alb	α_2	β	γ
Cirrhose				
S. néphrotique				
Myélome γ				

32) Indiquer le nom de la protéine plasmatique responsable :

- 1) de l'augmentation des α_2 dans le SN _____ :
- 2) de l'augmentation des β dans le SN _____ :
- 3) de la baisse des γ dans le SN _____ :
- 4) de l'augmentation des γ dans la maladie
de Waldenstrom _____ :
- 5) du comblement de l'espace β/γ dans la cirrhose du foie _____ :

33) Citer par ordre de priorité les différentes étapes du diagnostic biochimique d'un myélome, en précisant la nature des résultats obtenus à chaque étape :

Étapes	Résultats
1) _____	_____
2) _____	_____
3) _____	_____
4) _____	_____
5) _____	_____

MÉTABOLISME ACIDO-BASIQUE ET SON EXPLORATION

PLAN

A. GÉNÉRALITÉS

1. NOTION de pH

2. NOTION de TAMPON

2.1. Définition

2.2. Métabolisme du CO₂ et fonctionnement du Système Tampon Bicarbonate/Acide carbonique

2.2.1. Métabolisme du CO₂

2.2.2. Fonctionnement du système Tampon Bicarbonate/Acide carbonique

3. MÉCANISMES RÉGULATEURS

3.1. Tampons extracellulaires

3.2. Tampons intracellulaires

3.3. Régulation respiratoire du pH

3.4. Régulation respiratoire du pH

B. MÉTHODES D'APPRÉCIATION CLINIQUE DE L'ÉQUILIBRE ACIDO-BASIQUE

1. GRANDEURS MESURÉES

2. REPRÉSENTATION GRAPHIQUE

C. DIFFÉRENTES VARIÉTÉS DE PERTURBATIONS DE L'ÉQUILIBRE ACIDOBASIQUE

1. DÉFINITION

2. ACIDOSE MÉTABOLIQUE

2.1. Généralités

2.2. Tableau clinique

2.3. Perturbations biologiques associées

2.4. Étiologies

2.4.1. Acidose métabolique avec Trou Anionique élevé

2.4.2. Acidose métabolique avec Trou Anionique normal

3. ALCALOSE MÉTABOLIQUE

3.1. Tableau clinique

3.2. Signes biologiques d'accompagnement

3.3. Étiologies

4. ALCALOSE RESPIRATOIRE

4.1. Étiologies

4.1.1. Hyperventilation mécanique

4.1.2. État de Choc

4.1.3. Hypoxie aiguë

4.1.2. Hyperventilation d'origine centrale

4.2. Signes biologiques d'accompagnement

4.3. Signes cliniques

5. ACIDOSE RESPIRATOIRE

5.1. Signes cliniques

5.2. Signes biologiques d'accompagnement

5.3. Étiologies

A. GÉNÉRALITÉS

L'alimentation et l'ensemble des métabolismes aboutissent à la production d'environ 80 mmol d'ions H⁺ et de 13500 mmol de CO₂ par jour. Malgré cette production constante d'hydrogène, par conséquent de valence acide, le pH sanguin reste remarquablement stable à 7,40 ± 0,02, et le pH intracellulaire très voisin de 7. À la production obligatoire d'acide et de gaz carbonique qui découlent des phénomènes vitaux, l'organisme oppose des mécanismes d'élimination ou de camouflage de ces valences acides afin que les cellules puissent être maintenues dans une ambiance de neutralité acido-basique. L'équilibre acido-basique d'une solution dépend de la concentration en ions H⁺ et en ions OH⁻. Dans une solution aqueuse à pH neutre, le produit :

$$H^+ \times OH^- = 10^{-14}$$

À pH 7 les concentrations en H⁺ et OH⁻ sont égales chacune à 10⁻⁷.

1. NOTION DE PH

La concentration en ions H⁺ dans le sang étant très faible, il est d'usage depuis, SOERENSEN, d'utiliser la notion de pH pour exprimer l'acidité d'un milieu.

$$pH = \frac{1}{\log [H^+]} = -\log [H^+]$$

Selon la théorie de BRONSTEDT, un acide est un **donneur** d'H⁺, une base est un **accepteur** d'H⁺.

Un acide fort est complètement dissocié en ions H⁺, un acide faible est peu dissocié donc donnant peu de H⁺.

2. NOTION DE TAMPON

DÉFINITION

Un tampon est l'association d'un acide faible et d'une base conjuguée:



Un tampon mélangé à un acide fort « piège » les H⁺ libres et freine les variations de pH (ou de quantité d'ions H⁺ libres), la quantité totale d'acide restant la même, seule la dissociation variant.

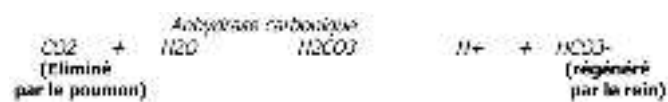
Un tampon est donc un système qui permet d'atténuer les variations de pH qui résultent soit de l'ajout d'un acide soit de celui d'une base. Il amortit les variations de concentration en H⁺ du milieu dans lequel il se trouve. Un système tampon est constitué par un couple formé par un acide faible et un sel alcalin de cet acide. Les acides faibles en solution sont incomplètement dissociés et sont capables de fixer ou de relâcher des H⁺ suivant

la concentration du milieu. Si dans une solution contenant un système tampon on ajoute un acide fort, celui-ci va se combiner avec la partie basique du tampon dont la concentration diminue alors que la concentration en acide faible du tampon augmente. Ainsi, l'acide fort ajouté dans le milieu a été remplacé par un acide faible. Si dans la même solution tamponnée on ajoute une base forte, celle-ci se combine à l'acide faible du tampon qui voit sa concentration diminuer, alors qu'augmente la concentration en base tampon. La base forte est remplacée par une base faible.

Métabolisme du CO_2 et fonctionnement du système tampon Bicarbonate/Acide carbonique

2.2.1. Métabolisme du CO_2

Le CO_2 dissout dans le sang s'hydrate dans les hématies, réaction accélérée par la présence d'une enzyme l'anhydrase carbonique. Il se forme ainsi l'acide carbonique H_2CO_3 selon la réaction suivante qui est en équilibre selon la loi d'action de masse:



2.2.2. Fonctionnement du système tampon

« Bicarbonate/Acide carbonique »

Le système « Bicarbonate/Acide carbonique » ou $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ est le seul système ouvert.

Exemple: $\text{H}^+ \text{Cl}^- + \text{CO}_3\text{H}^- \text{Na}^+ \rightarrow \text{NaCl} + \text{CO}_3\text{H}_2$
(acide fort dissocié) (acide faible, peu dissocié)

Bilan: diminution des H^+ surajoutés, avec diminution (consommation) de HCO_3^- (régénéré par le rein), augmentation de CO_3H_2 (éliminé par le poumon sous forme de CO_2).

Depuis HENDERSON et HASSELBALCH, cette relation est communément écrite sous forme logarithmique:

$$\text{pH} = \text{pK} + \text{Log} \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

ou encore $[\text{H}_2\text{CO}_3] = a \times \text{Pa CO}_2$

$$\text{pH} = \text{pK} + \text{Log} \frac{[\text{HCO}_3^-]}{\text{Pa CO}_2}$$

Le pH du sang dépend ainsi du rapport bicarbonates/acide carbonique, et par conséquent de la concentration en H^+ .

Si par exemple, la concentration en H^+ est de 10^{-7} le pH est de 7,0.

Le pH du sang artériel est légèrement alcalin compris entre 7,38 et 7,42.

3. MÉCANISMES RÉGULATEURS

Le contrôle de la concentration en ions H^+ extracellulaire est assuré par 3 systèmes:

- les tampons extracellulaires (43% du tamponnement),
- les tampons intracellulaires (57% du tamponnement),
- la régulation physiologique rénale et respiratoire.

3.1. TAMPONS EXTRACELLULAIRES

Les tampons extracellulaires sont constitués essentiellement par:

→ le système **acide carbonique – bicarbonate** (40% du tamponnement),

→ les **phosphates**: $\text{PO}_4\text{H}^- / \text{PO}_4\text{H}_2^-$

→ les **protéines plasmatiques**.

Au niveau sanguin, chez l'homme, le tampon le plus important est le système acide carbonique / bicarbonate.

Il est en effet quantitativement le plus important, ses composants sont facilement dosables, et il occupe enfin une place privilégiée dans la régulation de l'équilibre acido-basique. La masse de chacun de ces deux composés peut en effet varier au profit ou aux dépens de l'autre, mais également de façon indépendante de l'autre par action du poumon ou du rein.

Le poumon est capable de régler la masse d'acide carbonique par l'élimination de CO_2 , et le rein capable de régler l'élimination de bicarbonate. **La valeur normale du rapport bicarbonate/acide carbonique est égale à 20 (60 volumes / 3 volumes).**

→ Lors de l'arrivée d'ions H^+ dans le milieu (**acidose métabolique**), le bicarbonate du système tampon va fixer cet hydrogène et par conséquent la quantité de bicarbonate chute immédiatement.

Si, par exemple, 20 volumes de bicarbonate sont consommés, le rapport précédent devient égal à 40/3 avec baisse du pH (qui est proportionnel au logarithme de ce rapport). Le centre respiratoire déclenche immédiatement une hyperventilation responsable d'un abaissement du dénominateur de l'équation. Dans l'exemple présent, le dénominateur deviendra égal à 2 ce qui rétablit la valeur normale du rapport bicarbonate/acide carbonique et ainsi celle du pH.

Le rôle du poumon dans la régulation rapide du pH est très important puisque cet organe est capable d'éliminer des ions H^+ liés à l'acide carbonique.

→ Lorsqu'il s'agit d'une **acidose respiratoire**, c'est à dire d'une augmentation de la concentration d'acide carbonique (par augmentation du CO_2), la compensation se fait par rétention de bicarbonate selon la variation du rapport Bicarbonate/Ac. carbonique suivante :

Bicarbonate/Ac. Carbonique		(volumes)	
Normale	60/3	=	20
Insuffisance Respiratoire			
Aiguë	60/4	=	15
Compensation Rénale	80/4	=	20

3.2. TAMPONS INTRACELLULAIRES

Une deuxième barrière de défense contre les variations de pH est représentée par les tampons cellulaires. Sa mise en oeuvre est un peu plus lente que celle des systèmes tampons précédents.

Lorsque les ions H^+ sont ajoutés dans le milieu extracellulaire, la moitié de la charge acide va diffuser dans les cellules en environ 3 à 4 heures et être tamponnée par les tampons intracellulaires représentés par :

- le système **acide carbonique – bicarbonate cellulaire** (faible quantitativement, mais pouvoir tampon élevé : rein, hématies, poumon)
- **L'hémoglobine : Hémoglobinate / Hémoglobine (l'anémie limite les capacités de lutte contre l'acidose),**
- les **protéines** (pouvoir tampon essentiellement intracellulaire)
- les **phosphates cellulaires** (os, rein)

Cette **pénétration d'ions hydrogènes dans les cellules**, pour des raisons de neutralité membranaire s'accompagne d'une sortie de potassium des cellules responsables des hyperkaliémies parfois dramatiques que l'on rencontre au cours des états d'acidose.

À l'inverse, **lors d'une alcalose**, la cellule va libérer des ions hydrogènes qui passent dans les milieux interstitiels, tendant à normaliser le pH, en échange du **potassium pénètre** dans la cellule avec comme conséquence, une hypokaliémie sévère.

3.3. RÉGULATION RESPIRATOIRE DU PH

L'appareil respiratoire intervient de façon prépondérante dans la régulation du pH. 14000 mmoles de O_2 produits par le métabolisme cellulaire sont éliminés journellement par le poumon.

- Au cours d'une acidose métabolique, la stimulation de la ventilation induite par la baisse du pH entraîne une élimination accrue de CO_2 et par conséquent une diminution de l'acide carbonique intervenant dans le système tampon.

Le poumon a ainsi la capacité de normaliser le rapport **bicarbonate/acide carbonique**, en se souvenant toutefois que les deux termes du rapport en valeur absolue sont diminués.

Le contrôle de la ventilation est effectué par :

- des chémorécepteurs périphériques sensibles au pH (bifurcation carotidienne, crosse aortique) mis en jeu lors d'une acidose métabolique aiguë ;
- des chémorécepteurs situés dans le tronc cérébral, sensibles à la pCO_2 et au pH du LCR et mis en jeu lors des acidoses prolongées (avec diminution du pH du LCR).

- A l'inverse, l'hypoventilation rencontrée au cours d'un état d'alcalose de type métabolique, c'est à dire liée à une augmentation du bicarbonate plasmatique, rétablit le rapport **bicarbonate/acide carbonique**.

Ainsi,

- l'acidose métabolique augmente la ventilation alvéolaire
- l'alcalose métabolique diminue la ventilation alvéolaire.

Cependant, l'hyperventilation ne peut pas durer longtemps et l'hypoventilation est incompatible avec la vie

3.4. RÉGULATION RÉNALE DU PH

La mise en jeu de la régulation rénale du pH est plus lente que celle de la régulation respiratoire, mais plus durable.

L'action du rein sur le pH sanguin est double:

- il est capable, d'une part, d'éliminer soit directement soit de façon dissimulée des ions H^+ et
- d'autre part de restaurer la quantité totale de tampons en retenant du bicarbonate.

Quand la concentration plasmatique de bicarbonate est supérieure à 28 mmol/l, les bicarbonates sont excrétés dans les urines. En dessous de cette valeur, ils sont réabsorbés. Cette réabsorption est augmentée par la déshydratation extracellulaire, l'hypochlorémie, l'hyperkaliémie, l'hypercapnie.

B- MÉTHODES D'APPRÉCIATION CLINIQUE DE L'ÉQUILIBRE ACIDO-BASIQUE

1. GRANDEURS MESURÉES

Trois paramètres biologiques sanguins permettent de quantifier et de comprendre les anomalies de l'équilibre acido-basique: le **pH**, la **$PaCO_2$** et les **bicarbonates plasmatiques**. Ce sont les trois paramètres de l'équation de HENDERSON-HASSELBALCH, qui sont déterminés par la gazométrie sanguine.

La qualité du prélèvement sanguin artériel est essentielle à une bonne interprétation de l'équilibration acido-basique: ponction de l'artère radiale, chez un patient au repos, échantillon sanguin maintenu au froid en anaérobiose stricte (seringue héparinée) et transporté rapidement au laboratoire (ne pas dépasser 10 minutes).

L'équation de HENDERSON-HASSELBALCH fait ressortir que les trois paramètres cités sont en interrelation. Si l'on connaît 2 d'entre eux, le 3^e est calculable.

- **La mesure du pH** est réalisée grâce à une électrode de verre et les valeurs normales sont de **$7,4 \pm 0,2$** .
- **La $PaCO_2$** est actuellement facilement mesurée grâce à une électrode spécifique, les valeurs normales étant de **38 ± 2 mmHg**, soit **$5,25 \pm 0,25$ kPa**.
- **Les bicarbonates** sont généralement calculés à partir de l'équation de HENDERSON-HASSELBALCH. Leur valeur normale est de **23 à 27 mmol/L**.
- **L'excès de base** est normalement égal à **± 2 mmol/L**. Cette grandeur n'est pas mesurée mais calculée par les appareils de gaz du sang et correspond à l'écart existant entre la valeur mesurée des bicarbonates plasmatiques et la valeur théorique qu'ils auraient pour une $PaCO_2$ de 40 mmHg, une PaO_2 normale à 37°C de température. Il permet de renseigner sur le caractère purement métabolique d'un désordre acido-basique.

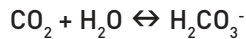
C. DIFFÉRENTES VARIÉTÉS DE PERTURBATIONS DE L'ÉQUILIBRE ACIDOBASIQUE

Les modifications de l'équilibre acido-basique résultent d'une perturbation de la $PaCO_2$ ou des bicarbonates. Quand un sujet respire de l'air normal, c'est à dire ne contenant pratiquement pas de CO_2 , les variations de la $PaCO_2$ dépendent uniquement de la ventilation alvéolaire. Lors de l'hypoventilation, la $PaCO_2$ augmente, lors de l'hyperventilation, la $PaCO_2$ diminue.

La concentration en bicarbonates dépend, quant à elle, de plusieurs facteurs:

- de la charge exogène en alcalins,
 - de la charge exogène en acides,
 - de la réabsorption de bicarbonates au niveau du rein,
 - de la perte de H^+ au niveau du tube digestif et du rein.
- Il est, d'autre part, essentiel de se souvenir que le taux

des bicarbonates dépend également du niveau de la PaCO_2 selon l'équation :



À chaque fois que la PaCO_2 s'élève, normalement les bicarbonates plasmatiques doivent s'élever de façon proportionnelle et linéaire. En clinique, les anomalies de l'équilibre acido-basique sont en général complexes, car, au moment de l'analyse biochimique, un nombre de compensations biologiques, soit rénale, soit respiratoire, sont le plus souvent intervenues, tendant à corriger la perturbation initiale.

1. DÉFINITIONS

ACIDOSE: Elle se définit par une diminution du pH du sang artériel inférieur à 7,38.

Une acidose peut être métabolique, respiratoire ou mixte.

- l'acidose métabolique se traduit par une baisse du pH, une diminution des bicarbonates inférieurs à 22 mmol/L, et une diminution de la PaCO_2 compensatrice.
- acidose respiratoire (acidose liée à une rétention de CO_2) se caractérise par une baisse du pH, une élévation de la PaCO_2 supérieure à 42 mmHg.
- acidose mixte est une acidose liée à la fois à une diminution des bicarbonates plasmatiques et à une élévation de la PaCO_2 , qui se traduit par une baisse du pH très importante, une élévation de la PaCO_2 et une valeur des bicarbonates inférieure à ce qu'elle devrait être pour la PCO_2 considérée.

ALCALOSE: se définit comme étant une élévation du pH sanguin artériel supérieur à 7,42. L'alcalose peut être métabolique ou respiratoire.

- Alcalose métabolique: elle se caractérise par une élévation du pH, une élévation des bicarbonates plasmatiques au-dessus de 26 mmol/L et parfois une augmentation de la PaCO_2 . Le mécanisme initial est soit une rétention ou un apport excessif de bicarbonates, soit une perte exagérée des ions H^+ .
- Alcalose respiratoire: elle se traduit par une élévation du pH supérieure à 7,42, une diminution de la PaCO_2 inférieure à 36 mmHg, qui est responsable de l'alcalose, et une diminution des bicarbonates plasmatiques par compensation rénale.

2. ACIDOSE MÉTABOLIQUE GÉNÉRALITÉS

L'acidose métabolique, quelle que soit son étiologie, se définit toujours par **une diminution du pH < 7,38, une baisse des bicarbonates plasmatiques et une diminution de la PaCO_2** .

Cette altération du pH est liée à une diminution des bicarbonates:

- soit qu'ils aient été consommés pour tamponner un excès de proton H^+ (apport exogène ou production endogène excessive),
- soit qu'ils aient été éliminés par voie digestive ou non réabsorbés par voie urinaire. La réduction de la PaCO_2 est liée à une tentative de compensation respiratoire de cette acidose métabolique avec hyperventilation déclenchée par un effet de l'acidose sur les centres respiratoires.

TABLEAU CLINIQUE

Le tableau clinique de l'acidose métabolique est pauvre et se résume à une respiration ample et profonde témoignant de l'hyperventilation dénommée dyspnée de Kussmaul. Cette grande dyspnée quand elle est liée uniquement à l'acidose ne s'accompagne ni de cyanose ni de battement des ailes du nez.

PERTURBATIONS BIOLOGIQUES ASSOCIÉES

Les perturbations biologiques que l'on peut noter dans de tels états ne sont pas liées directement à l'acidose, mais le plus souvent à la cause déclenchante.

→ En revanche, il existe, dans le sang, en plus de la baisse:

- du pH < 7,38
- des bicarbonates < 21 mEq/L
- de la pCO_2 < 38 mmHg

Un signe biologique fréquent, voire constant représenté par: **l'hyperkaliémie**.

Celle-ci fait en partie la gravité de ces états d'acidose métabolique et peut conduire à l'arrêt circulatoire. La pénétration d'hydrogène dans la cellule s'accompagne pour des raisons de neutralité membranaire, d'une sortie de potassium en quantité équimoléculaire.

Au cours des acidoses métaboliques, il est important de calculer les indosés anioniques plasmatiques (trou anionique plasmatique). L'importance de celui-ci est un élément essentiel dans l'orientation étiologique de l'acidose. Suivant la loi de l'électroneutralité, la somme des cations ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$ + indosés) est égale à celle des anions ($\text{Cl}^- + \text{CO}_3\text{H}^-$ + indosés). Les cations indosés étant négligeables quantitativement, la différence entre les anions et les cations principaux normalement présents dans le sang représente les indosés anioniques ou trou anionique plasmatique (TAP); on utilise la formule suivante:

$$[\text{Na}^+ + \text{K}^+] - [\text{Cl}^- + \text{CO}_3\text{H}^-] = \text{TAP} = 10 \text{ à } 15 \text{ mmol/L}$$

Le déficit anionique correspond aux substances chargées négativement qui n'ont pas été prises en compte dans ce calcul, ce sont en particulier les **protéines**, les **acides organiques**, les **phosphates** et les **sulfates**. Il n'atteint pas normalement 16 mmol/L, et se situe habituellement entre: **10 et 15 mmol/L**.

Au cours d'une acidose, si le calcul précédent montre un trou anionique **dépassant 16 mmol/L** (22mmol/L par exemple) cela signifie qu'il existe une autre substance chargée négativement qui n'a pas été prise en compte et qui vient additionner ces valences négatives à celles des protéines, des phosphates, des acides organiques et des sulfates, pour majorer ce trou anionique.

Il s'agit en l'occurrence, d'une accumulation d'**acide fort**, **sulfate** ou **phosphate**, ou d'un **acide organique**, lactique ou **cétonique**. **L'existence d'un trou anionique au cours d'une acidose traduit la présence d'un acide circulant.**

À l'inverse, l'absence de trou anionique au cours d'une acidose métabolique signifie qu'il n'y a pas d'acide circulant non dosé, mais que l'acidose est liée à une diminution du taux plasmatique des bicarbonates qui est l'élément primitif de la maladie.

→ Au niveau des urines, le **pH < 5,5** et l'excrétion urinaire de NH_4^+ est accrue prouvant une réponse rénale normale.

PRINCIPALES ÉTIOLOGIES DES ACIDOSES MÉTABOLIQUES

2.4.1. Acidoses métaboliques avec trou anionique augmenté.

Une surcharge en anions non métabolisables (accompagnant la surcharge en H⁺) provenant soit d'acides organiques exogènes soit de l'accumulation ou d'un défaut d'excrétion d'acides organiques endogènes. La chlorémie est alors normale.

Acidocétose diabétique

Au cours de l'acidocétose diabétique, en rapport avec une carence en insuline, la lipolyse conduit à la formation d'acéto-acétate, d'acide-β-hydroxybutyrique et d'acétone. Ces substances productrices d'ions H⁺ sont responsables de l'acidose, mais ne sont pas prises en compte dans le calcul du trou anionique qui, ainsi, dépasse 16 mmol/L. L'acidose survient quand le rein n'est plus capable d'éliminer les anions cétoniques qui, par conséquent, s'accumulent.

Outre les signes sévères d'**acidose**, il apparaît une **hyperglycémie > 15 mmol/L** qui entraîne une **glycosurie** et une **polyurie osmotique** due à la glycosurie avec **perte en eau et en électrolytes** (Na, Cl, K).

- Acidoses lactiques

L'acidose lactique est le plus souvent secondaire à une hyperproduction de lactate survenant au cours de la glycolyse anaérobie. À chaque fois que les cellules travailleront de façon intense en anaérobiose, des lactates seront produits. On confirmera le diagnostic par le dosage des lactates sanguins: **Lactacidémie > 5 mmol/L**

- Acidose métabolique au cours des intoxications

Différents produits toxiques ou certains médicaments peuvent être responsables lors de leur ingestion d'une acidose métabolique sévère avec trou anionique:

- méthanol
- éthylène-glycol
- acide salicylique
- Insuffisance rénale

Au cours de l'insuffisance rénale, il existe habituellement une acidose métabolique avec une augmentation de trou anionique liée à l'accumulation de sulfates, de phosphates et d'anions organiques).

2.4.2. Acidose métabolique avec trou anionique normal

Ce type d'acidose est lié à une diminution primitive de la concentration des bicarbonates plasmatiques soit par perte digestive, soit par non-réabsorption tubulaire rénale.

- Acidose par perte digestive du bicarbonate

Elle s'observe au cours de diarrhées sévères, les sécrétions digestives étant riches en bicarbonate, en particulier la sécrétion pancréatique et biliaire, au cours des très importantes accélérations du transit ces sels bicarbonatés ne seront pas réabsorbés.

- Acidose par anomalie de la réabsorption des bicarbonates urinaires

Un certain nombre d'affections touchant les tubules rénaux sont responsables d'acidose.

3. ALCALOSE MÉTABOLIQUE

L'alcalose métabolique correspond à une augmentation du pH > 7,42, liée à une augmentation primitive des bicarbonates plasmatiques. Chez le malade ventilant

spontanément, l'élévation du pH est responsable d'une discrète élévation de PaCO₂ par dépression des centres respiratoires.

3.1. TABLEAU CLINIQUE

L'alcalose métabolique n'entraîne pratiquement pas de signes cliniques, tout au plus quelques symptômes neuromusculaires, allant de la crampe à la crise de tétanie et au maximum aux secousses myocloniques.

3.2. SIGNES BIOLOGIQUES D'ACCOMPAGNEMENT

- pH > 7.43
- bicarbonates > 27 mEq/L
- pCO₂ > 43 mmHg
- Le signe biologique d'accompagnement majeur est l'existence fréquente, voire constante d'une **hypokaliémie**. Celle-ci est liée à la pénétration de potassium dans les cellules secondaire à la sortie d'ions H⁺ destinés à lutter contre l'alcalose du milieu interstitiel: risque de troubles du rythme cardiaque.
- Hypochlorémie par perte, y compris rénale pour équilibrer l'excès de bicarbonate (électroneutralité).

3.3. ÉTIOLOGIE DES ALCALOSES MÉTABOLIQUES

Une alcalose métabolique est secondaire soit à un apport excessif de sels alcalins, soit, le plus souvent, à une perte d'ions H⁺ et d'électrolytes par voie digestive ou rénale.

• Surcharge en substance alcaline

Normalement, le rein élimine les bicarbonates administrés en excès par voie digestive ou parentérale. L'élimination est complète si le taux plasmatique des bicarbonates est supérieur à 28 mmol/L. Chez un sujet ayant une fonction rénale normale, un apport même important de bicarbonate (200-250 mmol/24h) n'entraîne pas de modification de l'équilibre acido-basique.

Pour provoquer une alcalose métabolique par excès d'apport, il faut par conséquent administrer des doses très importantes pendant une durée prolongée chez un patient en insuffisance rénale.

• Pertes digestives d'ions H⁺

Lors des vomissements sévères ou des mises en aspiration digestive prolongée, une quantité importante d'ions hydrogènes est éliminée par le suc gastrique qui contient 80 mmol d'H⁺ /litre en moyenne. Il en résulte une alcalose métabolique qui s'accompagne en règle générale d'une hypochlorémie, le suc gastrique étant riche en cet électrolyte.

• Pertes urinaires d'ions H⁺

Cette élimination d'hydrogène, responsable d'une acidurie, induit une alcalose métabolique. Lors des traitements prolongés par les diurétiques

4. ALCALOSE RESPIRATOIRE

L'alcalose respiratoire ou gazeuse correspond à une diminution de la concentration en ions H⁺ liée à une élimination accrue de CO₂. Elle est la conséquence d'une hyperventilation.

4.1. ÉTIOLOGIES

L'hyperventilation peut être liée à différentes causes :

4.1.1. Hyperventilation mécanique

4.1.2. État de choc

4.1.3. Hypoxie aiguë: Elle se rencontrera en fait dans toute atteinte respiratoire touchant un territoire pulmonaire ventilatoire ou circulatoire.

4.1.4. Hyperventilation d'origine centrale

Cette cause d'hyperventilation alvéolaire qu'il faut évoquer après avoir éliminé les précédentes peut se rencontrer lors d'intoxications par l'acide salicylique, au cours des traumatismes crâniens, des accidents vasculaires cérébraux...

4.2. SIGNES BIOLOGIQUES D'ACCOMPAGNEMENT

Dans l'alcalose gazeuse,

- la PaCO_2 est comprise entre 30 et 25 mmHg pouvant descendre en dessous de 20 mmHg.
- le pH est habituellement compris entre 7,45 et 7,65.
- le taux des bicarbonates plasmatiques est abaissé
- au niveau de l'ionogramme plasmatique, la kaliémie est habituellement basse, traduisant l'hypokaliémie de transfert par pénétration intracellulaire de potassium.
- le trou anionique est normal.

4.3. SIGNES CLINIQUES DES ALCALOSÉS RESPIRATOIRES

Indépendamment de la maladie causale, et de la cause déclenchante, l'alcalose gazeuse se manifeste essentiellement par des troubles neuropsychiques ou neuromusculaires (crise de tétanie, signes de Chvostek).

5. ACIDOSE RESPIRATOIRE

L'acidose respiratoire est la conséquence d'une hypoventilation alvéolaire qui engendre une l'augmentation de la PaCO_2 .

5.1. SIGNES CLINIQUES DE L'ACIDOSE RESPIRATOIRE

Signes liés à l'hypoventilation alvéolaire.

Signes liés à la maladie responsable.

5.2. SIGNES BIOLOGIQUES DE L'ACIDOSE RESPIRATOIRE

- pH sanguin bas
- Hypercapnie (PaCO_2 haute)
- Hypoxémie
- Hypochlorémie
- Hyperkaliémie
- Élévation variable des bicarbonates
- Élévation de l'excrétion acide urinaire
- pH urinaire bas

5.3. ÉTIOLOGIES DE L'ACIDOSE RESPIRATOIRE

- Neurologiques centrales: troubles de la commande respiratoire
- Neuromusculaires périphériques: paralysie et/ou lésion des muscles respiratoires.
- Pulmonaires: Insuffisance ventilatoire aiguë ou chronique

TESTS D'ÉVALUATION

Pour les QCM, vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s). **Pour les QROC,** vous inscrirez la réponse dans l'espace prévu.

Q N°1. Les ions H^+

- A. Les ions H^+ formés dans l'organisme sont un produit du métabolisme.
- B. Certains apports alimentaires influencent la surcharge de l'organisme en ions H^+ .
- C. Les ions H^+ excédentaires peuvent être directement éliminés par le poumon sous forme de molécules d' H_2O .
- D. Les ions H^+ excédentaires peuvent être directement éliminés par le rein sous forme de composés acides.
- E. Leur concentration plasmatique est exprimée par le $\text{pH} = \log [\text{H}^+]$

Q N°2

1- Ecrire la réaction du système tampon « bicarbonate / acide carbonique ».

2- Quelle est la particularité qui confère à ce système son caractère unique comparé aux autres systèmes tampons.

Q N°3. Quelle est la limite d'efficacité du système tampon bicarbonate face à une surcharge en ions hydrogène ?

Q N°4. Inscrivez devant chacun des troubles primaires biologiques suivants le type correspondant de déséquilibre acido-basique.

Troubles primaires

Type de déséquilibre acido-basique

- | | |
|---------------------------------|-------|
| - Baisse de $[\text{HCO}_3]$ | _____ |
| - Élévation de $[\text{HCO}_3]$ | _____ |
| - Élévation de PaCO_2 | _____ |
| - Baisse de PaCO_2 | _____ |

Q N°5. Parmi les situations suivantes, quelle(s) est (sont) celle(s) celle(s) qui provoque(nt) une acidose métabolique en augmentant le trou anionique.

- | | |
|---|---|
| A. État de choc septique. | B. Diarrhées prolongées sans collapsus. |
| C. Intoxication par l'éthylène glycol. | D. Intoxication par le méthanol. |
| E. Une acidose tubulaire rénale (congénitale ou acquise). | |

Q N°6. Un patient insuffisant respiratoire chronique est admis au service des urgences pour une dyspnée.

Sa gazométrie artérielle montre :

$\text{Pa O}_2 = 32 \text{ mmHg}$ – $\text{Pa CO}_2 = 54 \text{ mmHg}$ – $\text{pH} = 7.33$ – $[\text{HCO}_3] = 32 \text{ mmo/L}$.

Il s'agit :

- | | |
|--|---|
| A. D'une alcalose respiratoire compensée | B. D'une alcalose respiratoire décompensée. |
| C. D'une acidose respiratoire compensée. | D. D'une acidose respiratoire décompensée. |
| E. D'une acidose mixte. | |

Q N°7. Un patient de 50 ans doit être opéré d'une hernie hiatale.

Lors du bilan préopératoire, un prélèvement du sang artériel est effectué et la gazométrie montre :

$\text{pH} = 7.42$ – $\text{Pa O}_2 = 88 \text{ mmHg}$ – $\text{Pa CO}_2 = 38 \text{ mmHg}$ – $[\text{HCO}_3] = 26 \text{ mmo/L}$.

Préciser l'état de l'équilibre acido-basique

- | | |
|-------------------------|--------------------------|
| A. Acidose gazeuse. | B. Alcalose gazeuse. |
| C. Acidose métabolique. | D. Alcalose métabolique. |
| E. Normal. | |

EXPLORATION FONCTIONNELLE DU MÉTABOLISME GLUCIDIQUE

I - INTRODUCTION

Les glucides présents dans l'alimentation sous forme de diholosides (saccharose, maltose) ou de polyosides (amidon, glycogène) constituent une part majoritaire de la ration énergétique journalière. Ils sont métabolisés par l'organisme et convertis, pour leur plus grande part, en glucose. Ce dernier joue un rôle majeur dans le métabolisme énergétique, car il contribue en priorité à la nutrition cérébrale. En effet, les cellules de l'organisme utilisent préférentiellement la glycolyse à cette fin. La circulation sanguine distribue les molécules de glucose aux différentes cellules selon les besoins spécifiques de chacune d'elles et alimente ainsi la glycolyse.

Alors que les entrées et les sorties du glucose du plasma sont à chaque instant différentes, la glycémie varie dans des limites relativement étroites chez le sujet normal de 0,7 à 1,1 g/l (3,9 à 6,1 mmol/l). Cela suppose l'existence d'une régulation précise et efficace de la glycémie.

En dehors des périodes d'apport alimentaire, le foie est le seul organe qui peut produire du glucose par l'intermédiaire de deux voies :

- La glycogénolyse libère du glucose stocké sous forme de glycogène suite à un apport alimentaire.
- La néoglucogenèse permet la synthèse du glucose à partir de précurseurs non glucidiques: lactate, glycérol et acides aminés glucoformateurs, qui contribuent à élever la glycémie, et ce progressivement au cours du jeûne.

Le mécanisme de consommation cellulaire du glucose sanguin fait intervenir deux types d'organes: des organes non insulino-dépendants tels que le cerveau, la rétine et les érythrocytes et des organes insulino-dépendants comme le foie, les muscles et les tissus adipeux.

Les altérations du métabolisme glucidique sont fréquentes en pathologie et sont à l'origine des tableaux de diabète insulino-dépendant (DID) et non insulino-dépendant (DNID) et des syndromes hypoglycémiques. Par contre, les altérations du métabolisme des autres oses et des glycoconjugués (glycoprotéines, glycolipides, protéoglycanes), beaucoup plus rares, font partie de domaines spécialisés des anomalies héréditaires du métabolisme observées le plus souvent en pédiatrie.

II - RÉGULATION DE LA GLYCÉMIE

La régulation de la glycémie fait appel aux tissus hépatiques et extra hépatiques d'une part et à plusieurs systèmes hormonaux d'autre part.

À- RÉGULATION MÉTABOLIQUE

Elle fait appel à des enzymes et à des intermédiaires métaboliques (fig. 1)

- Dans le foie, l'équilibre glycogénolyse - glycogénosynthèse est régi par le taux des divers intermédiaires métaboliques (ATP, AMP cyclique et glucose 6 phosphate). Le taux d'AMP cyclique contrôle en particulier

deux activités enzymatiques: il active le système de la phosphorylase (glycogénolyse) et inactive la glycogène synthétase (glycogénosynthèse).

- Les enzymes de la néoglucogenèse sont contrôlées par les intermédiaires métaboliques (ADP, AMP, fructose 1,6 di phosphate).
- En cas d'apport glucidique diminué, les acides gras provenant de la lipolyse (tissu adipeux) inhibent certaines étapes de la glycolyse.

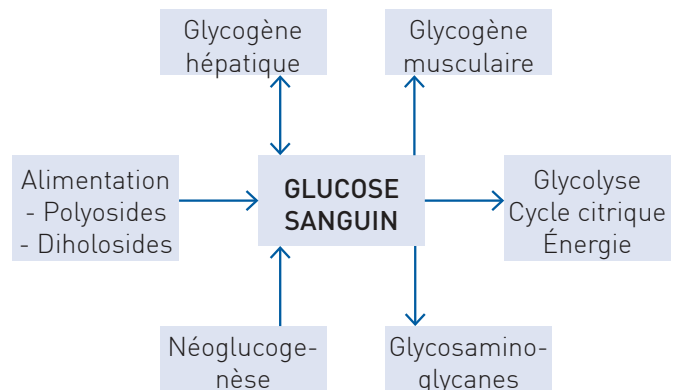


Figure 1 : origines et destinations du glucose sanguin

B- RÉGULATION HORMONALE

Fait appel à 2 types d'hormones: hypoglycémiantes (insuline) et hyperglycémiantes.

1 - L'INSULINE

L'insuline est la seule hormone hypoglycémiante. Elle est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur inactif de grande taille " la préproinsuline " qui est clivée par des peptidases pour donner le peptide signal de l'extrémité N-terminale, un peptide de connexion ou peptide C et la molécule d'insuline. La quantité de peptide C libérée dans le sang est équimoléculaire à la quantité d'insuline libérée, sachant que le peptide C n'est pas modifié dans le foie. Son dosage dans le sang permet d'évaluer le taux de sécrétion endogène d'insuline.

La molécule d'insuline comporte deux chaînes A et B unies par 2 ponts disulfures. Elle se fixe par des récepteurs spécifiques de la membrane des cellules périphériques. L'insuline favorise la captation cellulaire du glucose au niveau musculaire et adipeux, accroît la glycolyse, favorise la glycogénosynthèse et inhibe la glycogénolyse au niveau hépatique; freine la néoglucogenèse en inhibant ses enzymes clés ; diminue la lipolyse et favorise la synthèse des triglycérides.

2 - LE SYSTÈME HYPERGLYCÉMIANT

Il comporte quatre hormones dont l'action favorise la production hépatique du glucose. L'adrénaline et le glucagon agissent d'une façon synergique pour produire une hyperglycémie immédiate et importante. Le cortisol et l'hormone de croissance sont des hormones hyperglycémiantes à long terme.

III - EXPLORATIONS DU MÉTABOLISME GLUCIDIQUE

Le dysfonctionnement des systèmes de contrôle de la glycémie engendre une hyperglycémie ou une hypoglycémie. Dans la première situation, de loin la plus fréquente, on aura affaire à un diabète sucré. Une batterie d'analyses statiques et dynamiques est à la disposition du clinicien pour aboutir à un diagnostic précis de la perturbation en cause. Ces analyses serviront, en outre, au suivi de la maladie après ou sans traitement.

À- LES ANALYSES STATIQUES

1- DOSAGE DE LA GLYCÉMIE

Avant toute mesure, il est important de se rappeler que le taux de glucose dans le sang peut varier dans certains états physiologiques tels que le froid, les émotions et l'exercice musculaire ; que les globules rouges contiennent des enzymes de la glycolyse et que le passage de ces enzymes dans le sang peut diminuer le taux du glucose dans le plasma.

C'est ainsi que pour le dosage de la glycémie :

- Le sujet doit être au repos complet, protégé du froid et de toute émotion.
- Le prélèvement doit être fait dans la veine du pli du coude avec un garrot modérément serré et en procédant rapidement pour éviter toute anoxie tissulaire.
- Le prélèvement doit être fait sur un tube spécial contenant un mélange de fluorure de sodium (inhibiteur des enzymes de la glycolyse) et d'oxalate de potassium (anticoagulant).
- Le dosage doit être pratiqué le plus vite possible dans un délai d'une heure au maximum après le prélèvement. Si le dosage ne peut être fait dans ces limites, il faudra séparer les globules rouges par centrifugation, aussi vite que possible, après le prélèvement et conserver le plasma à + 4°C.

a- Méthodes de dosage

- La méthode actuellement la plus employée utilise la glucose oxydase. Cette enzyme oxyde le glucose en acide gluconique avec libération d'eau oxygénée qu'il est facile de doser.
- La méthode considérée actuellement de référence est celle utilisant l'hexokinase, mais elle plus coûteuse.

b- Résultats

La zone de normalité est comprise entre 3,9 à 6,1 mmol/l.

2- CYCLE GLYCÉMIQUE

La détermination de la glycémie à intervalles réguliers et rapprochés (toutes les 4 à 6 heures) permet d'apprécier les variations nyctémérales. Chez un sujet normal, la glycémie varie entre 0,60 et 1,20 g/l, soit 3,30 et 6,70 mmol/l. Cette dernière valeur correspond à la vague post-prandiale et n'a pas de caractère pathologique. De plus, on ne trouve pas de sucre dans les urines. Cette épreuve est particulièrement intéressante dans 2 cas : étude d'une hypoglycémie et surveillance d'un diabétique traité par l'insuline.

3- DÉTERMINATION DE LA GLUCOSURIE

La présence de glucose dans les urines définit la glycosurie. Elle peut être appréciée qualitativement par ban-

delettes ou comprimés réactifs et peut être mesurée quantitativement. Normalement le glucose ultrafiltré au niveau du glomérule rénal est réabsorbé en totalité au niveau du tubule. Les mécanismes de réabsorption sont saturés au-delà d'une valeur seuil de la glycémie (en moyenne 1,80 g/l). Au-delà de ce seuil rénal, la glycosurie est directement proportionnelle à la glycémie et peut donc servir à évaluer la glycémie moyenne de la période de temps qui sépare les deux dernières mictions.

a- Méthodes

La présence de glucose peut être détectée soit par la mise en évidence de son pouvoir réducteur (comprimés clinitest) soit grâce à des méthodes enzymatiques spécifiques du glucose (bandelettes réactives : clinistix et glucotest).

b- Techniques

Il est conseillé de faire la mesure sur des urines fraîchement émises. Le mode de recueil des urines dépend du renseignement que l'on attend de cet examen.

c- Pièges du dosage

- La méthode utilisant le clinitest permet l'identification des sucres réducteurs. En cas de positivité on parlera de méliurie (présence de sucres réducteurs dans les urines). Cette méthode n'est donc pas spécifique du glucose.
- Les bandelettes à la glucose oxydase, bien qu'elles soient spécifiques du glucose, peuvent donner des réactions faussement négatives avec certains produits tels que l'acide ascorbique, certains dérivés de la L-dopa ou encore certains oxydants tels que le javel ou le Dakin.

d- Résultats

La glycosurie doit être toujours confrontée à la glycémie, en effet les relations entre glycémie et glycosurie dépendent essentiellement de la valeur du seuil rénal du glucose; celui-ci est très variable d'un sujet à l'autre et peut être très diminué dans certaines situations physiologiques (grossesse) ou pathologiques (glycosurie rénale).

4- LES GLUCOSURIES FRACTIONNÉES

a- Principe

Chez un malade porteur de glycosurie, la miction est fractionnée en prélèvements de deux heures sur lesquels on détermine la quantité totale de glucose éliminé. Le résultat est rendu sous forme de graphique.

b- Intérêt

Le glucose n'est éliminé dans les urines que lorsque le seuil rénal est atteint (glycémie >1,80 g/l ou >10 mmol/l), mais une fois le seuil atteint, la glycosurie n'est pas en relation quantitative avec le taux de la glycémie. L'épreuve n'a d'intérêt que chez les sujets glucosuriques, c'est à dire chez les diabétiques; elle permet d'ajuster le traitement à l'insuline sans recourir fréquemment à l'épreuve du cycle glycémique qui reste désagréable pour le malade.

B - ÉPREUVES DYNAMIQUES

Ces épreuves dynamiques d'exploration sont destinées à mettre en évidence des troubles du métabolisme glucidique non ou mal décelés par les méthodes précédentes d'exploration statique

Elles sont classées en quatre groupes:

- * Les épreuves d'hyperglycémie provoquée
- * Les épreuves d'hyperglycémie provoquée sensibilisée
- * Les épreuves d'hypoglycémie

1 - ÉPREUVES D'HYPERGLYCÉMIE PROVOQUÉE

a- Glycémie post-prandiale

Le dosage de la glycémie peut être pratiqué parfois 2 heures après un repas ordinaire ou un repas d'épreuve spécialement riche en glucides.

Chez le sujet normal, la glycémie doit être inférieure à 1,10 g/l ou 6,1 mmol/l (fig. 2). Cet examen renseigne sur l'adaptation de l'organisme à l'apport glucidique dans les conditions physiologiques.

b- Épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)

Le glucose agit ici comme stimulant de l'insulino-sécrétion et comme métabolite destiné à être consommé par les tissus. Après son ingestion, le glucose sera absorbé et passe dans le sang. La glycémie, en s'élevant, va déclencher des réactions métaboliques et endocriniennes ; les tissus augmentent leur consommation en acides gras et en protéines. Normalement, l'élévation de la glycémie ne dépasse pas 1,60 g/l (8,9 mmol/l) et sera toujours en deçà du seuil rénal, donc absence de glucosurie.

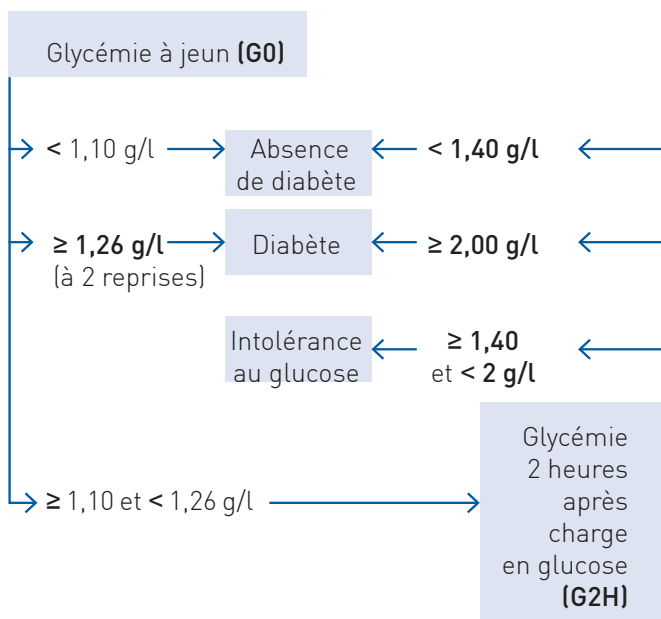


Figure 2 : Critères de diagnostic du diabète sucré

b1 - Protocole

- Sujet à jeun depuis 12 heures après avoir reçu, pendant les 3 jours précédents, un régime normoglycémique. Pendant l'épreuve, le sujet doit être allongé, au minimum assis, au repos physique, au chaud, préservé de tout stimulus, sans fumer.
- La dose de glucose à donner est soit :
 - Fixe de 50 à 100 g dans les enquêtes de masse chez l'adulte calculée en fonction du poids ou de la surface corporelle: 1 à 1,75 g de glucose/kg de poids ou 45 g de glucose/m² de surface corporelle. Chez l'enfant: 1 à 6 mois (3,00 g/kg) ; 6 à 12 mois (2,50 g/kg) ; 1 à 3 ans (2,00 g/kg) ; 3 à 13 ans (1,75 g/kg).

b2 - Prélèvements

- Urines: toutes les 30 minutes (ou en bloc à la fin de l'épreuve).
- Sang: toutes les 30 minutes, pendant 3 heures ou plus récemment mesure de la glycémie au temps 0 et 120 minutes.

b3- Résultats

La glycémie s'élève lentement pour atteindre un maximum entre 30 et 60 minutes. Puis, les valeurs diminuent progressivement et reviennent à la normale au bout de 120 minutes. Une vague d'hypoglycémie post prandiale est observée à la 2e heure et les valeurs reviennent à la normale au bout de 3 heures.

b4 - Interprétation

Les critères internationaux actuellement retenus pour l'interprétation de l'HGPO sont les valeurs de la glycémie au temps t 0 et au temps t 120 min (Tableau 1).

Tableau 1 : Diagnostic du diabète et de l'intolérance au glucose (selon l'OMS)

	Glycémie t 0	Glycémie t 120
Normal	$< 6,1 \text{ mmol/l}$ (1,10 g/l)	$< 7,8 \text{ mmol/l}$ (1,40 g/l)
Diabète	$\geq 7 \text{ mmol/l}$ (1,26 g/l)	$\geq 11 \text{ mmol/l}$ (2,00 g/l)
Intolérance au glucose	$< 7 \text{ mmol/l}$	7,8 - 11 mmol/l (1,40 - 2,00 g/l)

c- L'hyperglycémie provoquée par voie intraveineuse (HGPIV)

L'HGPIV est utilisée lorsqu'il existe un facteur digestif perturbant l'absorption intestinale des glucides, elle permet surtout l'exploration du fonctionnement de la sécrétion d'insuline (hyper ou hypoinsulinisme).

2- ÉPREUVES D'HYPOGLYCÉMIE PROVOQUÉE

Les épreuves d'hypoglycémie provoquée sont dangereuses et doivent se dérouler en milieu hospitalier et sous surveillance stricte : on doit pouvoir pratiquer dans la minute, une injection de glucagon ou une intraveineuse de sérum glucosé hypertonique dès l'apparition des signes cliniques d'hypoglycémie. Ces épreuves sont de plus en plus délaissées (Ex : épreuve de sensibilité à l'insuline et épreuve au tolbutamide).

C-DOSAGES COMPLÉMENTAIRE

1- DOSAGE DE L'INSULINÉMIE

L'insulinémie de base matinale après plus de 10 heures de jeûne se situe entre 10 et 20 mU/l. Après un repas mixte habituel, elle s'élève entre 100 et 160 mU/l. Les résultats n'ont de sens que dans la mesure où ils sont comparés à ceux de la glycémie en particulier sous stimulation. Ce dosage est totalement dépourvu de valeur chez le diabétique insulino-dépendant. Il garde toutefois sa valeur dans la recherche des hypoglycémies organiques par hypersécrétion autonome d'insuline.

2- DOSAGE DU PEPTIDE C Le pancréas sécrète la pro-insuline, qui est scindée en insuline et peptide de connexion ou peptide C. Ce dernier sert de maillon de

liaison entre les chaînes A et B de stade de pro-insuline. Sa sécrétion par le pancréas est équimoléculaire à celle de l'insuline, mais sa destinée en est différente. Si l'insuline est rapidement métabolisée au niveau du foie et de la plupart des tissus de l'organisme, le peptide C ne subit pas de métabolisme hépatique ni de fixation tissulaire et va être directement excrété par le rein.

Les demi-vies biologiques sont différentes (5 minutes pour l'insuline et 20 minutes pour le peptide C) et leurs concentrations sanguines ne sont pas comparables. Cependant, le dosage du peptide C rend compte du potentiel insulinosécréteur du pancréas du sujet examiné. Le taux normal est compris entre 1,0 et 4,5 ng/ml. À l'inverse du dosage de l'insuline, le dosage du peptide C n'est pas affecté par l'insuline exogène ni par les anticorps anti-insuline produits chez le diabétique traité par l'insuline. À signaler que ce dosage n'est valable que dans la mesure où la fonction rénale est conservée. Son indication est justifiée chaque fois qu'on aimerait savoir s'il existe une sécrétion potentielle d'insuline par le pancréas.

C'est ainsi que le dosage du peptide C doit être réservé aux :

- diabètes insulino-dépendants : pour le diagnostic, le pronostic et la surveillance évolutive.
- diagnostic des hypoglycémies.

D - EXAMENS DE SURVEILLANCE

1- SURVEILLANCE DU TRAITEMENT DIABÉTIQUE

a- Dosage des hémoglobines glyquées

Les hémoglobines glyquées (Hb A_{1c}) sont caractérisées par la fixation non enzymatique d'un résidu glucose sur la fonction NH₂ de la valine N-terminale de la chaîne β de globine. Cette fixation est d'autant plus importante que la glycémie est élevée. Les hémoglobines glyquées constituent un groupe hétérogène de trois fractions Hb A_{1a}, Hb A_{1b} et Hb A_{1c}. Seule la dernière de ces sous-fractions, l'Hb A_{1c}, correspond à la forme stable dont le taux a pu être corrélé avec l'apparition des complications à long terme du diabète.

a1- Prélèvement : Le sang est recueilli sur un anticoagulant (EDTA). Les hémolysats doivent être analysés dans les quatre heures ou ultérieurement après conservation à -70 °C.

a2 - Valeurs usuelles et intérêt : Les valeurs usuelles sont exprimées par rapport à l'Hb totale: Hb A_{1c} < 6%. Il est à remarquer que l'Hb A_{1c} diminue au cours du 2e et 3e trimestre de la grossesse et lors d'une anémie hémolytique.

L'Hb A_{1c} intègre les glycémies moyennes durant les 6 à 8 semaines précédant le contrôle. C'est un paramètre indispensable au suivi du diabétique. Un diabète correctement équilibré doit avoir une valeur d'Hb A_{1c} < 6%. Une valeur élevée traduit un mauvais équilibre glycémique et doit conduire au réajustement du traitement.

Selon les dernières recommandations de l'association américaine du diabète (ADA 2015) une valeur de l'HbA_{1c} supérieur à 6,5% peut être retenue comme un critère diagnostique du diabète sucré à condition que le dosage soit fait par une méthode certifiée et standardisée.

b- Les fructosamines

L'index de fructosamine évalue la glycation des protéines plasmatiques. La condensation du glucose avec les groupements aminés des protéines se fait selon un mécanisme identique à celui de l'hémoglobine (glycation non enzymatique).

b1 - Prélèvement

Le sang est prélevé sur tube sec, le sérum peut être conservé 48 heures à + 4 °C ou congelé.

b2 - Valeurs usuelles et intérêt

Les valeurs usuelles dépendent de la méthode utilisée. Avec les techniques récentes, ces valeurs sont de l'ordre de 190 à 280 mmol/l.

Les fructosamines renseignent sur l'équilibre glycémique durant les 2 à 3 semaines précédentes. Il permet avant tout d'apprécier les résultats d'un changement de traitement. Ce qui est particulièrement intéressant chez la femme enceinte diabétique. En outre, les fructosamines ne sont pas perturbées en cas d'hémoglobinopathies et d'anémies hémolytiques.

2- SURVEILLANCE DES COMPLICATIONS DU DIABÈTE

a- Recherche de corps cétoniques dans les urines

L'émission urinaire quotidienne physiologique de quelques dixièmes de millimoles d'acétoacétate et de β hydroxybutyrate n'est pas détectable par les méthodes ordinaires. La présence manifeste de corps cétoniques dans les urines est un signe d'acidocétose, qui représente une complication aiguë du diabète sucré. Les méthodes de détection utilisent des bandelettes de papier ou des comprimés réactifs chargés de nitroprussiate de sodium. La présence de corps cétoniques dans les urines se traduit par une coloration violette. Il est à noter que les bandelettes et les comprimés doivent être conservés soigneusement à l'abri de l'humidité et de la lumière. Pour la détection, il suffit de déposer à leur surface une goutte d'urine.

b- Recherche d'une protéinurie

Elle s'effectue sur les urines de 24 heures par des méthodes semi-quantitatives avec des bandelettes réactives (type Albustix) dont la valeur limite de détection est de 300 mg/24 heures. Une protéinurie positive chez un diabétique signifie très probablement une complication rénale du diabète.

c- La microalbuminurie Il s'agit d'une excrétion urinaire d'albumine non détectable par les bandelettes réactives utilisées pour la mise en évidence de la protéinurie (taux < 300 mg/24 h). Le dosage fait appel aux méthodes immuno-chimiques.

Une microalbuminurie est positive si elle est comprise entre 30 et 300 mg /24 h. Elle permet de détecter précocement une néphropathie chez le diabétique au stade où l'atteinte glomérulaire est réversible. Il s'agit d'un paramètre de suivi de l'évolution d'un diabétique.

EXPLORATION DU MÉTABOLISME DES LIPOPROTÉINES

I – INTRODUCTION

Les lipides sont des composés dont les fonctions sont multiples : certains comme les triglycérides sont des éléments de stockage de l'énergie, d'autres sont des précurseurs d'hormones (cholestérol) ou des éléments de structure (phospholipides). Ils sont définis par leur nature chimique et par leurs propriétés physiques. Une des propriétés physiques des lipides est leur insolubilité dans l'eau. Du fait de cette insolubilité, ils ne peuvent circuler dans le sang qu'associés à des protéines spécifiques appelées apoprotéines. Lipides et apoprotéines forment alors un complexe macromoléculaire appelé lipoprotéine.

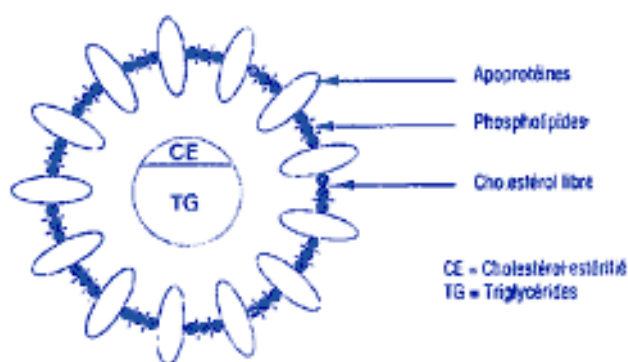


Figure 1 : structure des lipoprotéines

III - CLASSIFICATION DES LIPOPROTÉINES

À - CRITÈRES DE CLASSIFICATION

Les lipoprotéines sont à l'heure actuelle classées sur des critères physiques. Ces critères tiennent compte de

Tableau II : Caractéristiques des différentes apoprotéines

	PM	Fonctions	Synthèse	VLDL	LDL	HDL
Apo AI	23 300	Activation L.C.A.T	Foie Intestin	4 %		67 %
Apo AII	17 000	Structure des HDL	Foie Intestin			22 %
Apo AIV	45 000		Intestin			
Apo B100	540 000	Sécrétion des VLDL Ligand récept. LDL	Foie	35 %	90 %	
Apo B48	275 000		Intestin			
Apo CI Apo CII Apo CIII		Activateur LCAT (IV) Activateur LPL Inhibiteur LPL				
Apo D	33 000		Gonade, Rein, Foie, Placenta Intestin			
Apo E	38 000	Ligand récepteur LDL	Foie, Intestin, Surrénales, Macrophages	13 %		

la dimension de la particule, de sa densité et de sa mobilité électrophorétique. On distingue ainsi, 4 classes de lipoprotéines (Tableau I) : les chylomicrons, les very low density lipoproteins (VLDL) les low density lipoproteins (LDL) et les high density lipoproteins (HDL).

Tableau I : Propriétés physiques et structurales des lipoprotéines.

	Chylo-micron	VLDL	LDL	HDL
Diamètre (nm)	10 ² -10 ³	30-70	15-25	6-15
Densité	<0.94	0.94-1.006	1.006-1.063	1.063-1.27
Mobilité électrophorétique	Dépôt	Pré β	β	α
Lipides (%)	98-99	90-95	76-80	45-55
Protéines (%)	1-2	5-10	20-24	45-50

B - CLASSIFICATION DES APOPROTÉINES

Situées à la périphérie des lipoprotéines, elles permettent leur solubilisation et leur transport sanguin. Elles ont en outre un double rôle :

- Un rôle structural de maintien du complexe macromoléculaire
- Un rôle métabolique en tant qu'effectrices d'enzymes et en jouant un rôle de ligand pour certains récepteurs (Tableau II).

C- COMPOSITION DES LIPOPROTÉINES

Tableau III: Composition des différentes lipoprotéines

LP	TG (%)	CL (%)	CE (%)	PL (%)	Apo. majeures
Chylomicrons	86-94	0.5-1	1-3	3-8	1-2 % (B48, E)
VLDL	55-65	6-8	12-14	12-18	5-10 % (B100, CII, CIII, E)
LDL	8-12	5-10	33-40	20-25	20-24% (B100)
HDL	3-6	3-5	14-18	20-30	45-50 % (AI, AII, CI, CII, CIII)

IV - MÉTABOLISME DES LIPOPROTÉINES

À - MÉTABOLISME DES CHYLOMICRONS

Les chylomicrons sont synthétisés au niveau de l'intestin grêle en période prandiale. Ils sont formés de triglycérides et de cholestérol d'origine alimentaire associés à des apoprotéines dont les plus importantes sont les Apo B48 (qui correspondent à l'extrémité N-terminale tronquée de l'apo B100) synthétisées exclusivement par l'entérocyte. Ainsi formés, les chylomicrons gagnent la circulation lymphatique, puis la circulation générale par l'intermédiaire du canal thoracique. Les chylomicrons sont responsables de la lactescence post prandiale du sérum.

Dans la circulation :

- Ils reçoivent des apoprotéines CII et E des HDL circulantes.
- Ils subissent l'action de la lipoprotéine lipase (LPL), enzyme présente à la surface endothéliale des capillaires sanguins.

En hydrolysant les liaisons ester des triglycérides, la LPL libère les acides gras qui peuvent gagner les cellules adjacentes pour servir de substrat énergétique ou de précurseurs métaboliques.

Les chylomicrons appauvris en triglycérides, deviennent des « remnants », gagnent le foie où les triglycérides et les phospholipides résiduels peuvent encore être hydrolysés par la triglycéride lipase hépatique. L'apo E est reconnue par des récepteurs situés sur la cellule hépatique. Ces récepteurs nommés LRP (LDL Receptor related Protein), reconnaissent l'apo E (et l'apo B100). La particule est alors internalisée et métabolisée dans l'hépatocyte. Le cholestérol d'origine alimentaire ainsi apporté aux hépatocytes est essentiellement destiné à être catabolisé ou incorporé au pool intrahépatocytaire.

B - MÉTABOLISME DES VLDL

Les VLDL sont synthétisées au niveau du foie. Elles contiennent du cholestérol libre et surtout des triglycérides endogènes issus de la lipogenèse hépatocytaire. Elles sont associées à l'apo B100 exclusivement synthétisée par le foie et les apo CII, CIII et E d'origine hépatique ou venant des HDL.

Dans la circulation les VLDL subissent :

- l'action de la LPL
- l'action de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) qui estérifie le cholestérol libre
- des échanges de lipides avec les HDL grâce à une protéine particulière : la cholesteryl ester transfer protein

(CETP) qui permet de transférer du cholestérol estérifié de la HDL vers la VLDL et des triglycérides de la VLDL vers la HDL.

Ainsi, la VLDL, appauvrie en triglycérides et enrichie en cholestérol estérifié, donne naissance à des lipoprotéines nommées IDL (Intermediate density lipoprotein). Une fraction des IDL subit au niveau hépatique l'action de la TG lipase hépatique et évolue vers le stade LDL.

Une autre partie des IDL peut être captée par l'hépatocyte avant d'être convertie en LDL. Ce mécanisme fait intervenir le LRP qui reconnaît l'apo B100.

C - MÉTABOLISME DES LDL

Les LDL ainsi formées se composent d'Apo B100 et transportent 60% du cholestérol plasmatique essentiellement sous forme estérifiée. Elles circulent dans le sang vers les tissus périphériques et le foie au niveau duquel elles sont reconnues par les récepteurs LRP. Après fixation sur le site récepteur, la LDL est internalisée (70% au niveau du foie, 30% en périphérie) et dégradée en cholestérol libre, acides gras et acides aminés (fig. 2)

Le cholestérol libre :

- peut être utilisé à des fins métaboliques: construction des membranes, synthèse des hormones stéroïdes et des acides biliaires
- peut être stocké sous forme de cholestérol estérifié. En effet, le cholestérol libre active l'ACAT (Acyl CoA Cholestérol Acyl Transférase) qui catalyse cette réaction d'estérification.
- inhibe la β hydroxy méthyl glutaryl coenzyme A réductase (β HMG CoA réductase), enzyme régulatrice de la synthèse du cholestérol.
- inhibe la synthèse des récepteurs LRP
- peut être catabolisé par l'hépatocyte
- peut être éliminé dans la bile tel quel, ou bien être converti en acides biliaires.

D - MÉTABOLISME DES HDL

Les HDL plasmatiques sont d'origine hépatique ou intestinale. Quatre sous classes ont été décrites : HDL1, HDL2, HDL3 et les VHDL (Very high density lipoproteins). Les plus importantes du point de vue métabolique sont les HDL2 et les HDL3.

Les premières HDL libérées dans la circulation sont les HDL naissantes. Elles sont libérées par les hépatocytes et se présentent sous une forme ovale. Elles contiennent du cholestérol libre et des phospholipides associés à des apo AI, C et E. Au fur et à mesure, la particule s'enrichit en cholestérol libre au contact des tissus. Le mécanisme de passage du cholestérol de la cellule aux HDL dépend

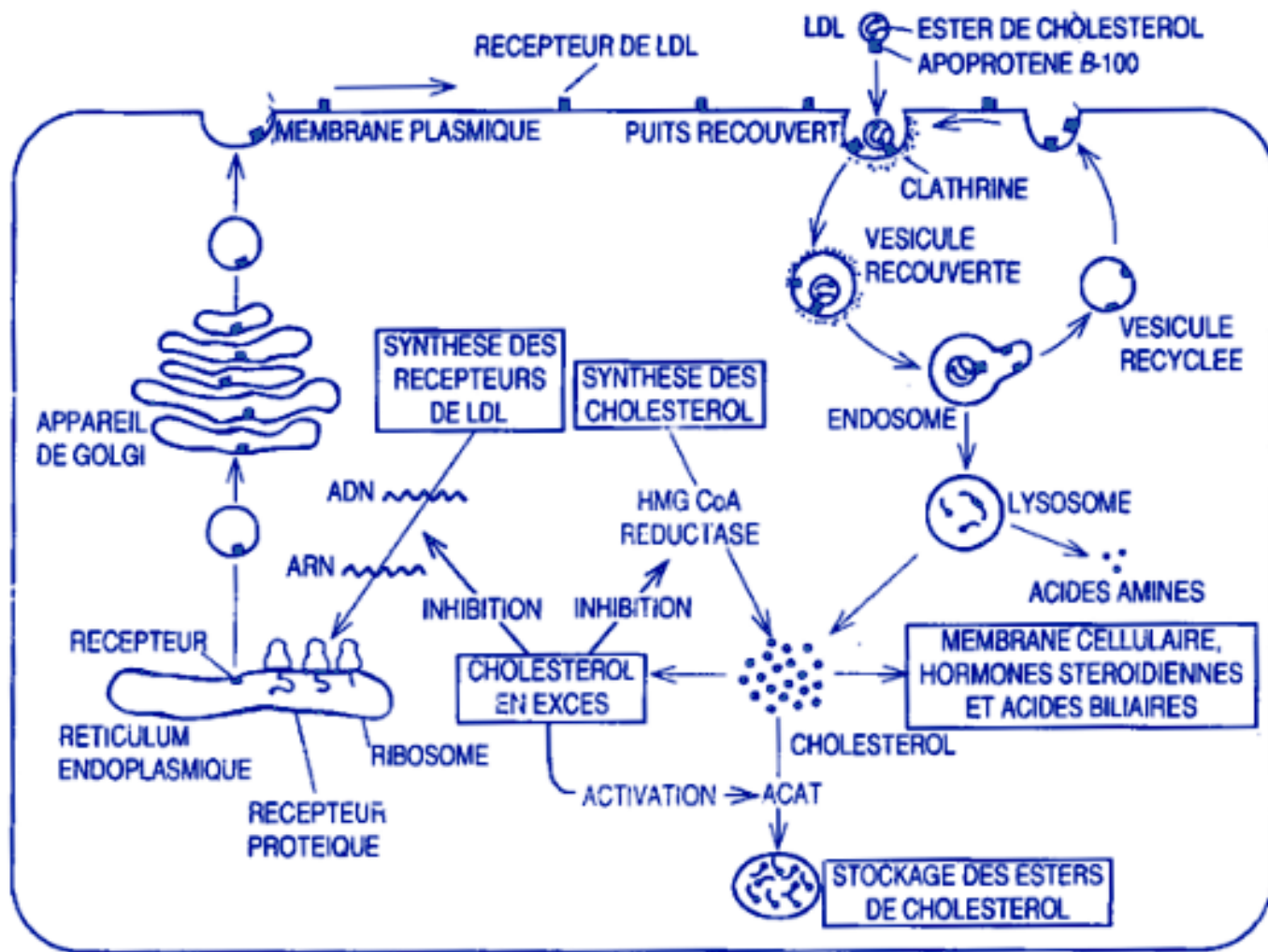


Figure 2 : Captation et métabolisme intracellulaire du cholestérol

de l'interaction des HDL et en particulier de l'Apo AI avec les cellules.

Le cholestérol libre est ensuite estérifié au sein des HDL par intervention de la LCAT activée par l'apo AI. Ce cholestérol estérifié hydrophobe se localisera au centre et transformera les HDL naissantes en sphères correspondants aux HDL3. Ces HDL3 sont des HDL de petites tailles et de haute densité qui sont capables de recevoir du cholestérol et de continuer à l'estérifier avec la LCAT. Elles se transforment en HDL de plus grandes tailles, les HDL2. Celles-ci de densité plus légères car plus riches en triglycérides, sont des transporteurs de stérides vers le foie ou vers les autres lipoprotéines : VLDL et LDL.

Les HDL ont plusieurs fonctions :

- Elles interviennent dans la lipolyse des chylomicrons et des VLDL en leur transférant l'Apo CII.
- Elles interviennent dans le transport reverse du cholestérol en :
 - * récupérant l'excès de cholestérol des tissus périphériques
 - * permettant l'estérification du cholestérol par la LCAT pour libérer les sites périphériques de la lipoprotéine
 - * échangeant ce stéride ainsi formé contre les TG des VLDL
 - * ramenant au foie le cholestérol des tissus non échan-

gé avec les triglycérides des VLDL.

V - EXPLORATION DES HYPERLIPOPROTEINEMIES

À - BILAN LIPIDIQUE SYSTÉMATIQUE

Il s'agit d'un bilan demandé :

- dès l'enfance dans les familles à risque
- vers 25-30 ans chez les autres sujets
- en présence de pathologie susceptible d'entraîner une dyslipoprotéinémie.

Ce bilan comprend :

1 - L'ASPECT DU SÉRUM À JEUN

Test très facile et d'une grande orientation. Il précise si le sérum est clair, opalescent ou lactescent témoignant alors, de la présence de VLDL ou de chylomicrons. Si on le laisse à +4°C pendant 24 à 48 heures, on peut distinguer entre chylomicrons et VLDL, car au bout de ce temps, les chylomicrons remontent à la surface formant une couche crémeuse laissant le sérum sous-jacent clair, alors que les VLDL restent en suspension maintenant la lactescence ou l'opalescence du sérum.

2 - DOSAGE DU CHOLESTÉROL TOTAL

Valeurs usuelles : 4 - 6 mmol/l

3 - DOSAGE DES TRIGLYCÉRIDES

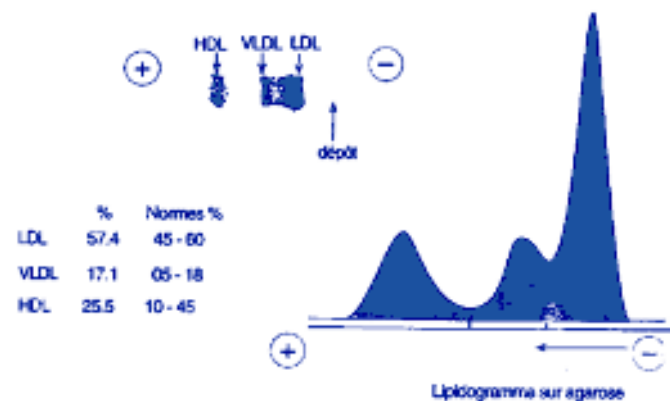
Valeurs usuelles : 0,7 - 1,7 mmol/l

B - LE BILAN LIPIDIQUE ORIENTE

Il est utilisé :

- Pour une confirmation diagnostique après une anomalie dans le bilan systématique.
- Pour une surveillance thérapeutique

Il comprend :



1-ÉLECTROPHORÈSE DES LIPOPROTÉINES : LIPIDOGRAMME

Après migration, elle permet de visualiser selon les cas :

- une surcharge en chylomicrons
- une augmentation des VLDL et/ou des LDL
- une présence d'IDL
- une augmentation ou une diminution relative des HDL

2 - DOSAGE DU CHOLESTÉROL HDL

Il s'effectue après précipitation sélective des LDL et VLDL.

Taux normaux : chez l'homme >1,1 mmol/l et chez la femme >1,3 mmol/l

3-ÉVALUATION DU CHOLESTÉROL LDL

Plus difficile à pratiquer, le dosage par précipitation sélective des LDL est peu utilisé. La formule de Friedwald permet de le calculer : $\text{Chol. LDL} = \text{Chol. total} - (\text{Chol. HDL} + \text{TG}/2,2)$

C- ÉVALUATION DU RISQUE ATHEROGENE

Pour l'évaluation du risque athérogène, les deux principales apoprotéines peuvent être dosées par différentes techniques immunologiques avec antisérums spécifiques.

1-Dosage de l'apoprotéine B :

Valeurs usuelles : 0.8-1.3 g/l

2-Dosage de l'apoprotéine A1 :

Valeurs usuelles : 1.2-1.8 g/l

VI - TROUBLES DU MÉTABOLISME DES LIPOPROTÉINES

Les perturbations du métabolisme des lipoprotéines se traduisent par des modifications isolées ou associées, des taux plasmatiques de cholestérol et de triglycérides, dont la seule détermination suffit le plus souvent à définir un phénotype clinique de dyslipoprotéinémie.

À - LES HYPERLIPOPROTEINEMIES PRIMITIVES

Elles ont d'abord été classées sur des critères électrophorétiques (Frederickson), puis, les dosages de triglycérides et de cholestérol se généralisant, une nouvelle classification est apparue, basée sur des critères de formule lipidique (De Gennes). Plus récemment, une classification basée sur la répartition des apoprotéines a été proposée (Alaupovic). Le tableau IV réunit les classifications de Frederickson et de De Gennes.

B - LES HYPERLIPOPROTEINEMIES SECONDAIRES

Elles sont souvent, mais pas toujours modérées, provoquent parfois une lactescence du sérum. Elles touchent toutes les catégories de lipides sériques. On les observe dans des affections aussi diverses que le diabète sucré, la goutte, les maladies hépatiques, les maladies thyroïdiennes, l'insuffisance rénale, la prise de certains médicaments comme la pilule oestro-progestative et autres. Ce sont les hyperlipoprotéinémies les plus rencontrées en pratique médicale. Elles résistent aux traitements hypolipémiants et ne sont corrigées en règle générale que par le traitement ou l'équilibre de la maladie causale.

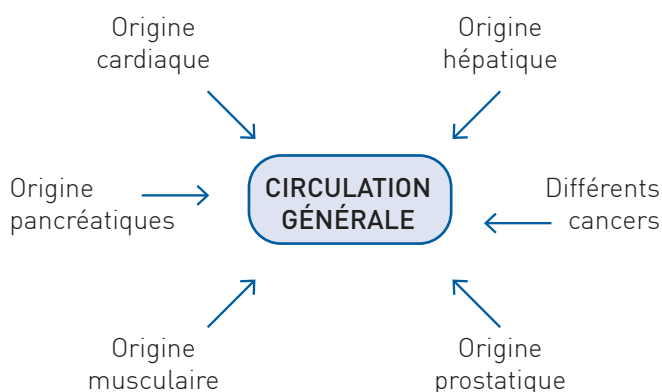
Tableau IV : Classification des hyperlipoprotéinémies primitives.

	Type I	Type IIa	Type IIb	Type III	Type IV	Type V
Aspect du sérum	Lactescent	Clair	Clair/± trouble	Trouble	Trouble	Lactescent
Cholestérol	Lég élevé	Très élevé	Très élevé	Elevé	Lég élevé	Lég élevé
TG	Très élevés	Nx	Lég élevés	Elevés	Lég élevés	Très élevés
Electroph.	Chylo.	β	β Pré β	Broad band Pré β et β	Pré β	Chylo Pré β
Apo B	Diminuée	Très élevée	Elevée	Elevée	Normale	Normale
Athérogène	Non	Oui	Oui	Oui	Oui, si facteurs de risque CV	Non
Étiologie	Déficit activité LPL	Déficit récept. des LDL	?	?	VLDL ↗ synthèse ↘ catabolis.	?

LES ENZYMES SÉRIQUES

I - INTRODUCTION

Les enzymes sont des substances de nature protéique douées d'activité catalytique. La mesure de l'activité des différentes enzymes du sérum humain a pris depuis quelques années une grande importance. Ces enzymes retrouvées dans le plasma font partie de deux groupes différents : celles qui sont spécifiquement plasmatiques et celles qui ne le sont pas. Les enzymes spécifiquement plasmatiques ont une fonction dans le plasma qui est leur lieu d'action normal (enzymes de la coagulation, rénine, lipoprotéine lipase...). À l'inverse, les enzymes non plasmatiques n'y ont pas de rôle physiologique et leur concentration y est bien plus faible qu'au sein des tissus où elles exercent leur activité. Dès qu'un organe ou un tissu est lésé, il libère, dans la circulation générale, des enzymes qui lui sont propres. Pour déterminer l'organe lésé, il est plus facile et plus confortable pour le malade d'effectuer une prise de sang, que de faire une biopsie d'organe.



L'intérêt du dosage des enzymes est multiple :

- il permet de déceler une maladie avant même qu'elle ne soit cliniquement percevable
- il permet de préciser l'organe lésé
- enfin, pour certaines enzymes leur taux est un bon marqueur de l'évolution de la maladie.

II – MÉCANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES

À - DIMENSION MOLÉCULAIRE DES ENZYMES

Chaque enzyme a un poids moléculaire qui lui est propre. Celui-ci varie de 48 000 pour la lipase à 1 000 000 pour la gamma glutamyl transpeptidase (γ GT) (Tableau I).

Tableau I- Masse moléculaire des principales enzymes

ENZYME	Masse Moléculaire
Lipase	48.000
Amylase	50.000
Créatine kinase (CK)	80.000
Aspartate aminotransférase (ASAT)	90.000
Phosphatase Acide (PAC)	100.000
Lactico-déshydrogénase (LDH)	140.000
Phosphatases alcalines (PAL)	140.000
Alanine aminotransférase (ALAT)	180.000
5' Nucléotidase (5' Nu)	200.000
Gamma glutamyl transpeptidase (γ GT)	1.000.000

Cette différence de poids moléculaire est importante à considérer, car :

- Elle conditionne la diffusion des enzymes des tissus vers le sang.
- Elle conditionne l'élimination des enzymes par les émonctoires. Par exemple, l'amylase et la lipase franchissent aisément le glomérule rénal.

L'amylase est retrouvée dans les urines alors que la lipase est réabsorbée au niveau du tubule proximal. Ceci n'est pas le cas pour les enzymes de haut poids moléculaire.

B – LOCALISATION TISSULAIRE DES ENZYMES

Les enzymes sont des protéines tissulaires. Chaque tissu est équipé d'enzymes en relation avec sa fonction, en grande partie déterminée par la nature des réactions biochimiques qui s'y déroulent. Le tableau II montre l'activité de certaines enzymes dans différents tissus par rapport à celle du sérum.

Tableau II- Activité relative des enzymes dans différents tissus par rapport au sérum.

	Sérum normal	Globule rouge	Foie	Cœur	Muscle squelettique
ASAT	1	x 15	x 7 000	x 8 000	x 5 000
ALAT	1	x 7	x 3 000	x 400	x 300
LDH	1	x 300	x 1 500	x 1 000	x 700
CK	1	< 1	x < 10	x 10 000	x 50 000

Les enzymes sont donc des marqueurs tissulaires, mais cette organo-spécificité n'est pas absolue. L'ASAT par exemple, se trouve en quantité comparable dans différents tissus. La CK se trouve dans les muscles squelettique et cardiaque. Ce manque de spécificité absolue est compensé par le recours aux iso-enzymes.

Les iso enzymes constituent un groupe d'enzymes qui ont des structures différentes, mais qui catalysent la même réaction. Exemple, la LDH présente 5 iso enzymes: LDH1, LDH2, LDH3, LDH4 et LDH5. L'isoforme LDH1 est spécifique du cœur, alors que la LDH5 est spécifique du foie.

C - LES ENZYMES A L'ÉCHELLE CELLULAIRE

Les enzymes se répartissent dans la cellule à différents niveaux.

- Au niveau de la membrane plasmique (PAL, γ GT, 5'Nu).
- Au niveau du cytoplasme (ASAT, ALAT, LDH, CK).
- Au niveau de la mitochondrie (ASAT, CK).
- Au niveau des lysosomes (PAC).
- Au niveau du réticulum endoplasmique (γ GT).

Cette différence de localisation est importante à considérer, car :

- * Les enzymes membranaires et cytoplasmiques sont libérées au cours de syndromes différents.
- * L'apparition d'enzymes mitochondriales traduit des phénomènes pathologiques plus sévères que celles d'enzymes cytoplasmiques.
- * Les enzymes d'origine membranaire étant ancrées plus ou moins profondément et solidement dans la membrane, sont libérées inégalement en fonction de l'atteinte.

D - LIBÉRATION, DIFFUSION ET ÉLIMINATION DES ENZYMES

1 - LIBÉRATION DES ENZYMES

a- À L'état physiologique

Comparées aux activités mesurées dans les cellules, les activités enzymatiques sériques physiologiques sont très faibles. Ces activités sériques ont de nombreuses origines :

a1- Le renouvellement cellulaire

Dans l'espèce humaine, à chaque seconde, près de 50 millions de cellules meurent, cependant qu'un même nombre de cellules nouvelles sont formées pour assurer la relève.

- Cellules sanguines

En contact direct avec le torrent circulatoire, le renouvellement des cellules sanguines contribue largement à constituer le pool d'activités physiologiques, du fait de l'importance numérique des érythrocytes et du "turn-over" rapide des plaquettes sanguines (demi-vie de 4 jours). Exemple : présence de quantité importante de PAC et de LDH d'origine érythrocytaire et plaquettaire dans le sérum.

- Endothélium vasculaire

Cette couche cellulaire est dans une position privilégiée pour libérer les enzymes dans le sang. Elle représente plusieurs milliards de cellules qui se renouvellent en quelques mois.

- Foie et rate

Très vascularisés, ces tissus ont une structure anatomique assurant un contact étroit entre leur parenchyme et le sang circulant. Ils contribuent ainsi de manière importante à la constitution du pool physiologique des activités enzymatiques.

a2- L'activité musculaire

Les muscles qui occupent un volume important dans

l'organisme humain libèrent des molécules enzymatiques lors de leur fonctionnement. Exemple : l'activité de la CK dans le sérum est plus élevée en fin de journée que le matin au lever.

a3- La sécrétion tissulaire

Le foie sécrète aussi des enzymes dans le torrent circulatoire où elles assurent des fonctions déterminées :

- enzymes de la coagulation (prothrombine, pro accélé-rine...);
- enzymes de l'épuration plasmatique des lipoprotéines (LACT).

b- À l'état pathologique

Les mécanismes de libération d'enzymes à l'échelle cellulaire ont fait l'objet d'études récentes. Les plus recommandés de ces mécanismes sont illustrés comme suit :

- Pour un niveau énergétique intracellulaire normal, la cellule occupe un volume défini. Les pompes ioniques membranaires ATP-dépendantes déterminent ce volume en intégrant le potassium et refoulant le calcium, le sodium et l'eau.
- Si l'ATP intracellulaire vient à manquer, les pompes ioniques sont perturbées et la cellule gonfle. La concentration intracellulaire du calcium s'élève parallèlement au gonflement de la cellule. Le calcium active les filaments contractiles disposés du côté interne de la membrane et il se forme des vésicules et des brèches membranaires (pore mechanism). C'est le stade réversible de la souffrance cellulaire. Les enzymes pourraient quitter les cellules par ces pores.
- Lorsque la cellule est totalement privée d'ATP, l'intégrité membranaire n'est plus maintenue, c'est le stade irréversible de la nécrose cellulaire. La cellule déverse alors tout son contenu dans le milieu environnant.

Certains auteurs relient l'augmentation du calcium intracellulaire à une activation de la phospholipase A2 membranaire.

2 - DIFFUSION VERS LE COMPARTIMENT SANGUIN

Une fois libérées par la cellule, les macromolécules enzymatiques vont gagner la circulation en empruntant diverses voies. Dans l'environnement cellulaire habituel (tissu interstitiel, capillaires sanguins et vaisseaux lymphatiques), la proximité entre cellules et capillaires sanguins et l'épaisseur de la membrane basale de ces mêmes capillaires sont variables suivant les tissus. Ces deux paramètres vont conditionner la diffusion des enzymes des tissus vers le sang.

Lorsque la membrane basale est épaisse, les macromolécules enzymatiques, à l'inverse des petites molécules, ne peuvent la traverser pour gagner la voie sanguine directement et sont obligées d'emprunter la voie lymphatique. La conséquence directe est le décalage constaté entre le moment de l'atteinte cellulaire et l'élévation des activités enzymatiques dans le sang.

- Une hypoxie expérimentale sur un foie isolé et perfusé engendre une élévation enzymatique sérique dès la septième minute.
- Dans les pathologies cardiaques, pancréatiques et prostatiques, il s'écoule plusieurs heures entre l'atteinte cellulaire et les élévations sériques des enzymes.
- Les variations enzymatiques qui accompagnent l'effort

musculaire peuvent s'étendre sur plusieurs jours après l'arrêt de l'effort.

3 - ÉLIMINATION

Les enzymes ayant les poids moléculaires les plus faibles sont éliminées par les reins (amylase, lipase). Les autres sont captées par différents organes d'élimination, dont le foie et l'intestin. On définit la demi-vie sérique d'une enzyme comme le temps nécessaire pour que l'activité de l'enzyme diminue de moitié. Chacune de ces enzymes a une demi-vie propre.

Trois étapes successives déterminent les activités enzymatiques mesurées dans le sang : libération cellulaire, distribution à travers les compartiments, dégradation et élimination. Chaque mesure d'activité effectuée à un instant donné est la résultante de ces 3 étapes.

Tableau III- Demi-vie sérique des enzymes

Amylase	Lipase	CK-MB	CK	ASAT	ALAT	PAL	γ GT	PAC	LDH 1	LDH 5
< 1 j	< 1 j	< 1 j	\approx 1 j	< 1 j	\approx 2 j	7 j	4 j	5 j	5 j	< 1 j

III - MÉTHODES DE DOSAGE

A- PRINCIPE

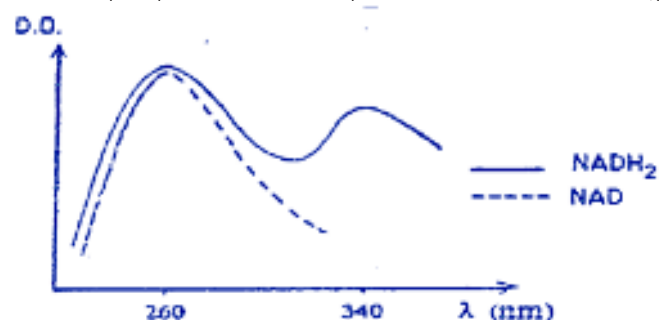
En enzymologie, on ne mesure pas une concentration en enzyme, mais une activité enzymatique. Le principe de dosage repose sur la propriété même de l'enzyme à transformer un substrat en produit. On utilise donc la réaction catalysée par l'enzyme, et on dose la quantité de produits formée ou la quantité de substrat détruite au cours d'un temps déterminé (min). Nous pouvons pour cela :

1- UTILISER DES MÉTHODES COLORIMÉTRIQUES

Substrat \longrightarrow Produit coloré dont la coloration est proportionnelle à l'activité de l'enzyme

2- INTRODUIRE UN COENZYME NICOTINIQUE (NADH₂, NADPH₂) (MÉTHODE DU TEST OPTIQUE)

On suit les variations d'absorbance à 340 nm. En effet, le NADH₂ ou le NADPH₂ a un pic d'absorption dans l'ultraviolet, caractéristique, à cette longueur d'onde. Ce pic n'existe pas pour la forme oxydée de NAD ou NADP (fig.



1).

Figure 1 : Variations de la densité optique des NAD et des NADH₂ en fonction de la longueur d'onde.

On sait que les acides alpha-cétoniques (Pyr, OAA) sont réduits sous l'effet d'une enzyme à NADH₂; exemple: LDH.



NADH₂ NAD
On suit cette réduction grâce à la disparition du NADH₂ à 340 nm (fig.2)

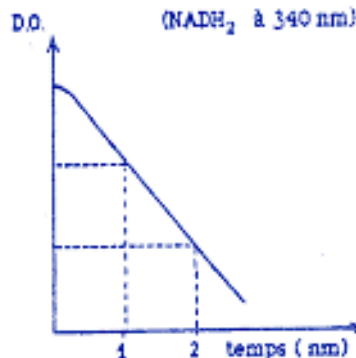
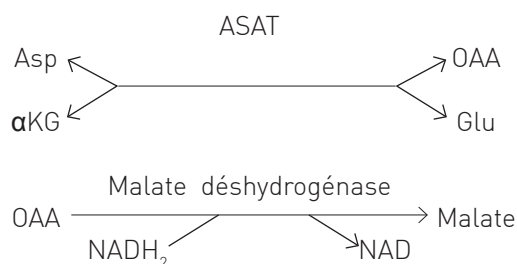


Figure 2 : Courbe de la décroissance du NADH₂ en fonction du temps.

La transformation du NADH₂ en NAD est proportionnelle à l'activité de LDH présente dans le sérum. On peut suivre cette transformation en fonction du temps. Si la réaction ne fait pas intervenir NAD / NADH₂, on utilise une cascade de réactions qui se termine par une réaction utilisant un coenzyme nicotinique. Exemple: Les transaminases.



B- EXPRESSION DES RÉSULTATS

L'activité enzymatique est exprimée en unité internationale (UI). Celle-ci correspond à l'activité enzymatique capable de faire disparaître une micromole de substrat par minute.

IV - PRINCIPALES ENZYMES SÉRIQUES

À- LES PHOSPHATASES

Les phosphatases sont des hydrolases qui agissent sur les esters phosphoriques.

Il existe dans le sérum deux types de phosphatases alcalines : celles qui agissent à pH acide et celles qui agissent à pH alcalin, d'où leur dénomination.

1-PHOSPHATASES ALCALINES

a- Données générales

Ces enzymes existent dans la plupart des cellules et, en particulier, dans les zones de croissance des os, le foie, la muqueuse intestinale, les leucocytes, le placenta, le cortex rénal, les glandes mammaires, le cerveau, le tissu lymphoïde. Les phosphatases alcalines sont éliminées par la bile.

Leur dosage utilise une méthode colorimétrique. Les va-

leurs physiologiques varient en fonction de l'âge et du sexe.

b- Variations pathologiques

- * L'augmentation des phosphatases alcalines est observée :
 - Dans les affections hépatobiliaires dans lesquelles il existe un syndrome de cholestase, car elles sont éliminées par la bile.
 - Dans les affections osseuses dans lesquelles il existe une augmentation de l'activité des ostéoblastes tels que le rachitisme, la maladie de Paget, les tumeurs malignes des os...
- * La diminution des phosphatases alcalines peut être observée au cours des déficits congénitaux.

2-LES PHOSPHATASES ACIDES

a- Données générales

- Ces enzymes existent dans la prostate, les ostéoclastes, le foie, le rein, la rate et les globules rouges.
- Le dosage est basé sur les mêmes méthodes colorimétriques utilisées pour les phosphatases alcalines. Cependant, le pH de la réaction varie. Les valeurs physiologiques ne diffèrent pas entre l'homme et la femme.

b- Variations pathologiques

Les phosphatases acides sont un bon marqueur des pathologies prostatiques, notamment le cancer de la prostate. Elles augmentent également dans les affections osseuses dans lesquelles il existe une augmentation de l'activité des ostéoclastes, notamment les métastases osseuses d'origine ostéolytique.

B- L'AMYLASE

1- DONNÉES GÉNÉRALES

- L'amylase dégrade l'amidon pour le transformer en dextrine puis en maltose
- Elle existe dans les glandes salivaires, le pancréas, le foie, l'intestin et le tissu adipeux.
- Le dosage de l'amylase utilise des méthodes colorimétriques. Les valeurs physiologiques diffèrent selon le sexe

2- VARIATIONS PATHOLOGIQUES

** Augmentation de l'amylasémie*

- se manifeste au cours de la pancréatite aiguë hémorragique pouvant atteindre 30 à 40 fois la valeur normale. Cette augmentation se manifeste entre la 3e et la 6e heure après le début de l'affection, atteint son maximum entre 20 et 30 heures et se normalise entre 2 et 8 jours. L'amylase est éliminée par voie urinaire, il faut donc toujours confronter l'amylasémie à l'amylasurie.
- Elle s'observe également, au cours des pancréatites chroniques et des cancers du pancréas, mais cette augmentation n'est pas aussi importante que dans les pancréatites aiguës.
- Par ailleurs, divers syndromes abdominaux s'accompagnent d'une élévation de l'amylase sérique (perforation d'ulcère, occlusion intestinale, rupture de grossesse extra-utérine...).
- L'hyperamylasémie se voit également, au cours des parotidites (oreillons)

* *L'amylasémie baisse* dans les insuffisances pancréatiques.

C- LA LIPASE

1- DONNÉES GÉNÉRALES

- La lipase est sécrétée par le pancréas qui joue un rôle fondamental dans la digestion des triglycérides à chaînes longues dont elle hydrolyse les liaisons ester en position 1 et 3 pour libérer deux acides gras et un monoglycéride qui sont absorbables.

2- VARIATIONS PATHOLOGIQUES

** L'augmentation de la lipasémie*

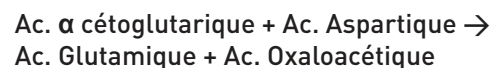
- se manifeste au cours de la pancréatite aiguë ; par rapport à l'amylase, elle augmente plus précocement, de façon beaucoup plus importante et persiste plus longtemps.
- différentes pathologies extrapancréatiques sont susceptibles de faire augmenter l'amylase et la lipase dans le plasma : insuffisance rénale (par défaut d'élimination), pathologies hépatobiliaires et intestinales.

D- LES AMINOTRANSFERASES (TRANSAMINASES)

1- DONNÉES GÉNÉRALES

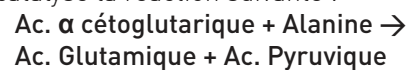
Ce sont des enzymes qui permettent le transfert du groupement aminé d'un acide aminé sur un acide alpha cétonique. On distingue :

- L'ASAT (Aspartate AminoTransférase) anciennement appelée TGO (Transaminase Glutamique Oxaloacétique) catalyse la réaction suivante :



L'ASAT (TGO) est essentiellement présente dans le cœur, mais on la trouve également dans le foie, les reins et les muscles squelettiques.

L'ALAT (Alanine Amino-Transférase) anciennement appelée TGP (Transaminase Glutamique Pyruvique) catalyse la réaction suivante :



L'ALAT est essentiellement présente dans le foie, mais on la trouve également dans le cœur et les reins en faible quantité.

Le dosage des transaminases fait appel aux propriétés spectrales du NADH_2

2- VARIATIONS PATHOLOGIQUES

Lors d'atteintes tissulaires modérées, la forme d'ASAT qui prédomine dans le plasma est d'origine cytosolique, alors que la forme mitochondriale est libérée lors d'atteintes sévères.

- Des augmentations très importantes d'ASAT pouvant atteindre plus de 100 x Limite Sup des Valeurs Usuelles (LSVU) peuvent être observées lors de dommages cellulaires sévères (hépatites aiguës, lésions par écrasement ou hypoxie tissulaire).
- Des augmentations plus modérées (5-10 x LSVU) peuvent faire suite à un infarctus du myocarde, patho-

logie musculaire, traumatisme ou atteintes hépatobiliaires autres que celles s'accompagnant de cytolysse importante.

Dans l'infarctus du myocarde : l'évaluation la plus importante est celle de la ASAT qui commence à augmenter dès la 6e heure, se poursuit jusqu'à la 36e heure et retourne à la normale au bout de 5 à 6 jours.

Dans la plupart des circonstances dans lesquelles l'activité ASAT est élevée, on peut observer une augmentation de l'ALAT, mais plus modérée. Par contre, lors d'une cytolysse hépatocellulaire, l'activité de l'ALAT est souvent supérieure à celle de l'ASAT, l'ALAT étant plus spécifiquement d'origine hépatique. Cependant, en cas de nécrose hépatocellulaire, la libération d'ASAT d'origine mitochondriale contribue à une diminution du rapport ALAT/ASAT.

E- LES ALDOLASES

1- DONNÉES GÉNÉRALES

On définit sous le nom d'aldolases des enzymes qui appartiennent au cycle glycolytique et dont le rôle est de catalyser la transformation du fructose en trioses phosphates.

On connaît aux aldolases 3 iso enzymes: A, B et C dont l'origine est la suivante:

- iso enzyme A : muscles squelettiques et myocarde.
- iso enzyme B : foie, reins et intestin grêle
- iso enzyme C : cerveau, cellules sanguines et organes fœtaux.

Le dosage des aldolases utilise les propriétés spectrales du NADH_2 .

2- VARIATIONS PATHOLOGIQUES

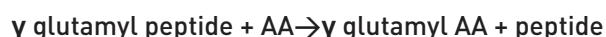
Les aldolases sont augmentées dans:

- Les affections hépatiques: essentiellement les syndromes de cytolysse, faisant multiplier 50 fois leur taux normal.
- Les affections musculaires (myopathies, myosites).

E- LA GAMMA GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE (γ GT)

1- DONNÉES GÉNÉRALES

C'est une enzyme qui exerce son activité catalytique dans des réactions de transfert et d'hydrolyse :



La γ GT est une enzyme exclusivement hépatobiliaire. L'alcool stimule sa biosynthèse au niveau des membranes cellulaires et du réticulum endoplasmique.

Son dosage utilise des méthodes colorimétriques

2- VARIATIONS PATHOLOGIQUES

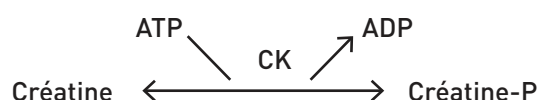
La γ GT est un excellent marqueur d'inflammation des voies biliaires. L'augmentation de la γ GT est observée au cours:

- De l'alcoolisme: le dépistage et la surveillance de l'alcoolisme chronique restent les meilleures indications de la γ GT.
- Des syndromes de cholestase.
- Des hépatites.

F- LA CRÉATINE KINASE (CK)

1- DONNÉES GÉNÉRALES

L'enzyme catalyse la réaction:



La CK est une enzyme d'origine musculaire, myocardique et cérébrale.

L'activité CK sérique est très labile et doit être mesurée dans l'heure qui suit le prélèvement. Trois isoenzymes formant des dimères ont pu être mis en évidence par électrophorèse ; ils sont de deux types, M (muscle) et B (brain ou cerveau). On peut isoler les associations MM (dans le muscle), MB (dans le myocarde) et BB (dans le cerveau).

2- VARIATIONS PATHOLOGIQUES

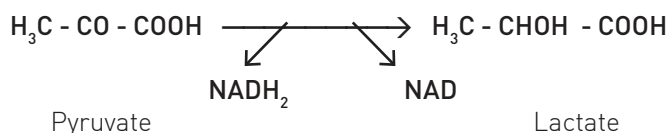
Le taux de CK est augmenté dans:

- L'infarctus du myocarde: l'élévation apparaît dès la 2e - 4e heure après le début de la crise, atteint un maximum à la 24e heure et revient à la normale vers le 2e - 3e jour.
- Les affections musculaires comme les myopathies et les nécroses musculaires ou, suite à un exercice musculaire prolongé.

G- LA LACTATE DESHYDROGENASE (LDH)

1- DONNÉES GÉNÉRALES

La LDH est présente dans de nombreux tissus où elle catalyse la réaction suivante :



Il existe 5 iso enzymes séparables par électrophorèse et susceptibles d'orienter la spécificité. Ces iso enzymes forment des tétramères à partir de 2 monomères H ou M. Elles se répartissent comme suit:

LDH ₅	LDH ₄	LDH ₃	LDH ₂	LDH ₁
Type "musculaire" ou «hépatique»			Type "cardiaque"	
iso enzyme lente			iso enzyme rapide.	

Tous les tissus et organes possèdent une importante activité LDH, surtout le muscle squelettique, le myocarde, le foie et les globules rouges.

2- VARIATIONS PATHOLOGIQUES

La LDH étant une enzyme cytosolique, présente en grande quantité dans de nombreux tissus, toute cytolysse, quelle qu'en soit l'origine, entraîne une libération de cette enzyme dans la circulation générale. Ainsi, son élévation est un signe sensible et précoce d'une lésion tissulaire, même modérée et cliniquement silencieuse. Des élévations importantes d'activité de LDH sont observées à la suite d'un infarctus du myocarde (tardive-

ment): augmentation vers la 8e - 10e heure, atteint un maximum vers la 48e - 72e heure et persiste pendant 2 à 3 semaines. Si persistance au-delà de la 3e semaine: risque de complications.

La LDH augmente dans les affections hématologiques: anémie hémolytique, anémie de Biermer.

H- LA 5' NUCLEOTIDASE

1- DONNÉES GÉNÉRALES

La 5'Nu hydrolyse la liaison mono ester entre l'acide phosphorique et le ribose en 5' des nucléotides. La phosphatase alcaline est capable d'hydrolyser les mêmes substrats que la 5'NU.

La 5'NU est une enzyme principalement d'origine hépatique, retrouvée au niveau des cellules épithéliales des canalicules biliaires et des sinusoides centrolobulaires.

2- VARIATIONS PATHOLOGIQUES

En pathologie, l'augmentation de l'activité 5'NU est caractéristique d'une rétention biliaire et s'accompagne généralement d'une augmentation de l'activité phosphatase alcaline.

La spécificité de la 5'NU lui confère une valeur discriminante face à une hyper phosphatasémie qui peut être d'origine hépatique, osseuse, placentaire ou intestinale et permet donc de lever toute ambiguïté sur l'origine obstructive ou non d'un ictère.

L'intérêt de la mesure de l'activité 5'NU est particulièrement important en pédiatrie où l'hyper phosphatasémie d'origine osseuse rend cette mesure peu informative. Par ailleurs, la précocité de l'augmentation dans le sérum de la 5'NU en fait un marqueur de grand intérêt dans la surveillance de patients suspects de métastases hépatiques.

VI - INTÉRÊT DES ENZYMES SÉRIQUES DANS LES LÉSIONS DU FOIE ET DU MYOCARDE

À - ATTEINTES HÉPATIQUES

1- LES HÉPATITES

Les hépatites s'accompagnent de souffrance et de nécrose cellulaire entraînant la libération des enzymes cellulaires, en particulier des transaminases.

a - Les hépatites virales aiguës

- ◇ Augmentation sérique des transaminases
 - * valeurs normales x 15 à 150
 - * TGP → TGO
 - * faible relation avec la gravité de l'atteinte
 - * précède la phase ictérique.
- ◇ Faible élévation sérique des enzymes membranaires (5'NU, PAL et γ GT).

b - Les hépatites chroniques

- ◇ L'hépatite chronique persistante reste de bon pronostic
 - * les transaminases: 2 à 5 fois la normale
 - * TGO / TGP : souvent proche de 1
 - * γ GT: augmentation modérée
 - * PAL: normale.
- ◇ L'hépatite chronique agressive évolue souvent vers la cirrhose

- * les transaminases: ≈ 10 fois la normale
- * TGO / TGP > 1 (très souvent)
- * γ GT: augmentation plus franche
- * PAL: en général, normal.

c - Autres hépatites

Les hépatites toxiques (intoxication au CCl₄ ou à l'amanite phalloïde) sont graves. Les transaminases sont très élevées, TGO / TGP > 1.

2- LA CHOLESTASE

Quelle qu'en soit l'origine, la cholestase provoque une élévation sérique des enzymes membranaires (5'NU, γ GT, PAL).

- ◇ Cette augmentation précède l'ictère (surtout pour la PAL et la 5'NU).
- ◇ Dans la cholestase intra-hépatique: ↑ de la 5'NU de l'ordre de 2 à 3 fois.
- ◇ Dans la cholestase extra-hépatique: ↑ de la 5'NU de l'ordre de 5 à 7 fois.

3- LES CIRRHOSSES

L'élévation des transaminases est modérée avec un rapport TGO/TGP >1.

Si l'origine est éthylique, la γ GT est élevée; si l'origine est biliaire, la PAL et la 5'NU sont très augmentées.

4- L'ÉTHYLISME CHRONIQUE

La γ GT représente le test le plus sensible (70 à 80 %) et le plus précoce dans le dépistage biologique de l'éthylisme chronique. L'alcool agit à la fois comme inducteur (hypertrophie du réticulum endoplasmique de l'hépatocyte) et comme toxique.

La mesure de la γ GT permet également de surveiller le sevrage. Ce dernier entraîne une décroissance de l'activité enzymatique jusqu'au retour à la normale (fig.3).

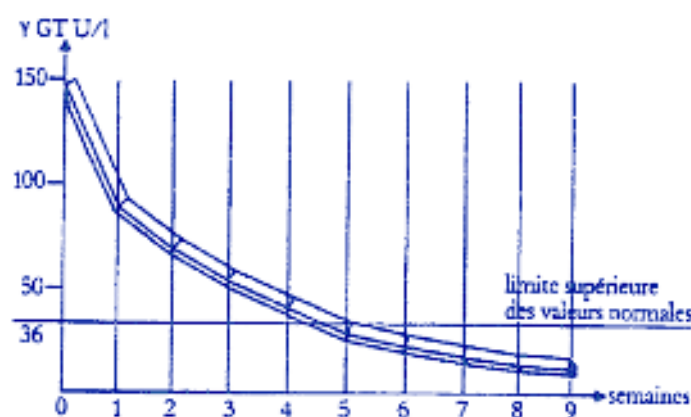


Figure 3 : Décroissance de la γ GT en fonction du temps de sevrage chez l'alcoolique.

5- MÉTASTASES HÉPATIQUES

L'élévation des enzymes membranaires est très importante, en particulier la 5'NU. Cette enzyme est très efficace dans le diagnostic de ces métastases et reste donc un marqueur biologique fondamental dans l'apparition de ces atteintes hépatiques secondaires.

B- INFARCTUS DU MYOCARDE

Il constitue une atteinte redoutable. Les infarctus électriquement et cliniquement muets représentent environ 20 à 25 % de tous les infarctus. Ils sont plus fréquents chez les sujets âgés, diabétiques ou hypertendus.

La mesure des activités enzymatiques sériques est donc un complément indispensable au diagnostic et au pronostic de l'infarctus du myocarde. Cependant, en dehors des enzymes déversées, il y a libération de protéines par les cardiomyocytes après mort cellulaire et nécrose comme la myoglobine non spécifique, mais de cinétique rapide et la troponine cardiaque qui est spécifique et se rapproche du marqueur cardiaque « idéal ».

La chronologie des désordres cellulaires succédant à l'ischémie myocardique est comme suit (fig. 4 et 5):

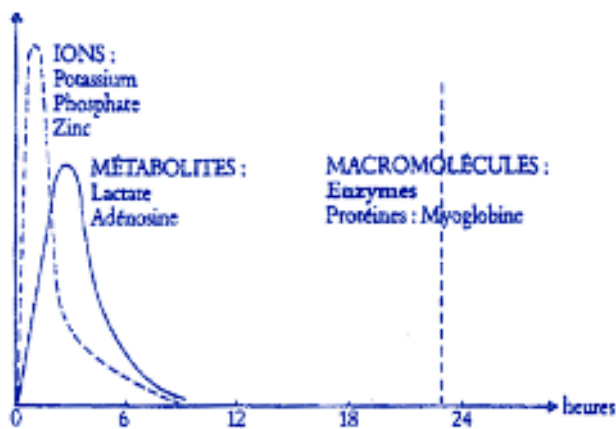


Figure 4 : Apparition dans le sang des constituants cellulaires après infarctus du myocarde.



Figure 5 : Chronologie des désordres cellulaires succédant à l'ischémie myocardique.

L'évolution des activités enzymatiques lors d'un infarctus du myocarde est très caractéristique; les éléments déterminants sont (fig. 6):

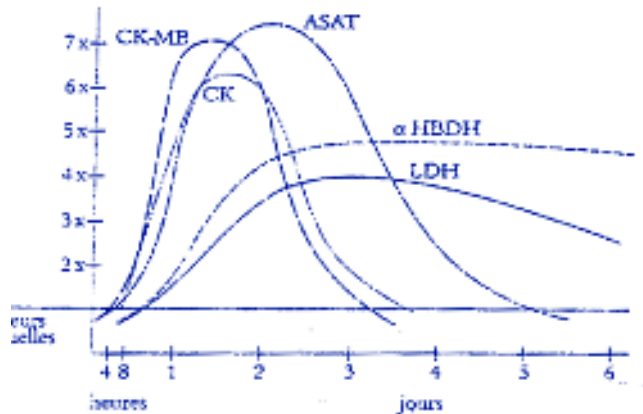
- ◇ l'élévation précoce et peu durable de la CK totale et de son isoenzyme CK-MB (faible masse moléculaire de la CK et demi-vie sérique courte)
- ◇ l'élévation moins précoce et plus durable de la TGO ou ASAT (masse moléculaire et demi-vie supérieure à la CK)
- ◇ l'élévation tardive et plus durable de l' β HBDH (LDH₁ + LDH₂) et de la LDH totale (masse moléculaire de la LDH élevée affectant sa mobilité et sa diffusion et demi-vie sérique importante pour la LDH₁).

Ce profil permet de dater la survenue de l'ischémie myo-

cardique.

Dans un sérum normal, la CK-MB représente 2 à 3 % de l'activité CK totale. Après infarctus du myocarde, les valeurs de CK-MB s'élèvent jusqu'à 22 %

(13 % en moyenne). Le rapport LDH₁ / LDH₂, établi par électrophorèse est normalement compris entre 0,45 et

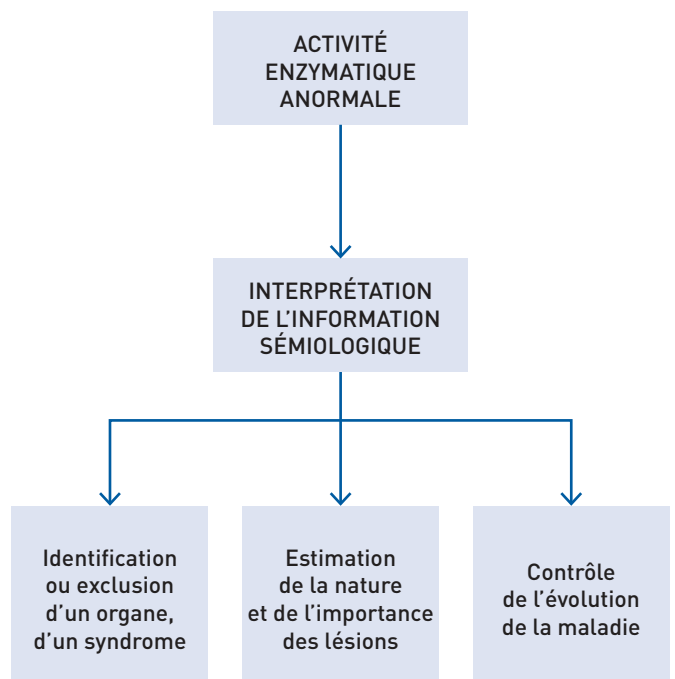


0,74, il devient > 0,80 dans l'infarctus du myocarde.

Figure 6 : Cinétique enzymatique après infarctus du myocarde.

VII – CONCLUSION

La mesure des activités enzymatiques est porteuse d'informations précieuses et multiples :



La valeur de l'information recueillie est liée à l'amélioration de la qualité des analyses et l'élargissement des investigations cliniques.

L'interprétation des variations enzymatiques est liée à une connaissance parfaite des mécanismes physiopathologiques. Des progrès sont encore nécessaires dans ce domaine. Les voies offertes au développement de l'enzymologie sont variées et certaines font déjà l'objet de recherches avancées:

- l'utilisation de nouvelles enzymes (énolase du cerveau, enzymes lysosomiales, enzymes du métabolisme du collagène...);
- l'exploration de nouveaux organes (rein, poumon, cerveau) ou syndromes (hypertension artérielle, inflam-

mation);

- l'application des mesures enzymatiques à d'autres milieux dont les plus prometteurs sont les cellules du sang et le liquide amniotique (diagnostic, pronostic et monitoring des leucémies, diagnostic de la mucoviscidose, de l'immaturité pulmonaire du fœtus);
- l'emploi de la γ GT comme outil de surveillance des transplantations hépatiques et de la CK dans le suivi du traitement thrombolitique de l'infarctus;
- l'emploi des enzymes et iso enzymes comme marqueurs génétiques (suivi des transplantations, génétique des populations).

THÈME VI : LE MILIEU INTÉRIEUR

HISTOLOGIE- EMBRYOLOGIE

Le Module Histologie Embryologie du thème VI traite des aspects structuraux et fonctionnels et de la maturation des cellules sanguines. Il comporte les chapitres suivants :

CHAPITRE I : HISTOLOGIE DU SANG

CHAPITRE II : L'HEMATOPOEISE

CHAPITRE I : HISTOLOGIE DU SANG

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Définir les principes des techniques d'étude du sang en précisant leurs résultats
2. Décrire la morphologie normale du G.R. et du réticulocyte
3. Décrire l'ultrastructure de la membrane et du cytosquelette du G.R.
4. Citer les principaux composés biochimiques du contenu cytoplasmique du G.R.
5. Préciser la cinétique, le rôle et les principales propriétés du G.R.
6. Indiquer les principales variations de taille, de forme et de colorabilité du G.R.
7. Décrire la structure et l'ultrastructure des plaquettes
8. Citer les principaux constituants biochimiques du contenu des plaquettes
9. Citer les principales propriétés et le rôle des plaquettes
10. Décrire la structure et l'ultrastructure des G.B.
11. Préciser la cinétique, le rôle et les principales propriétés des G.B.
12. Définir un leucogramme en indiquant les principales variations physiologiques.

PLAN

1. GÉNÉRALITÉS

1.1. Les éléments figurés du sang

1.1.1. Les éléments anucléés

1.1.2. Les éléments nucléés

1.2. Le plasma

2. TECHNIQUE D'ÉTUDE HISTOLOGIQUE DU SANG : LE FROTTIS SANGUIN

3. LES GLOBULES ROUGES (G.R.)

3.1. Morphologie et structure

3.1.1. La membrane érythrocytaire

3.1.2. Le cytosquelette du globule rouge

3.1.3. Le cytosol du G.R.

3.2. Propriétés et rôle du G.R.

3.2.1. Mobilité

3.2.2. Déformabilité

3.2.3. Agrégation

3.2.4. Agglutination

3.2.5. Comportement vis-vis de l'osmolarité du plasma

3.3. Vieillessement et durée de vie

3.4. Paramètres biologiques du G.R.

3.4.1. L'hématocrite

3.4.2. La numération globulaire

3.5. Variations pathologiques

3.5.1. Anomalies quantitatives

3.5.2. Anomalies qualitatives

4. LES PLAQUETTES

4.1. Morphologie et structure

4.2. Cinétique

4.3. Propriétés et rôles

5. LES GLOBULES BLANCS (G.B.)

5.1. Généralités

5.2. Les granulocytes neutrophiles

5.3. Les granulocytes éosinophiles

5.4. Les granulocytes basophiles

5.5. Les monocytes

5.6. Les lymphocytes

5.7. Leucogramme normal et variations physiologiques.

1. GÉNÉRALITÉS

Le caractère liquide du sang en fait un tissu très particulier. Le tissu sanguin nécessite pour son étude des techniques très particulières.

Le sang circule dans un système clos : l'appareil cardiovasculaire. Le volume sanguin total est, chez l'homme adulte normal d'environ 5 litres. Le sang est constitué d'un plasma au sein duquel baignent des éléments figurés.

1.1. LES ÉLÉMENTS FIGURÉS DU SANG

Ils se divisent en deux catégories :

1.1.1. LES ÉLÉMENTS ANUCLÉÉS

- les G.R. (ou érythrocytes ou hématies)
- les plaquettes (ou thrombocytes)

Ces éléments sont spécifiques du sang et ne sortent des vaisseaux qu'en cas d'hémorragie. Leurs fonctions ne se développent qu'en intra-vasculaire.

1.1.2. LES ÉLÉMENTS NUCLÉÉS :

Ils sont représentés par les G.B (ou leucocytes). Les G.B. se divisent en deux groupes :

- Les leucocytes granuleux ou granulocytes ou «polynucléaires» se subdivisent en :
 - polynucléaires neutrophiles
 - polynucléaires éosinophiles
 - polynucléaires basophiles
- Les leucocytes hyalins, se subdivisent en :
 - lymphocytes
 - monocytes

Les leucocytes sont en transit dans le sang et leurs fonctions ne se développent totalement qu'en extravasculaire, dans les tissus conjonctifs.

1.2. LE PLASMA

Il se présente comme un liquide jaunâtre, légèrement visqueux, constitué à 92 % d'eau légèrement salée (9‰), de sels minéraux et de molécules organiques : glucides, protéines et lipides.

Les principales **protéines** du plasma sont l'**albumine**, protéine quantitativement la plus importante du plasma à l'état normal, qui joue un rôle essentiel de transport d'hormones et de vitamines, les **alpha globulines**, les **béta globulines** (cette fraction contient la protéine qui transporte le fer dans le sang) et les **gamma globulines** (renferme principalement les anticorps) ainsi que le **fibrinogène** (protéine de la coagulation). Les protéines du plasma comprennent, également, les hormones et certains facteurs de croissance, des éléments nutritifs, des déchets du plasma (principalement l'urée et la bilirubine), des électrolytes et des sels minéraux.

Le sang circule dans un système clos limité par des cellules endothéliales souvent jointives. Placé en dehors de ce système, le sang coagule spontanément. Lors de la coagulation, le fibrinogène plasmatique se transforme en fibrine, formant un réseau enserrant dans ses mailles les éléments figurés ; l'ensemble constituant le caillot sanguin. Ce dernier se rétracte et laisse sourdre un liquide jaunâtre : le sérum. In vivo, un caillot dans un vaisseau sanguin est un thrombus.

Sérum = Plasma - protéines impliquées dans la coagulation

2. TECHNIQUE D'ETUDE HISTOLOGIQUE DU SANG : LE FROTTIS SANGUIN

2.1. INTÉRÊT

L'étude du frottis permet :

- L'analyse de la morphologie des éléments figurés (voir plus loin).
- L'établissement de la formule sanguine : c'est à dire le pourcentage des différentes variétés de leucocytes.

2.2. RÉALISATION

- déposer une goutte de sang à l'extrémité d'une lame L1.
- étaler par capillarité cette goutte le long du bord d'une seconde lame L2 maintenue entre pouce et index penchée à 60° sur la 1ère.
- tirer par un mouvement lent et continu la lame L2 sur la lame L1. Le sang s'étale en une fine couche : c'est le frottis sanguin.
- sécher ce frottis à l'air libre en l'agitant légèrement.
- colorer au May-Grunwald et Giemsa (M.G.G.) : recouvrir de 10 à 15 gouttes de May-Grunwald (M.G.) en solution alcoolique. Le M.G. est un double colorant associant le bleu de méthylène (basique) à l'éosine (acide). Les 2 colorants se dissocient : le bleu de méthylène colorant le noyau et l'éosine colorant le cytoplasme.

2.3. OBSERVATION M.O.

Le **cytoplasme** des G.R. est coloré le plus souvent en rouge, en orange ou en rose grisâtre. Le cytoplasme des polynucléaires est coloré en rose pâle. Celui des cellules mononucléées est coloré en bleu plus ou moins pâle. Le cytoplasme des plaquettes est coloré en rouge violet.

Les **granulations** sont de couleur beige, orangé ou bleu-violet selon le type de polynucléaires. Elles sont de couleur bleu ou bleu-violet dans les cellules mononucléées.

Le **noyau**, quand il existe, est toujours violet plus ou moins dense.

2.4. RÉSULTATS

Les valeurs de la formule sanguine chez l'adulte normal sont :

- Leucocytes granuleux: 60 à 75 %
 - Polynucléaires neutrophiles: 55% à 70% ,
 - Polynucléaires éosinophiles: 1 à 3 % ,
 - Polynucléaires basophiles: 0 à 1 %
- Leucocytes hyalins: 25 à 40 %
 - Lymphocytes: 20 à 35 %
 - Monocytes: 3 à 8 %

Remarque: Chez l'enfant le pourcentage des lymphocytes est plus élevé

3. GLOBULES ROUGES (G.R)

Les G.R. sont des éléments anucléés circulants dont la fonction essentielle est le transport de l'O₂ des poumons vers les tissus et du CO₂ des tissus vers les poumons à l'aide d'un pigment respiratoire : l'hémoglobine (Hb). Cette protéine forme le constituant majeur des hématies.

3.1. MORPHOLOGIE ET STRUCTURE

• **En microscopie optique**, sur frottis coloré au M.G.G. les G.R. bien étalés ont la forme d'un disque coloré en rose-orange, avec une région centrale plus claire que la région périphérique. Cet aspect s'explique par la forme biconcave du G.R. c'est à dire un disque moins épais dans sa région centrale. Le diamètre moyen du G.R. est de 7.2 μm .

L'identification des G.R. «jeunes» ou **réticulocytes** (qui viennent de passer dans le sang à partir de la moelle osseuse) se fait par une coloration vitale au bleu de crésyl brillant. Le cytoplasme des réticulocytes comporte des ribosomes qui expliquent le réseau granulo-filamenteux observé avec la coloration au bleu de crésyl brillant.

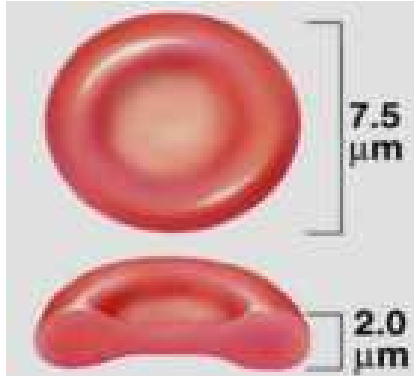


Fig 1:
globule rouge en MO

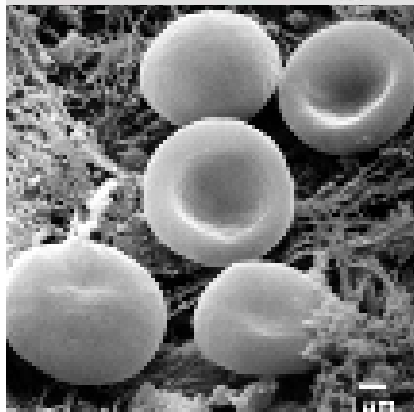


Fig 2:
globule rouge ME
à balayage

• **L'étude en ME à balayage** confirme la forme en disque biconcave du G.R. Il mesure environ 2.5 μm d'épaisseur en périphérie et 1 μm d'épaisseur au centre. Il est limité extérieurement par une membrane à surface lisse.

• **L'étude en M.E. à transmission** montre un cytosol d'aspect homogène dense aux électrons dépourvu d'organites et limité par une membrane.

Les réticulocytes représentent 1 à 2 % du nombre de GR. Le taux de réticulocytes permet de caractériser l'intensité de production de GR par la moelle osseuse. Ils présentent des RNA résiduels, des ribosomes et des récepteurs à la transferrine

3.1.1 La membrane érythrocytaire

La membrane du G.R. est l'exemple type de la structure en mosaïque fluide. La membrane est composée de lipides, de protéines et de glucides.

• **Les lipides**: représentent 40% du poids sec de la

membrane. Il s'agit principalement d'une bicouche de phospholipides, présentant une très grande mobilité latérale et un échange très lent de lipides d'une couche à l'autre par un mouvement dit de «flip-flop».

• **Les glucides** représentent 10 %, du poids sec de la membrane. Ils sont essentiellement représentés par la fraction glucidique des glycoprotéines et quelques glycolipides dont certains, situés à la face externe de la surface du G.R, portent les déterminants antigéniques des groupes sanguins.

• **Les protéines**: représentent 50% du poids sec de la membrane. L'électrophorèse en gel de polyacrylamide a permis d'isoler un grand nombre de protéines qui se répartissent en bandes. On distingue deux familles de protéines :

– les protéines transmembranaires (40% , des protéines membranaires) qui sont incluses dans la bicouche lipidiques. Les protéines transmembranaires ont des fonctions diverses :

– **Canaux ioniques** : la bande 3 (transporteur d'anions : échangeur d'ions $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$), l'aquaporine 1 (canal hydrique), le complexe Rh (transporteur de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$), ...

– **Transporteurs**: des transporteurs de glucose (GLUT1 ou protéine 4.5), l'aquaporine 3 (transporteur de glycérol)

– **Glycophorines** (type A, B, C ou D) qui portent certains antigènes des groupes sanguins et ont des sites d'ancrage sur leur domaine cytosolique.

– **Récepteurs** : Le récepteur à la transferrine permet le passage transmembranaire du fer lié à la transferrine est présent sur les réticulocytes, mais disparaît sur les GR adultes

– **Protéines à fonctions enzymatiques**: il existe plusieurs enzymes liées à la membrane :

– Les enzymes de la glycolyse anaérobie
– Les protéines-kinases
– Les ATPases

Parfois les hématies doivent transporter des molécules à l'encontre du gradient de concentration, elles développent alors un système de transport actif en utilisant des transporteurs couplés à une source d'énergie.

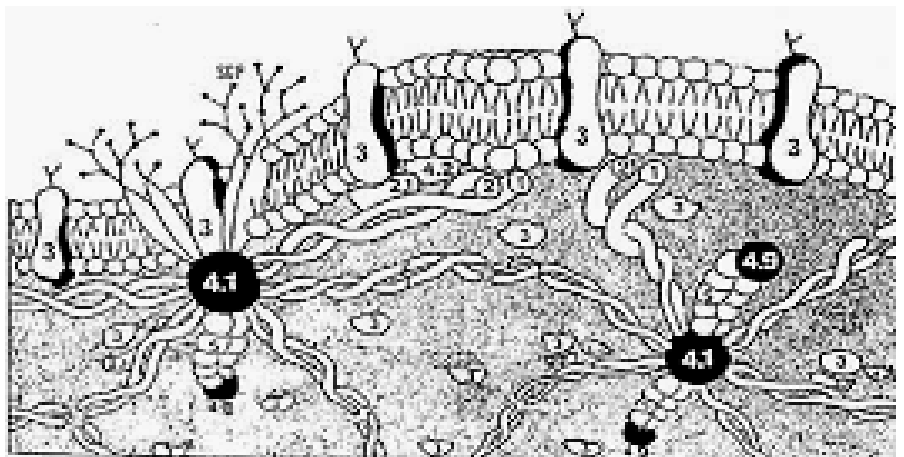


Fig 3 : membrane et cytosquelette du globule rouge

1 et 2 : chaîne alpha et chaîne bêta de spectrine ; 2.1 : ankyrine ; 3 : bande 3 ou échangeur d'anions ; 4.1 : protéine 4.1 ; 4.2 : protéine 4.2 ; 5 : actine.

→ Les protéines du cytosquelette (60% des protéines membranaires)

Sont représentées par les protéines extrinsèques qui tapissent la face interne de la bicouche lipidique, formant le cytosquelette de la membrane érythrocytaire. Ces protéines cytosquelettiques sont reliées aux protéines transmembranaires via des protéines associées. Les principales protéines extrinsèques sont la spectrine, l'ankyrine, l'actine, la protéine 4.1 et la protéine 4.2.

3.1.2. Le cytosquelette du globule rouge

Le cytosquelette des globules rouges confère à la cellule sa forme biconcave et permet une grande déformabilité notamment pour circuler dans les petits capillaires dont le diamètre ne dépasse pas 3 microns. Les principales protéines du cytosquelette érythrocytaire, qui peuvent être phosphorylées sont :

- **La spectrine**: Le cytosquelette des globules rouges est majoritairement constitué par une protéine fibreuse appelée spectrine qui forme un réseau à la face interne de la membrane. La spectrine est sous forme de tétramères (deux chaînes hétérodimères de spectrine constituées chacune d'une chaîne alpha et d'une chaîne bêta alignées côte à côte de manière antiparallèle) reliés par de l'actine F ;
- **L'actine F** s'associe à la tropomyosine et à l'adducine pour former un complexe qui ancre le réseau de spectrine à la glycophorine de la membrane plasmique via des protéines associées
- **L'ankyrine**, avec la **protéine 4.2**, accroche la chaîne β de la spectrine à la protéine transmembranaire bande 3
- **La protéine 4.1** (avec la protéine 4.9.) relie l'actine à la glycophorine C.

3.1.3. Le cytosol du G.R.

Le cytosol du G.R. contient:

- **de l'Hb, constituant principal du cytosol des G.R.** Le type d'Hb varie avec l'âge: type fœtal (avant 1 an) et type adulte (après 1 an). Après la naissance, l'hémoglobine fœtale HbF ($\alpha 2 \gamma 2$) est remplacée progressivement par l'hémoglobine adulte HbA1 ($\alpha 2 \beta 2$). Il existe en outre encore une petite fraction de HbA2 ($\alpha 2 \delta 2$), qui au lieu de deux chaînes β présente 2 chaînes δ .

La fabrication d'hémoglobine s'effectue dans la moelle osseuse hématopoïétique par les cellules érythroblastiques. Elle débute dès le stade d'érythroblaste et s'achève au stade réticulocyte

- **des enzymes cytosoliques** qui jouent un rôle essentiel dans le métabolisme du G.R. Le glucose est la principale source d'énergie pour le globule rouge (glycolyse anaérobie intra-érythrocytaire) ;
- **de l'eau et des électrolytes**. La composition électrolytique du G.R. est très différente de celle du plasma. Le G.R. est riche en K^+ et pauvre en Na^+ .
- **du glucose**

3.2. PROPRIÉTÉS ET RÔLE DU G.R.

3.2.1. Mobilité

Les G.R. n'ont pas de mobilité propre. Leur déplacement purement passif, est fonction du courant sanguin. La circulation sanguine est assurée par les contractions du muscle cardiaque

3.2.2. Déformabilité

Cette propriété permet aux G.R. de se déformer pour circuler dans des capillaires de diamètre très étroit (3 à 5 μm) et de retrouver après leur aspect normal. Cette déformabilité dépend :

- du cytosquelette (en particulier de son niveau de phosphorylation: importance des protéines kinases),
- des lipides membranaires (la déformabilité est proportionnelle à la richesse membranaire en acides gras insaturés).
- des mouvements du Ca^{++} [une élévation même modérée du Ca^{++} dans le G.R. diminue sa déformabilité].

3.2.3. Agrégation (fig. 4)

Les G.R. ont tendance à s'accoler par leurs faces formant ainsi des «rouleaux». Ce phénomène est réversible. Les hématies s'empilent l'une sur l'autre par modification de leur potentiel membranaire (qui normalement les repousse) : en général une ou des protéines adsorbées modifient la charge électrique de surface. La rouleau-formation s'observe souvent en cas d'hyperglobulinémie (souvent la fraction gamma). Elle va généralement de pair avec une forte augmentation de la VS. De cette propriété découle un examen, la vitesse de sédimentation VS.

On place dans un tube long, fin, gradué en mm, une quantité de sang rendu préalablement incoagulable. Les G.R. ont tendance à sédimenter par agrégation au fond du tube. On apprécie au bout d'une heure puis de deux heures la hauteur du plasma surnageant.

Les valeurs normales de la VS sont de 2 à 5 mm à la 1ère heure et 5 à 10 mm à la 2ème heure.

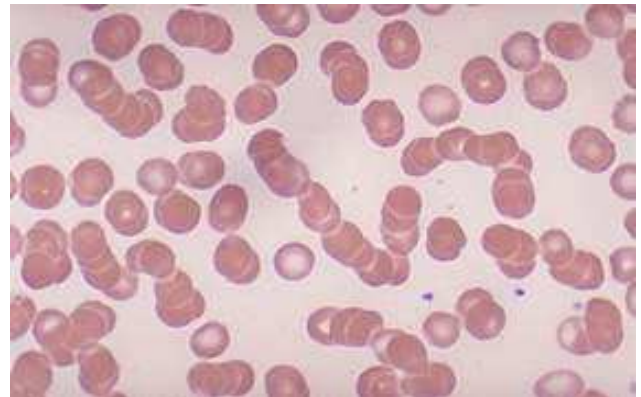


Fig 4 : agrégation des globules rouges

Remarque: Dans les cas pathologiques la sédimentation est plus rapide et la hauteur du cylindre de plasma est plus grande. Une VS supérieure à 100 mm à la 1ère heure doit faire rechercher une maladie grave infectieuse ou tumorale.

3.2.4. Agglutination

Dans certaines conditions, les G.R. peuvent s'accoler les uns aux autres mais de façon irréversible. Cette agglutination est due à la formation de complexes antigène-anticorps ; phénomène dont l'observation a été à la base de la découverte des groupes sanguins (G.S.) et de la technique de la détermination des G.S.

Groupes sanguins ABO

Par convention, le groupe sanguin ABO est défini par les

Ag présent sur les G.R. Les Ac présents dans le sérum aux Ag absents à la surface des GR. Par exemple, un individu exprimant l'Ag B sur ces cellules, donc sur ces hématies, sera de groupe sanguin B et aura dans son sérum des Ac anti A. Les individus n'exprimant ni A ni B sont du groupe O.

3.2.5. Résistance globulaire à l'hémolyse

Placés dans un milieu hypotonique au plasma, les G.R. gonflent, deviennent sphériques et laissent diffuser leur Hb. Ce phénomène est appelé **hémolyse**. On peut apprécier la résistance des G.R. à l'hémolyse en les plaçant dans des solutions de tonicité décroissante. Cet examen constitue le test de résistance globulaire à l'hémolyse (TRG). In vitro, l'hémolyse normale commence à 4,6 g/l de NaCl. Elle est complète à 3,4 g/l.

3.3. VIEILLISSEMENT ET DURÉE DE VIE

Le G.R. est une «cellule anucléée», dépourvue d'organites. Elle ne peut donc pas assurer le renouvellement de ses enzymes.

La diminution des enzymes aboutit à un vieillissement qui se traduit surtout par des altérations membranaires. L'ensemble des modifications diminue la déformabilité et facilite l'hémolyse. Ces modifications permettent la reconnaissance puis la phagocytose du G.R. par les macrophages (principalement ceux de la moelle osseuse et de la rate).

La durée de vie normale d'un G.R. est de 120 jours. Le renouvellement des G.R. est assuré par la moelle osseuse (cf. Hématopoïèse).

3.4 PARAMÈTRES BIOLOGIQUES DU G.R.

Les trois paramètres quantitatifs usuels concernant les G.R. sont :

- l'hématocrite
- la numération des G.R.
- le taux d'Hb en g /100 ml de sang total

3.4.1. L'hématocrite

L'hématocrite, exprimée en pourcentage est le volume occupé par les érythrocytes par rapport au volume de sang total. L'hématocrite est donc représenté par le rapport entre la colonne globulaire et la quantité de sang prélevé. La colonne globulaire est mesurée après centrifugation dans un tube gradué, d'une quantité de sang rendue incoagulable. La valeur normale de l'hématocrite est de 40 à 50% chez l'homme adulte, de 35 à 45% chez la femme. Chez le nouveau-né, il existe une augmentation des G.R. (hématocrite de 45 à 60%).

3.4.2. La numération globulaire

Définition

La numération est l'appréciation du nombre des éléments figurés par unité de volume de sang exprimée classiquement en mm³. Cette numération est réalisée à l'aide d'appareils automatisés.

Résultats

Les valeurs normales de la numération sanguine chez l'adulte de sexe masculin sont :

- * G.R. 4 500 000 à 5 000 000 / mm³
- * G.B. 6 000 à 8 000 / mm³
- * Plaquettes 200 000 à 400 000 / mm³

Remarque: Chez la femme en activité génitale, le nombre de G.R. est moindre du fait des menstruations (4 000 000 à 4 500 000)

- **Le taux d'Hb :** L'Hb sanguine est normalement de 13 à 18 g/100 ml chez l'homme et de 12 à 16 g/100 ml chez la femme.

A partir de ces 3 paramètres, on peut déduire d'autres constantes biologiques qui se rapportent au G.R. :

- **le volume globulaire moyen (VGM):** volume moyen d'un G.R. exprimé en µm³ (80 à 95 µm³)

- **la teneur corpusculaire moyenne en Hb (TCMH):** quantité d'Hb par G.R. (environ 30 pg).

- **la concentration corpusculaire moyenne en Hb (CCMH):** quantité d'Hb par unité de volume du G.R. (32 g/dl)

* **Le taux des réticulocytes** dans le sang est chez l'adulte de 1 à 2% soit environ 50 000 à 100 000 réticulocytes par mm³ de sang.

3.5. VARIATIONS PATHOLOGIQUES

3.5.1. Anomalies quantitatives

- Polyglobulie: augmentation du nombre des G.R.
- Anémies : diminution du nombre des G.R. mais surtout diminution de la concentration en Hb.

3.5.2. Anomalies qualitatives

Les anomalies qualitatives des G.R. peuvent porter sur: Anomalies de taille: Normalement, la taille des G.R. est constante. On distingue ainsi:

- **la macrocytose** où les G.R. ont un diamètre > 8 µm et un VGM > 95 µm³)
- **la microcytose** où les G.R. ont un diamètre < 6 µm et un VGM < 80 µm³)
- **l'anisocytose** est définie par la grande variabilité des diamètres des GR. sur un même frottis.

Anomalies de forme

- **Les sphérocytes:** La sphérocytose héréditaire caractérisée par la déformation sphérique des G.R. La mutation du gène codant pour l'ankyrine, est la plus fréquente

- **l'elliptocytose:** L'elliptocytose héréditaire est caractérisée par la déformation en ellipse des G.R.

- **Le stomatocyte:** Les stomatocytes sont des G.R. avec un centre clair, non plus circulaire, mais limité à une barre en forme de bouche. La stomatocytose héréditaire est une maladie de la perméabilité membranaire aux cations Na⁺ et K⁺.

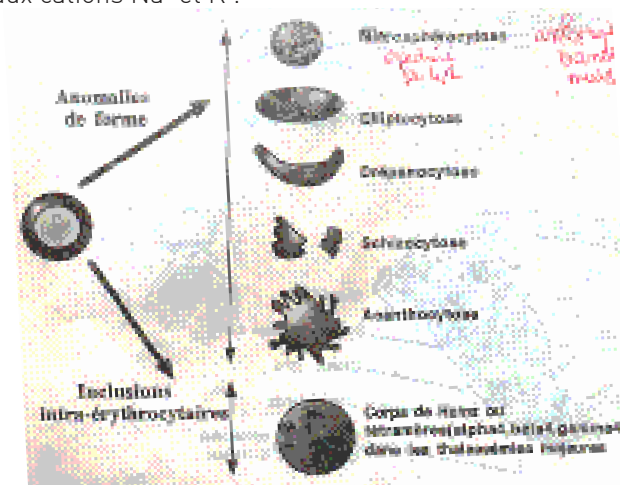


Fig. 5 : Quelques anomalies du GR

- les **schizocytes**: hématies fragmentées par un traumatisme intra-vasculaire
- **Drépanocytose** : hématies falciformes dues à la cristallisation de l'Hb S
- **hématies crénelées ou acanthocytes**
- la **poikilocytose** correspond à une hétérogénéité des formes sur un même frottis.

Anomalies de coloration

- * L'**Hypochromie** se traduit par un aspect plus pâle des G.R. et correspond à un manque en Hb.
- * La **polychromatophilie** se traduit par un cytoplasme partiellement basophile, correspondant à la persistance d'ARN.
- * Le cytoplasme des G.R. peut anormalement comporter des **inclusions**:

Les corps de Heinz: précipitation d'Hb anormale dénaturée, en périphérie, sous forme d'un gros grain arrondi ;
Les corps de Jolly sont des petits corpuscules parfaitement sphériques de 1µm de diamètre, généralement un seul par hématie, correspondant à un fragment d'ADN (chromosome perdu par le noyau au cours d'une mitose). Ce type d'hématies est normalement éliminé par la rate quelques heures après son passage sanguin. Les corps de Jolly s'observent dans un grand nombre d'hématies chez les splénectomisés

4. LES PLAQUETTES

Les plaquettes ou thrombocytes sont des éléments cellulaires anucléés, mesurant environ 2 à 5 µm de diamètre, jouant un rôle fondamental dans l'homéostasie. L'Hémostase est l'ensemble des phénomènes physiologiques qui concourent à la prévention et à l'arrêt des saignements. Elle participe à la réparation de la brèche vasculaire et assure le maintien de l'intégrité des vaisseaux.

4. 1. MORPHOLOGIE ET STRUCTURE

4.1.1. EN MICROSCOPIE OPTIQUE (FIG. 6)

Sur un frottis sanguin coloré au M.G.G., on peut reconnaître dans une plaquette 2 zones distinctes :

- Une zone centrale appelée **chromomère** ou **granulomère** qui présente des granulations denses colorées en rouge – violet et quelques organites.
- Une zone périphérique appelée **hyalomère** en raison de son aspect très pâle, homogène, dépourvu de granulations et ne contenant que les éléments du cytosquelette.

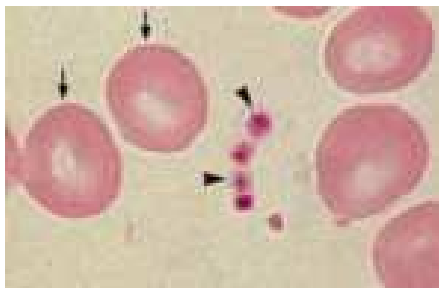


Fig. 6 :
cellules sanguines
 1 : hématies ;
 2 : plaquette

4.1.2. EN MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE (Fig. 7)

Le microscope électronique à balayage montre que les plaquettes « au repos » ont une forme discoïde tandis que les plaquettes activées au cours de l'agrégation deviennent rondes et émettent de longs prolongements cytoplasmiques.

- Le **cytoplasme plaquettaire** comporte en outre quelques mitochondries de petite taille, de rares ribosomes, quelques saccules golgiens, du glycogène, des inclusions lipidiques dans la zone granulaire.
- La **membrane plasmique plaquettaire** est revêtue d'un épais cell-coat exposant des molécules d'adhérence nécessaires à l'adhésion plaquettaire. Elle s'invagine en de nombreux points réalisant des petits orifices qui communiquent avec un **réseau de canaux ouvert** à la surface appelé **système canaliculaire ouvert**. De nombreuses protéines plasmatiques impliquées dans la coagulation sont adsorbées à la surface de la membrane plaquettaire (fibrinogène, facteurs V, VIII et X).

La bicouche de phospholipides présente une asymétrie de distribution des lipides membranaires, telle que les charges négatives sont confinées dans le feuillet interne. La composition de la membrane plaquettaire en glycoprotéines dépend du stade d'activation des plaquettes. Les deux complexes glycoprotéiques majeurs sont le complexe Ib-IX et IIb-IIIa. Dans la membrane sont insérés des récepteurs pour un certain nombre de molécules

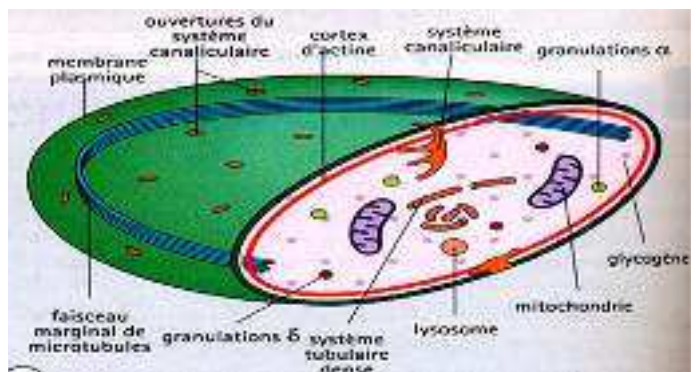


Fig 7a :

Représentation schématique d'une plaquette sanguine en ME

- Le **système canaliculaire ouvert** permet d'augmenter la surface cellulaire et permet d'excréter le contenu des granulations α .
- Le **système tubulaire dense**: Les plaquettes comportent un système tubulaire dense correspondant au réticulum endoplasmique lisse. Ce système possède une activité peroxydasique spécifique. C'est le lieu de séquestration du calcium et le lieu de synthèse des prostaglandines.

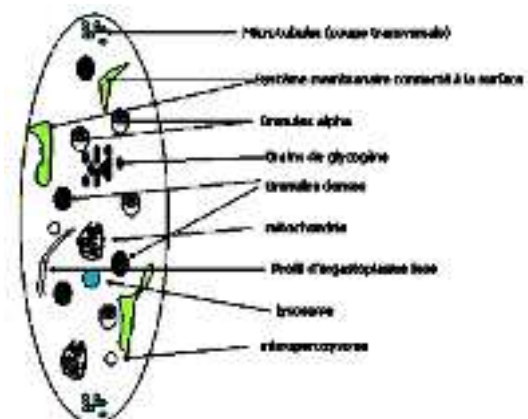


Fig 7b : Schéma d'une plaquette sanguine

• Les granulations

Le cytoplasme comporte 4 types de granulations. Ce sont les organites les plus nombreux dans les plaquettes.

- Les **granules α** sont les plus nombreux, de taille et de forme variées. Ils présentent une densité moyenne aux électrons avec souvent une zone centrale plus dense. Ils renferment des protéines spécifiques tel que le facteur plaquettaire 4 et des facteurs de coagulation tel le fibrinogène, l'antigène lié au facteur VIII ou facteur von Willebrand, des protéines adhésives telle la fibronectine, des facteurs de croissance comme le PDGF. Les granules α stockent des protéines plasmatiques incorporées: l'albumine et des immunoglobulines.
- Les **Granulations denses ou granules δ** présentent une haute densité aux électrons due à une teneur élevée en calcium. L'ADP en est l'un des principaux constituants. Elles contiennent de la sérotonine non pas synthétisée par les plaquettes mais captée dans le sérum.
- Les **granules λ** qui correspondent à des lysosomes et renferment des hydrolases acides. Leur rôle est plus important dans l'initiation de la lyse des thrombi que dans l'hémostase
- Des **peroxysomes** peu nombreux et ont une activité peroxydasique élevée due à une catalase.

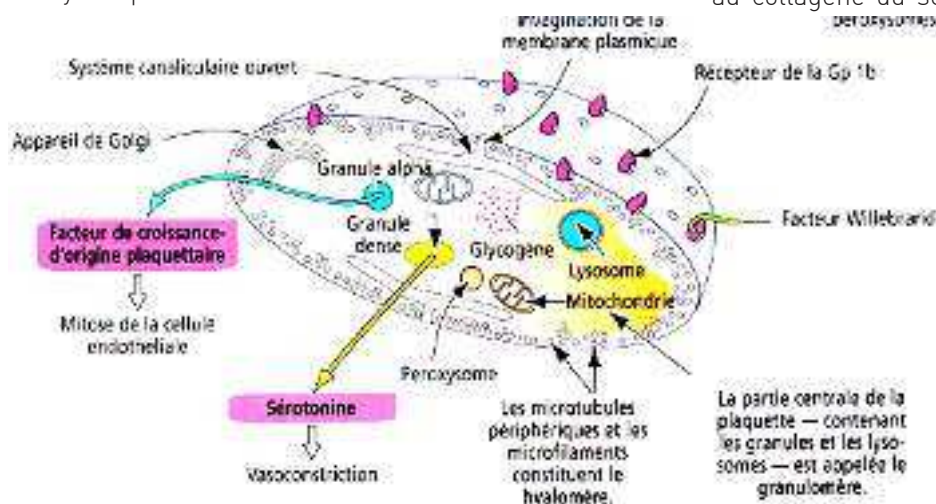


Fig 7 bis : Représentation schématique d'une plaquette sanguine en ME

Cytosquelette des plaquettes

Dans la région marginale, sous la membrane cytoplasmique, on note la présence de faisceaux de 5 à 10 microtubules qui jouent un rôle dans le maintien de la forme en disque biconvexe des plaquettes. Ils se dépolymérisent dès le début de l'agrégation plaquettaire

- Le cytoplasme contient de nombreux microfilaments d'actine, impliqués dans la rétraction du caillot et l'expulsion du contenu des granulations plaquettaires. L'actine était auparavant dénommée thrombosthénine. Ce réseau de micro filaments d'actine relié à la membrane externe intervient dans la contraction, la dégranulation, la rétraction du caillot et l'émission de pseudopodes. Les filaments d'actine sont reliés à la membrane plaquettaire par le complexe GPIb-IX.
- Réorganisation des filaments d'actine, qui s'associent à la myosine pour générer l'activité contractile nécessaire à la sécrétion.

4.2. CINÉTIQUE

La durée de vie des plaquettes est estimée à 10 +/- 2 jours. La Production des plaquettes se fait au niveau de la moelle osseuse (cf thrombopoïèse). La destruction des plaquettes se fait normalement dans le foie et dans la rate.

4.3. PROPRIÉTÉS ET RÔLES

Les plaquettes interviennent à plusieurs niveaux de l'hémostase : l'hémostase est l'ensemble des phénomènes physiologiques qui interviennent pour juguler le saignement consécutif à une lésion vasculaire. Les différentes réactions peuvent être scindées en trois étapes successives :

- L'hémostase primaire
- La coagulation avec formation de caillot
- La fibrinolyse

L'HÉMOSTASE PRIMAIRE: C'est la succession d'événements qui aboutissent au colmatage de toute brèche vasculaire par formation du clou plaquettaire.

ADHÉSION DES PLAQUETTES

au collagène du sous endothélium d'un vaisseau sanguin lésé grâce aux facteurs glycoprotéiques (la GP1b = récepteur du facteur Von Willebrand) et au facteur de Von Willebrand (sécrété par les cellules endothéliales au début et par les granules α des plaquettes dans un second temps). Les plaquettes peuvent également se fixer directement au collagène du sous endothélium par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques.

Une première couche monocellulaire de plaquettes se constitue ainsi. Les plaquettes adhérentes s'activent et recrutent d'autres plaquettes circulantes. L'adhésion des plaquettes au sous-endothélium déclenche des signaux intracellulaires qui aboutissent à **l'activation des plaquettes**.

Conséquences de l'activation plaquettaire : Modifications morphologiques des plaquettes



Fig 8 : plaquettes activées

Les plaquettes deviennent sphériques et émettent des pseudopodes. Les granules intraplaquettaires se regroupent

au centre de la cellule. Les charges négatives de la membrane migreront vers le feuillet externe ; il y a fusion de la membrane des granules avec celle du système canaliculaire ouvert. Les plaquettes adhérentes s'activent et recrutent d'autres plaquettes circulantes.

2- Sécrétion des constituants des granules

Elle est initiée par la fusion des membranes des granules denses avec le système canaliculaire ouvert, permettant la **sécrétion rapide** du contenu des granules : les granules denses libèrent des substances actives comme la sérotonine, qui favorise la vasoconstriction et l'ADP, qui induit l'agrégation plaquettaire.

Les granules α libèrent des protéines qui vont participer à l'agrégation des plaquettes (ex : fibrinogène) ou à l'activation de la coagulation (ex : facteur V). Les charges négatives de la membrane migreront vers le feuillet externe ; La plaquette activée (**Fig 8**) est capable de synthétiser des prostaglandines à partir des phospholipides membranaires qui seront transformés en thromboxane, proaggrégant plaquettaire. La sécrétion d'ADP et la production de thromboxane ont pour conséquences le recrutement de nouvelles plaquettes et l'amplification du processus d'activation plaquettaire.

3- L'agrégation plaquettaire

Le thromboxane A2 provoque l'augmentation du taux de Ca^{++} intra cytosolique. Lorsque les plaquettes sont activées, une glycoprotéine de la membrane plaquettaire, la GPIIb/IIIa, complexe calcium-dépendant change de conformation ce qui lui permet de fixer le fibrinogène en présence de calcium.

L'agrégation plaquettaire se fait ainsi grâce au fibrinogène qui établit des ponts entre les plaquettes, créant un premier thrombus fragile (agrégation réversible). Les plaquettes activées vont livrer le contenu des granules dont l'ADP pour attirer d'autres plaquettes au niveau de la lésion et s'agréger entre elles réalisant un clou plaquettaire qui tend à obliterer la brèche.

Grâce à la libération des enzymes et du contenu granulaire des plaquettes, le caillot se solidifie (agrégation irréversible), constituant le thrombus blanc ou **clou plaquettaire**.

Le FW joue un rôle déterminant dans l'adhésion des plaquettes à la brèche vasculaire et le fibrinogène dans l'agrégation des plaquettes entre elles.

4- le clou plaquettaire

Il colmate la brèche vasculaire et fait cesser l'hémorragie. Le clou plaquettaire est éphémère car les plaquettes se désagrègent après quelques heures, d'où toute l'importance de la coagulation.

LA COAGULATION OU FORMATION DU CAILLOT SANGUIN

La coagulation est une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de fibrine ; l'enzyme permettant de transformer le fibrinogène en fibrine est la thrombine. Le processus de formation de la thrombine est complexe avec une série d'activations enzymatiques qui surviennent à la surface des phospholipides membranaires des plaquettes.

Lorsque les plaquettes sont activées, les phospholipides anioniques membranaires (notamment la phosphatidyl sérine) sont externalisés et servent de surface de catalyse aux réactions de coagulation. L'activation des facteurs plasmatiques se déroule en partie au niveau de la surface des plaquettes activées. Les plaquettes jouent un rôle fondamental dans la formation du caillot sanguin, par l'intermédiaire des remaniements membranaires par flip-flop (cette propriété coagulante ainsi démasquée correspond à ce qui était anciennement appelé facteur 3

plaquettaire)

L'étape finale de la coagulation est la transformation du fibrinogène en fibrine, sous l'action de la thrombine et en présence de calcium (la durée est de 3 secondes). Le réseau de fibrine se constitue autour des agrégats plaquettaires. La coagulation consolide le premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant les globules rouges (thrombus rouge)

LA FIBRINOLYSE

Après la coagulation du sang, il y a 2 phénomènes qui constituent la post-coagulation :

- **Rétraction du caillot sanguin** : Une fois le caillot formé, la contraction des plaquettes emprisonnées entraîne l'excrétion plaquettaire (Présence d'ATP, de Ca^{++} et de Mg^{++} nécessaire), provoquant alors une rétraction du réseau de fibrine ; **L'excrétion plaquettaire** entraîne alors une rétraction du caillot de fibrine et laisse exsuder du sérum. La rétraction du caillot joint les bords du vaisseau lésé. Sa durée est de quelques heures et elle ne survient que si les plaquettes sont qualitativement et quantitativement normales.

- **La fibrinolyse** est le troisième temps de l'hémostase : c'est le processus qui entraîne la dissolution du caillot lorsque la cicatrisation est achevée. Cette étape s'effectue grâce aux enzymes hydrolytiques des granules lamda (λ). La dissolution du caillot intervient au bout de 72 heures et est due à l'action d'un enzyme plasmatique qui dissout la fibrine et libère les éléments figurés, c'est la fibrinolyse.

5. LES GLOBULES BLANCS

5.1. GÉNÉRALITÉS

Les G.B. ou leucocytes représentent une famille hétérogène à la fois sur les plans morphologiques et fonctionnels. On distingue :

- Les granulocytes ou polynucléaires
- Les leucocytes hyalins ou cellules mononucléées.

La présence de granulations spécifiques secondaires dans le cytoplasme et l'aspect polylobé du noyau représentent les critères de définition des granulocytes ou polynucléaires.

Il existe 3 types de granulations spécifiques auxquels correspondent 3 variétés de granulocytes :

- granulations neutrophiles : granulocytes ou **polynucléaires neutrophiles (PNN)**
- granulations éosinophiles : granulocytes ou **polynucléaires éosinophiles (PNE)**
- granulocytes basophiles : granulocytes ou **polynucléaires basophiles (PNB)**.

Les granulocytes sont des cellules matures qui ont perdu la capacité de se diviser.

L'absence de granulations spécifiques et le noyau non polylobé («mononucléé») caractérisent le groupe des leucocytes hyalins. Les leucocytes hyalins peuvent présenter des granulations cytoplasmiques non spécifiques primaires azurophiles. Ils se subdivisent en 2 variétés distinctes :

- Les **lymphocytes** qui représentent une famille elle-même hétérogène.
- Les **monocytes** qui font partie du système des phagocytes mononucléés.

Les précurseurs des leucocytes sont formés dans la moelle osseuse. Les cellules matures quittent la moelle en traversant les parois capillaires, passent dans la circulation sanguine puis migrent vers les tissus où elles exercent leurs différentes fonctions.

ORIGINE DES LEUCOCYTES

Les leucocytes sont fabriqués dans la **moelle osseuse** à partir des cellules souches hématopoïétiques qui se différencient en précurseurs :

- Myéloïdes : monopoïèse (polynucléaires et les monocytes)
- Lymphoïdes : lymphopoïèse pour les lymphocytes.

5.2. LES GRANULOCYTES NEUTROPHILES

5.2.1. ASPECT

a) en microscopie optique

Ce sont des cellules de 10 à 14 µm de diamètre pourvues d'un seul noyau segmenté qui présente 2 à 5 lobes reliés par des ponts chromatiniens assez étroits. La chromatine est en mottes.

Le noyau occupe environ le 1/3 de la cellule. Le cytoplasme est coloré en rose clair et renferme de nombreuses granulations neutrophiles de petite taille à peine visibles, de coloration beige et régulièrement réparties.

D'autres granulations, nettement plus rares, un peu plus volumineuses azurophiles peuvent être mises en évidence dans le cytoplasme.



Fig 9:
Granulocyte
ou polynucléaire
neutrophile MO

Le nombre de lobes nucléaires augmente avec l'âge des PNN : l'étude quantitative du degré de lobation ou **formule d'Arneth** montre que la majorité des PNN a 3 à 5 lobes et que les noyaux à 6 lobes sont rares. Chez les sujets de sexe féminin le corpuscule de Barr (qui correspond au chromosome X inactif) est visible dans 3 à 12 % des PNN.

b) En microscopie électronique (Fig. 10 et 11)

La surface cellulaire est assez régulière. Le cytoplasme renferme :

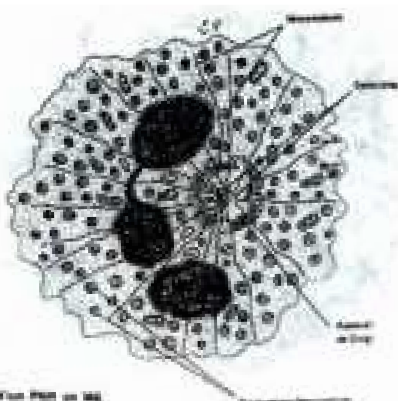


Fig. 10 :
cytosquelette du
Granulocyte
neutrophile
ME

Les granulations des PNN

- des granulations azurophiles ou primaires, volumineuses denses aux électrons
- des granulations spécifiques ou secondaires ou neutrophiles, petites, à contenu modérément dense aux électrons
- des granulations tertiaires

Le cytoplasme des PNN est pauvre en REG et en mitochondries. L'appareil de Golgi est localisé préférentiellement dans la région centrale autour du centrosome. Le cytoplasme est assez riche en particules de glycogène ce qui témoigne de son métabolisme anaérobie

Le cytosquelette : Il existe en périphérie de la cellule une bande riche en filaments d'actine. A partir du centrosome rayonnent des microtubules. Le cytoplasme est assez riche en microfilaments et en particules de glycogène ce qui témoigne de son métabolisme anaérobie ; L'activation des PNN provoque une réorientation du cytosquelette et des organites au sein de la cellule

La membrane des PNN porte des récepteurs pour la fraction Fc des Ig G pour la fraction C3b du complément et C5a pour les fragments C3a et C5a du complément. Elle porte également la sélectine L et des intégrines qui permettent aux PNN d'exercer leur activité antibactérienne et de homing.

c) Cytochimie, cytoenzymologie et immunocytochimie

Le cytoplasme du PNN est P.A.S. positif en raison de sa richesse en glycogène.

Le polynucléaire neutrophile (PNN) possède 3 types de granules cytoplasmiques (Fig 9B)

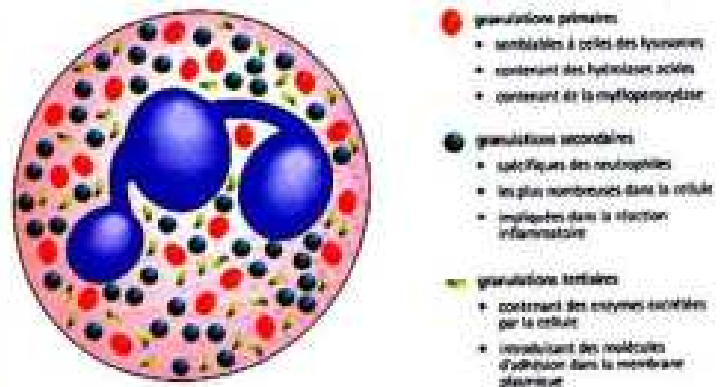


Fig 11: Granulations des PNN

Les granulations azurophiles ou granulations primaires

: Elles correspondent à de grands lysosomes. Les granulations azurophiles sont peroxydase positives. Les granulations non spécifiques renferment outre les hydrolases acides lysosomales habituelles, de très nombreuses enzymes à activité anti bactéricide telle la myéloperoxydase (marqueur cytochimique des PNN) qui lui permet de détruire les bactéries phagocytées, des protéines basiques ou défensines et du lysozyme (enzyme détruisant les parois bactériennes), de la phosphatase acide.

La dégranulation est lente : 50% du contenu de ces granules est déversé dans le phagosome.

Les granulations spécifiques ou granulations secondaires sont peroxydase négatives. Ces granulations contiennent et sécrètent des substances impliquées

dans la réaction inflammatoire aiguë (lysosyme, phosphatases alcalines et lactoferrine). Les phosphatases alcalines représentent un marqueur cytoenzymologique des précurseurs des PNN. La dégranulation est rapide : ces substances sont déversées à 90% dans le milieu extra cellulaire au cours de la réponse inflammatoire.

Les granulations tertiaires renferment des enzymes qui sont sécrétées dans le milieu extracellulaire telle la gélatinase ou collagénase qui cassent les molécules de collagène endommagé.

5.2.2. RÉPARTITION ET CINÉTIQUE DES PNN

Dans le secteur vasculaire, les PNN sont répartis en 2 compartiments:

- un **compartiment circulant** dans lequel ils ne séjournent que très peu de temps, leur passage dans les tissus étant continu
- un **compartiment marginal**; celui-ci comprend les polynucléaires «accolés» aux parois de petits vaisseaux et remis en circulation en fonction des besoins,

Ces 2 compartiments sont en échange permanent. La proportion des polynucléaires qui meurent dans le sang est très faible ; la majorité passe du compartiment vasculaire marginal aux tissus.

Les PNN ont une durée de vie assez courte, de l'ordre de 3 à 4 jours. Un PNN reste en moyenne une dizaine d'heures dans le sang; le retour du sang vers la moelle osseuse ou des tissus vers le sang est impossible.

5.2.3-PROPRIÉTÉS ET FONCTIONS DES PNN

La fonction principale des PNN est la phagocytose. Les PNN jouent un rôle essentiel dans les défenses de l'organisme contre les agents infectieux et principalement les bactéries qui ont franchi les barrières cutanéomuqueuses, et ceci selon le processus du homing. L'action des polynucléaires contre les agents infectieux se fait en plusieurs étapes:

1. Extravasation des polynucléaires neutrophiles

Les PNN quittent le vaisseau sanguin et vont se diriger vers les lieux de l'inflammation :

- 1- **L'adhésion et rolling**: c'est la 1^{ère} étape du **homing** : établissement de liaisons réversibles entre les sélectines des cellules endothéliales et la surface du leucocyte. Le rôle des sélectines est de permettre une adhésion lâche entre les PNN et les cellules endothéliales d'un épithélium activé.
Rolling: les leucocytes roulent à la surface des cellules endothéliales dans les veinules où le flux du sang est lent. Cette étape fait appel aux propriétés d'adhésivité. Pendant le rolling, le neutrophile est exposé à des facteurs solubles qui l'activent : les chimioattractants.
- 2- **l'adhérence**: c'est la 2^{ème} étape. Une des propriétés du neutrophile activé est l'adhérence. Il s'agit d'une interaction solide entre le neutrophile et la cellule endothéliale qui fait intervenir des molécules d'adhésion cellulaire. L'adhérence à la cellule endothéliale des vaisseaux est nécessaire à la migration des neutrophiles
- 3- **La diapédèse ou migration transendothéliale**: la migration se fait entre deux cellules endothéliales dans la région d'inflammation, en réponse à des cytokines sécrétées sur le lieu de l'infection, notamment l'interleukine 8 (IL-8). Cette étape fait appel aux propriétés de déformabilité du PNN par émission de pseudopodes et passage à travers la paroi des capillaires ou des veinules.

2. La phagocytose

Le PNN se déplace à la rencontre d'une particule étrangère pour la capter et la détruire. On distingue classiquement **trois phases dans la phagocytose** :

1. **chimiotactisme**: déplacement des granulocytes neutrophiles qui se rendent sur les lieux de l'infection (lieu d'action) sous l'influence de substances chimiotactiques tels le complément et ses fractions, les

complexes antigène-anticorps, certains constituants bactériens. Il existe des substances inhibitrices du chimiotactisme. Cette étape fait appel aux propriétés de mobilité des PNN qui découlent de l'assemblage et du désassemblage des filaments d'actine cellulaire et aux propriétés de chimiotactisme des PNN.

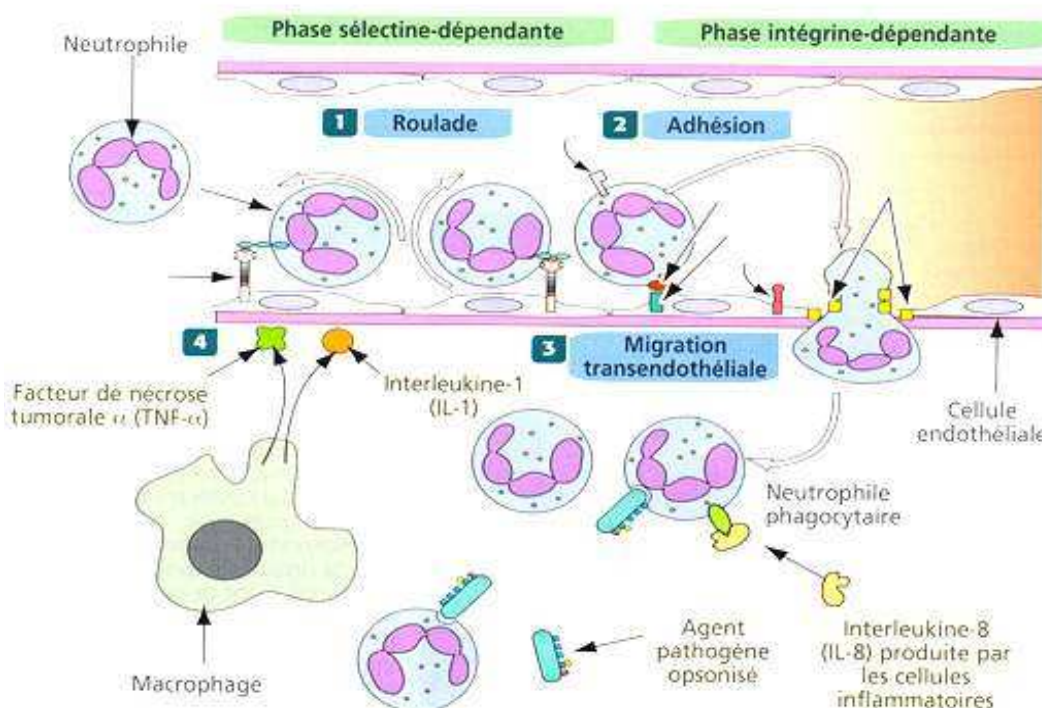


Fig. 12 : Homing

2. phagocytose: reconnaissance et adhérence puis englobement de la cible

Les PNN phagocytent des particules inertes, des cellules altérées ou étrangères, des substances intrinsèques pathologiques. La particule étrangère (bactérie) est recouverte par les opsonines, qui facilitent la phagocytose. La cellule adhère à la particule à phagocyter ;

La **reconnaissance** est favorisée par ces opsonines : l'**adhésion** des principales opsonines aux récepteurs membranaires du PNN est un phénomène passif. Les PNN ne phagocytent pas des éléments aux quels ils ne sont pas liés.

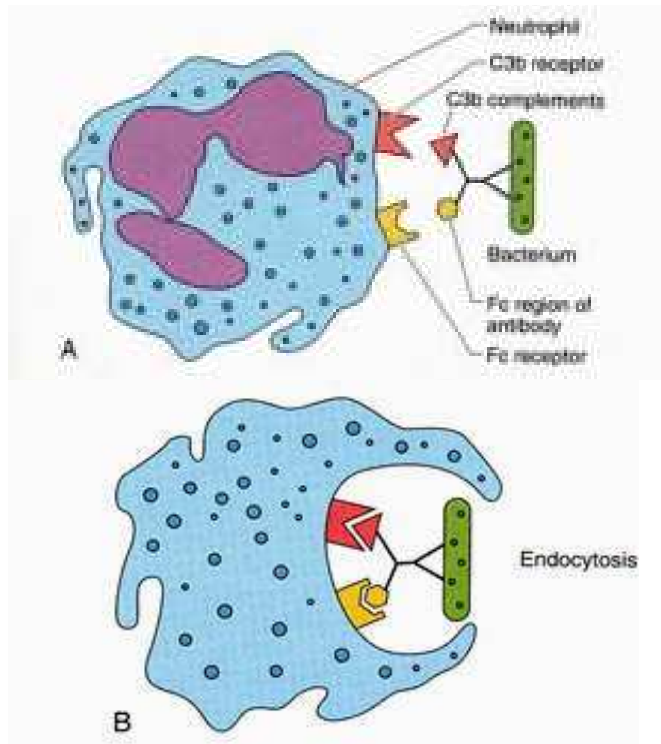


Fig 13 A : phagocytose reconnaissance et englobement de la cible

L'englobement: des pseudopodes entourent la particule à phagocyter. Leur fusion est responsable de l'apparition d'une vacuole de phagocytose ou phagosome. Il se forme ainsi un phagosome dans lequel se déversent les enzymes lysosomiales (phagolysosomes) qui digèrent la substance étrangère.

L'ingestion est un processus actif qui nécessite de l'énergie fournie par la glycolyse anaérobie.

1. Phase de bactéricidie

Deux mécanismes bactéricides pouvaient être distingués, l'un dépendant de l'oxygène et l'autre indépendant de lui.

• **Systèmes indépendants de O_2** : Lors de la formation du phagosome, la fusion du phagosome et de lysosomes (contenant des enzymes actifs à pH acide) est à l'origine des phagolysosomes. Les granulations primaires et secondaires y déversent dans le phagosome de nombreuses substances lytiques et toxiques telles que les défensines, le lysozyme, la lactoferrine, des protéases, des hydrolases acides et des protéines cationiques qui vont contribuer à la destruction de l'agent pathogène. C'est la phase bactéricide de l'action des PNN.

• **Systèmes O_2 dépendants** : 2 étapes : Ce système est basé sur la stimulation du métabolisme oxydatif qui génère des dérivés toxiques de l'oxygène provoqués par des complexes enzymatiques. La destruction des bactéries dans le polynucléaire neutrophile est en partie due à la synthèse de H_2O_2 , dont la production s'accompagne d'une augmentation marquée de la consommation en oxygène par la cellule.

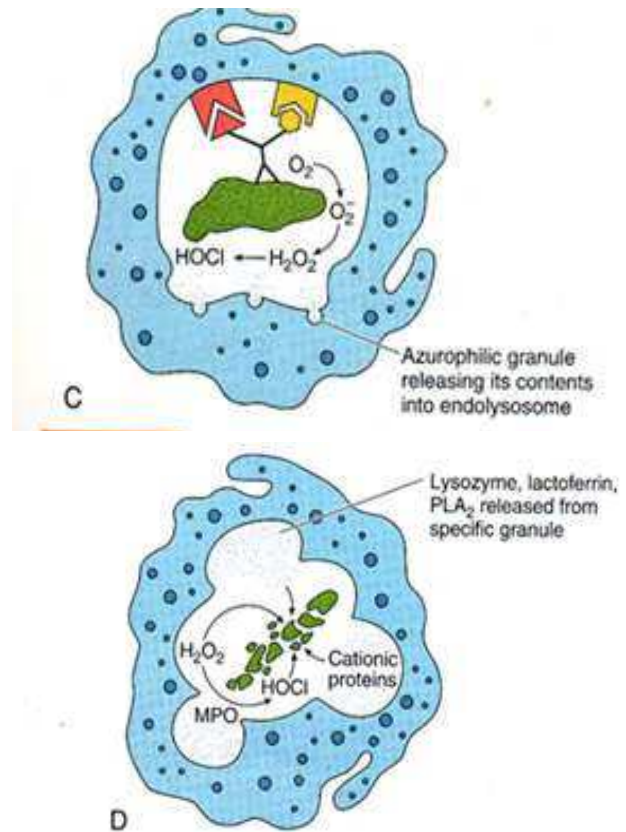


Fig 13B : phagocytose :Système O_2 dépendant

La dégradation produit une quantité massive de formes réactives de l'oxygène telles que l'anion superoxyde (O_2^-) et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 utilisé par la myéloperoxydase avec production de substances toxiques tel l'acide hypochloreux (HOCl), puissante cytotoxine. A la suite de cette phagocytose et de la libération des enzymes, le PNN peut s'altérer et devenir alors un pyocyte principal constituant du pus.

Durée de vie : Les PNN passent **6 à 7 heures** dans le sang et peuvent attendre **4 jours** dans le tissu conjonctif.

5.3 LES GRANULOCYTES ÉOSINOPHILES

5.3.1. ASPECT

a) en microscopie optique

Les PNE sont des cellules arrondies qui mesurent 12 à 15 microns de diamètre. Le noyau est bilobé il occupe environ 1/3 de la cellule. Sa chromatine est similaire à celle du PNN. La chromatine est constituée de mottes denses.

Le cytoplasme est caractéristique : il contient de nombreuses granulations spécifiques réfringentes, éosinophiles de couleur orange, de taille nettement plus grande que celle des granulations spécifiques des PNN.

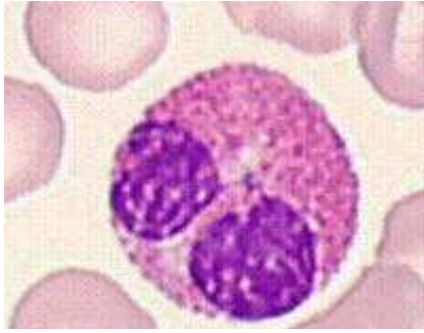


Fig 14 A : PNE au MO

b) en microscopie électronique

Les granulations spécifiques sont limitées par une membrane ; elles ont une forme ronde ou ovale et présentent dans la région centrale un aspect cristallin souvent rectangulaires, et en périphérie, une matrice de densité plus faible. Le réticulum endoplasmique, les mitochondries et le golgi sont faiblement représentés. Le glycogène est assez abondant (fig. 14b).

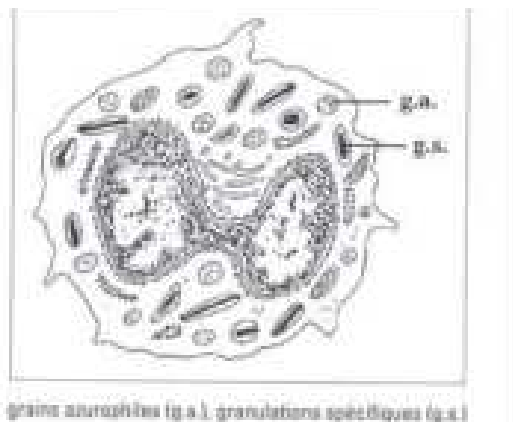


Fig. 14b: Schéma granulocyte éosinophile au ME

c) Cytochimie. Cytoenzymologie et immunocytochimie

Le cytoplasme des PNE est P.A.S. Positif. Les granulations spécifiques contiennent de la peroxydase éosinophile, de l'histaminase ; la partie cristalline contient une protéine basique spécifique, la protéine basique majeure (MBP), constituant essentiel du cristalloïde et la protéine cationique éosinophile qui neutralise l'héparine et s'associe à la MBP pour dissocier les parasites. Des granulations plus petites azurophiles correspondent à des lysosomes et contiennent de la phosphatase acide et de l'arylsulfatase ; celle-ci semble sécrétée en l'absence de phagocytose et de dégranulation. Ces protéines éosinophiles jouent un rôle dans :

- la réaction inflammatoire et allergique (Ig E)
- la défense contre les parasites

La membrane des PNE porte aussi des récepteurs pour la fraction Fc des Ig G et pour la fraction C3b du complément, pour le fragment Fc des Ig E (faible affinité) et pour l'histamine.

d) propriétés et fonctions des PNE

Comme les neutrophiles, les PNE sont attirés par chimiotactisme. Les PNE sont doués de mobilité et de diapédèse. Ils sont capables de phagocytose mais à un degré moindre que les PNN. Leur taux augmente dans les affections allergiques et parasitaires.

Les PNE jouent un rôle régulateur dans les inflammations allergiques : les PNE sont attirés par des produits chimiotactiques libérés lors des réactions d'hypersensi-

bilité immédiate. Ils phagocytent électivement les complexes antigène-anticorps.

Les PNE sont impliqués dans la destruction des parasites de type helminthe. Dans ce cas, les PNE déversent le contenu de leurs granulations dans le milieu extracellulaire (dégranulation). Attiré par le C3b et les anticorps fixés, il dégranule la protéine basique majeure dans la membrane du parasite qui est ainsi perforée.

Le PNE peut neutraliser les effets nocifs d'une dégranulation importante des mastocytes.

La durée de vie des PNE est d'environ 8 à 10 jours dont 3 à 8 jours dans les tissus. Les éosinophiles sont principalement situés dans les muqueuses.

5.4. LES GRANULOCYTES BASOPHILES

5.4.1. ASPECT

a. en microscopie optique

Le diamètre des PNB varie de 9 à 14 microns. Le noyau est faiblement lobé ; il est «masqué» par les granulations cytoplasmiques très opaques qui le recouvrent ; la chromatine est souvent moins dense comparativement à celle des autres granulocytes. Le cytoplasme comporte quelques granulations azurophiles et des granulations spécifiques : les **granulations basophiles**.

Le cytoplasme est chargé en granulations spécifiques, assez volumineuses (plus grandes que celles des PNE) et de coloration bleue très foncée. Ces granulations sont métachromatiques lorsqu'on utilise un colorant métachromatique tel le bleu de toluidine (Fig.15a).



Fig.15a: Granulocyte basophile MO

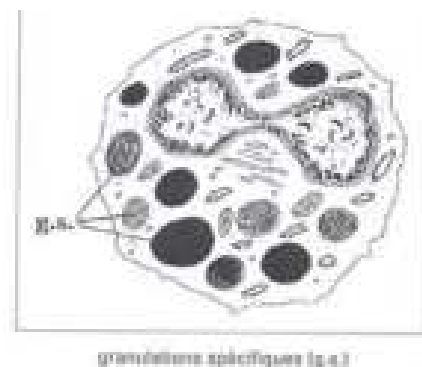


Fig. 15b: Granulocyte basophile en ME

b. en microscopie électronique (fig. 15B)

Le noyau est lobé et présente une chromatine moins dense que celle des autres granulocytes. Les granulations spécifiques sont limitées par une membrane et présentent un contenu finement granulaire ou un aspect lamellaire. Le cytoplasme est riche en glycogène et les organites sont faiblement représentés (Fig.15b).

c. cytochimie et immunocytochimie

Le cytoplasme est P.A.S. positif. Les granulations spé-

cifiques sont riches en histamine et en héparine ; cette richesse en héparine explique le caractère métachromatique des granulations des PNB. La membrane des PNB présente des récepteurs à la fraction Fc des Ig E.

5. 4.2. PROPRIÉTÉS ET FONCTIONS

Les PNB peuvent effectuer la diapédèse, mais les propriétés de mobilité et de phagocytose sont très faibles. Les PNB et les mastocytes présentent des similitudes structurales et fonctionnelles : Ces 2 types de cellules présentent des granulations cytoplasmiques riches en histamine et en héparine.

Les PNB et les mastocytes jouent un rôle essentiel dans les réactions d'hypersensibilité immédiate.

- les Ig E spécifiques d'un allergène se fixent sur la membrane des basophiles par l'intermédiaire des récepteurs Fc des Ig E, puis décharge du contenu dans l'espace extra cellulaire
- la fixation ultérieure de l'allergène bivalent sur les sites anticorps de deux Ig E adjacentes provoque une réaction de dégranulation des PNB ou des mastocytes.
- la dégranulation provoque la réaction inflammatoire de l'hypersensibilité immédiate. C'est la cellule responsable des manifestations allergiques de type immédiat. Le PNB est le précurseur sanguin du mastocyte tissulaire. Après son activation, il sécrète, comme le mastocyte, des médiateurs de l'inflammation. **La durée de vie des PNB serait de 12 à 15 jours.**

5. 5. LES LYMPHOCYTES

5.5.1. ASPECT

a. en microscopie optique:

La majorité des lymphocytes sanguins correspond à de petits lymphocytes qui présentent les caractéristiques morphologiques suivantes : le diamètre est de **7 à 9 µm**; le noyau, souvent arrondi, occupe les 9/10^{ème} de la cellule; sa chromatine est dense et en mottes; la petite couronne cytoplasmique est basophile (de coloration bleue). Les petits lymphocytes peuvent aussi bien être de type T ou B (Fig.16a).

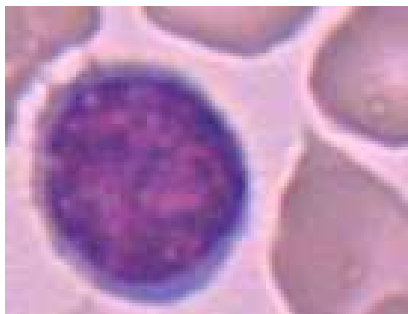


Fig.16a : Petit lymphocyte en MO

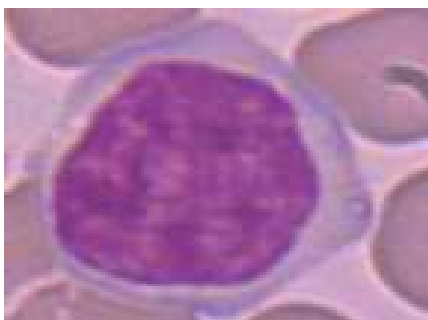


Fig.16b : Grand lymphocyte en MO

15 % environ des lymphocytes sanguins ont un diamètre un peu plus grand (**10 à 12 µm**). Le noyau est sensiblement similaire à celui des petits lymphocytes et le cytoplasme est plus abondant, moins basophile, contenant quelques granulations azurophiles. Ces cellules sont appelées **moyens et grands lymphocytes**. Ils correspondent à des lymphocytes activés en transit vers d'autres tissus on les distingue difficilement des monocytes. Ils correspondent à une étape de la maturation de certains petits lymphocytes T (Fig. 16a).

b) en microscopie électronique:

La surface cellulaire est plus ou moins régulière. Le noyau présente souvent un nucléole. Le cytoplasme est riche en ribosomes libres et en polysomes ; il comporte quelques mitochondries (m). Un petit complexe golgien A. G. (qui apparaît sous la forme d'un halo clair périnucléaire en MO: l'arcoplasme) et une paire de centrioles. Les quelques granulations azurophiles g.a correspondent à des lysosomes (**Fig. 16c**). En microscopie à balayage. Les lymphocytes B sont hérissés de microvillosités ; les lymphocytes T ont une surface lisse

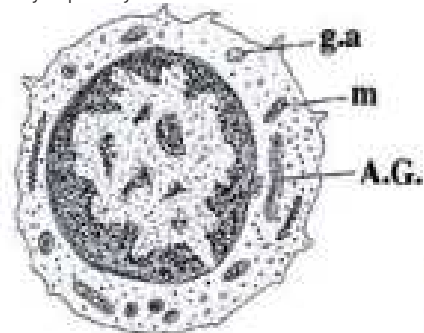


Fig. 16c : Schéma lymphocyte en ME

g.a. : granulations azurophiles

M : mitochondries

A.G. : appareil de Golgi

5.5.2. SOUS POPULATIONS LYMPHOCYTAIRE

La population lymphocytaire est hétérogène ; les critères morphologiques ne permettent pas de distinguer les sous populations lymphocytaires. Trois populations lymphocytaires sont identifiées par la mise en évidence de marqueurs antigéniques exprimés à leur surface à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques (immunohistochimie) et leurs proportions relatives sanguines sont les suivantes :

- les cellules B : 5 à 10%
- les cellules T : 70 à 80%,
- les cellules non B non T ou cellules nulles : 15 à 20%.

Le lymphocyte B est défini par la présence d'immunoglobulines de surface insérées dans sa membrane. Ces immunoglobulines assurent une fonction de récepteurs pour l'antigène, le récepteur **BCR** ou « B cell receptor »

Le lymphocyte T est défini par la présence d'un récepteur à l'antigène ; le **TCR** «T cell receptor».

D'autres récepteurs ont été mis en évidence comme les récepteurs à la fraction Fc des IgG pour les lympho B et T et la fraction C3b du complément pour les lympho B uniquement.

Parmi les lymphocytes T, certains sont dits auxiliaires = « helper » (CD4), d'autres sont cytotoxiques (CD8). Les lymphocytes T sécrètent des cytokines.

Les lymphocytes non T non B sont appelés NK « Natu-

ral Killer ». Ils présentent des granulations dans leur cytoplasme et peuvent avoir une action cytotoxique. Les lymphocytes NK peuvent détruire spontanément certaines cellules cancéreuses.

5.5.3. CINÉTIQUE ET FONCTIONS DES LYMPHOCYTES

La durée de vie des lymphocytes est très variable ; de quelques jours à quelques années.

Les lymphocytes sanguins sont capables de mobilité et de diapédèse ; ils peuvent quitter le sang, passer dans les tissus et peuvent retourner de nouveau dans le courant sanguin (**recirculation**).

Les lymphocytes jouent un rôle fondamental dans le système de défense spécifique ou système immunitaire : à la faveur d'une stimulation antigénique ; les lymphocytes spécifiques sont activés, prolifèrent et se différencient en cellules effectrices et en cellules mémoire.

- Les lymphocytes B se différencient en plasmocytes, cellules sécrétrices d'anticorps provoquant la défense immunitaire humorale.
- Les lymphocytes T se différencient en :
 - lymphocytes T cytotoxiques qui sécrètent la perforine et induisent l'apoptose de la cellule cible
 - lymphocytes T auxiliaires (helper) qui se différencient en lymphocytes T activés et en lymphocytes T mémoires une fois lié à l'antigène. Ils vont agir sur les autres lymphocytes et les aider dans leurs fonctions effectrices
 - lymphocytes T suppresseurs : contrôlent et inhibent la réponse immunitaire humorale. Ils interviennent dans l'immunité cellulaire (cf cours d'immunologie).

5.6. LES MONOCYTES

5.6.1. ASPECT

a. en microscopie optique

Sur frottis, le diamètre des monocytes est de **15 à 20 µm**. Le noyau souvent excentré n'est pas polylobé mais peut présenter un aspect indented, réniforme ou en s. La chromatine est fine, parfois d'aspect peigné : un nucléole est rarement observé. Le cytoplasme est assez abondant légèrement basophile de coloration gris-bleu pâle. Il comporte habituellement quelques granulations azurophiles. Observé à l'état vivant en contraste de phase, le monocyte est une cellule très mobile qui présente en surface des voiles cytoplasmiques ondulants (**Fig. 17a**). C'est une cellule qui s'étale très facilement sur le verre.

b. en microscopie électronique

La surface cellulaire est souvent irrégulière. La chromatine n'est condensée qu'en périphérie. Le cytoplasme comporte des organites en quantité modérée. Les granulations azurophiles notées au M.G.G. correspondent à des lysosomes. On retrouve un centrosome et un riche réseau microtubulaire et microfilamenteux (**Fig. 17b**).



Fig. 17a : Monocyte MO

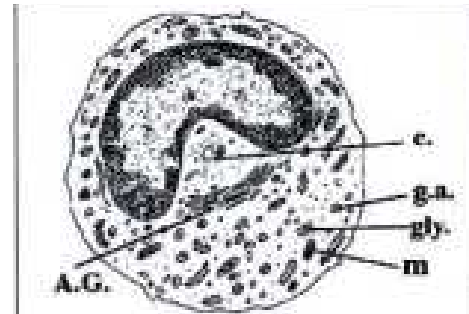


Fig. 17b : Schéma monocyte ME

g.a. : granulations azurophiles; gly: glycogène; c: centrosome; m: mitochondrie; AG: appareil de Golgi

c. Cytoenzymologie et immunocytochimie

Le cytoplasme du monocyte comporte des hydrolases et une peroxydase. Ces activités enzymatiques se localisent au niveau des lysosomes. La membrane du monocyte comporte des récepteurs pour la fraction Fc des IgG et pour la fraction C3 du complément.

5.6.2. CINÉTIQUE, PROPRIÉTÉS ET FONCTIONS

Les monocytes, formés à partir des précurseurs médullaires, séjournent relativement peu dans le sang ; ils circulent dans le sang de un à 3 jours. Ils sont destinés à quitter le sang par diapédèse pour peupler les tissus où ils se transforment en histiocytes et en macrophages : l'ensemble constitue un système, celui des phagocytes mononucléés (SPM).

Ils assurent de nombreux rôles principalement dans le système de défense non spécifique et spécifique (cf cours d'immunologie). Les monocytes quittent le sang au bout de 3 jours et s'établissent dans les tissus où ils se différencient en macrophages tissulaires, adoptant parfois des caractéristiques morphologiques spécifiques du lieu où ils se trouvent : Histiocytes du tissu conjonctif, Macrophages alvéolaires du poumon, cellules de Küpffer du foie, Ostéoclastes de l'os

Contrairement aux granulocytes, les cellules du SPM gardent des possibilités mitotiques. Les cellules du SPM sont douées d'une grande mobilité et sont capables d'une importante activité phagocytaire. Leur durée de vie est longue (**1 à 3 mois**) et ils sont encore capables de se diviser. Ils meurent sur place à moins d'être entraînés par la lymphe vers les ganglions lymphatiques.

Ils contiennent de grosses granulations cytoplasmiques qui sont des lysosomes contenant de nombreuses enzymes. Leur membrane est pourvue de récepteurs : Pour le fragment C3b du complément (Cr1 et Cr3), Pour le fragment Fc des IgG, Pour le fragment Fc des IgE. (faible affinité)

Les macrophages ont des fonctions de phagocytose et sécrètent, surtout quand ils sont activés, de très nombreuses protéines plasmatiques. Ils participent activement à l'immunité spécifique en présentant l'antigène aux cellules immunocompétentes.

5.7. LEUCOGRAMME NORMAL ET VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

Le leucogramme comporte une étude quantitative et qualitative des leucocytes : numération et formule leucocytaire.

	Adulte %	Valeur absolue/mm ³	Enfant %	Valeur absolue/mm ³
Polynucléaires Neutrophiles	50 - 80	2000 - 8000	40 - 60	2000 - 6000
Polynucléaires Eosinophiles	1 - 4	40 - 400	1 - 4	100 - 500
Polynucléaires Basophiles	0 - 1	0 - 100	0 - 1	0 - 150
Lymphocytes	20 - 40	1000 - 4000	35 - 60	1500 - 7000
Monocytes	2 - 10	80 - 1000	2 - 10	100 - 1500

La formule sanguine consiste à évaluer le nombre de chacune des différentes populations de leucocytes. Des variations physiologiques de la formule leucocytaire sont notées en fonction de l'âge (les variations portent sur les PNN et les lymphocytes) :

* à la naissance : les neutrophiles représentent 60 % des leucocytes.

* à partir de la 2ème semaine et jusqu'à l'âge de 4 ans : les lymphocytes constituent 60 % des leucocytes.

* les proportions typiques de l'adulte (neutrophiles 55 – 70% lymphocytes 20 – 35%) sont atteintes vers l'âge de 14 - 15 ans.

Il importe de remarquer que les données de la numération et de la formule leucocytaire se complètent et déterminent des valeurs absolues pour chaque variété de leucocyte.

Tableau récapitulatif des caractéristiques des cellules sanguines et de leurs fonctions

Élément	Diamètre (µm)	Nombre/µm ³	% de leucocytes	Granules	Fonction	Noyau	
Élément Section							
Erythrocyte	7-8	5-7	5×10^6 (hommes) 4.5×10^6 (femmes)	Aucun	Transport de O ₂ et de CO ₂	Absence	
Lymphocyte	9-10	7-8	1 500-2 500	20-25	Azurophiles uniquement	Réponse immunitaire	Volumineux central arrondi
Monocyte	12-15	10-12	200-900	3-8	Azurophiles uniquement	Phagocytose	Volumineux encoché
Neutrophile	9-12	8-9	3 500-7 000	60-70	Azurophiles et petits granules spécifiques neutrophiles	Phagocytose	Polymorphe
Eosinophile	10-14	9-11	150-400	3-4	Azurophiles, certaines et éosinophiles spécifiques larges	Phagocytose des complexes antigène-anticorps et contrôle des infections parasitaires	Bilobé
Basophile	9-10	7-8	50-100	0.5-1	Azurophiles et volumineux granules spécifiques basophiles (héparine et histamine)	Sécrétion d'agents pharmacologiques et éventuellement phagocytose	Volumineux central arrondi
Plaquettes	2-4	1-3	250 000-400 000	Granulomères	Réponse immunitaire	Absence	

Atlas en couleurs d'histologie

TESTS D'ÉVALUATION

Question 1

- A- Tous les globules blancs sauf exception ont un rôle de défense de l'organisme
 - B- Les polynucléaires neutrophiles sont des cellules d'environ 12 μm de diamètre et représentent environ 30% des globules blancs
 - C- Les granulations primaires des polynucléaires neutrophiles contiennent des myéloperoxydases
 - D- Le corpuscule de Barr correspondant à un des deux chromosomes X de la femme est présent chez tous les polynucléaires féminins
 - E- Les granulations secondaires du polynucléaire neutrophile sont colorables en beige marron et sont les plus nombreuses.
-

Question 2

Indiquer la (les) proposition(s) exacte(s) parmi les propositions suivantes relatives aux **hématies**

- A- ont une forme biconcave ce qui accroît le rapport surface/volume et favorise les transports de gaz dans les capillaires
 - B- ne possèdent pas de mitochondries
 - C- possèdent un cytosquelette associé à la membrane destiné à conserver la forme de la cellule.
 - D- ont une durée de vie moyenne de 20 jours dans le sang
 - E- sont éliminées du sang, lorsqu'elles ont vieilli, par des cellules de la rate
-

1-ACE
2-ABCE

RÉPONSES

L'HEMOTOPOEISE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Indiquer les différents sites de l'hématopoïèse avant et après la naissance
2. Dresser le diagramme des différentes lignées de l'hématopoïèse, des cellules souches aux cellules matures
3. Indiquer les principales caractéristiques cytologiques des premières cellules morphologiquement identifiables pour chaque lignée hématopoïétique
4. Indiquer les principales modifications cytologiques qui caractérisent l'érythropoïèse, la granulopoïèse et la thrombopoïèse
5. Indiquer les principaux aspects dynamiques de l'érythropoïèse, la granulopoïèse et la thrombopoïèse
6. Indiquer les principales étapes de la maturation des précurseurs lymphoïdes en précisant les lieux de cette maturation
7. Reconnaître sur diapositives et sur lames l'appartenance d'une cellule hématopoïétique à une lignée en indiquant son niveau de maturation.

PLAN

1. DÉFINITION

2. LES SITES DE L'HÉMATOPOIÈSE

3. NOTION DE CELLULES SOUCHES

4. L'ÉRYTHROPOIÈSE

4.1. Aspects morphologiques de l'érythropoïèse

4.1.1. Proérythroblaste

4.1.2. Les stades suivant le proérythroblaste

4.2. Les aspects dynamiques de l'érythropoïèse

4.2.1 Durée de l'érythropoïèse normale

4.2.2 Durée de vie du globule rouge

4.3. Méthodes d'appréciation de l'érythropoïèse in vivo

4.4. Régulation de l'érythropoïèse

5. GRANULOPOIESE ET MONOPOIESE

5.1. Aspects morphologiques de la granulopoïèse

5.1.1. Le myéloblaste

5.1.2. Le promyélocyte

5.1.3. Le myélocyte

5.1.4. Le métamyélocyte

5.2. Les aspects dynamiques de la granulopoïèse

5.3. Régulation de la granulopoïèse

5.4. Aspects morphologiques de la monopoïèse

5.4.1. Le monoblaste

5.4.2. Le promonocyte

6. THROMBOPOIESE

6.1. Aspects morphologiques de la thrombopoïèse

6.1.1. Le mégacaryoblaste

6.1.2. Le mégacaryocyte basophile

6.1.3. Le mégacaryocyte granuleux

6.1.4. Libération des plaquettes à partir du mégacaryocyte

6.2. Cinétique de la thrombopoïèse

6.3. Régulation

7. LYMPHOPOIESE

7.1. La maturation lymphoïde B à partir des précurseurs B

7.2. La maturation lymphoïde T à partir des précurseurs T

1. DÉFINITION

C'est l'ensemble des processus qui assurent la formation des cellules sanguines matures à partir de cellules souches. Les cellules sanguines adultes ont une durée de vie relativement courte, par conséquent cette population cellulaire doit être continuellement renouvelée à partir de cellules souches situées dans les organes hématopoïétiques.

2. SITES DE L'HÉMATOPOIÈSE (FIG 1)

Les premiers îlots hématopoïétiques apparaissent chez l'embryon au niveau de la paroi du lécithocèle secondaire au cours de la 3ème semaine du développement embryonnaire : c'est la phase mésoblastique

- La première activité hématopoïétique est représentée par l'érythropoïèse (formation de globules rouges). A ce stade sont produites uniquement des cellules érythroïdes nucléées qui synthétisent des hémoglobines (Hb) de type embryonnaire puis fœtales.

- l'érythropoïèse s'effectue au niveau du tissu conjonctif embryonnaire jusqu'au 2^o mois.

Cette hématopoïèse primitive est suivie par une activité hématopoïétique au niveau du foie (phase hépatique) et de la rate (phase splénique).

Parallèlement aux processus de l'édification du squelette (à partir du 4ème mois de la vie intra-utérine) se met en place la moelle osseuse qui prendra progressivement la relève des autres sites ; elle deviendra le SEUL SITE NORMAL de l'hématopoïèse après la naissance

- Jusqu'à l'âge de 5 ans tous les os ont une activité hématopoïétique et la moelle de la totalité des cavités osseuses est une moelle rouge qui assure une hématopoïèse active.

- Chez l'adulte, la moelle hématopoïétique n'est plus localisée qu'au niveau des os plats et courts (sternum, côtes, vertèbres, os iliaques).

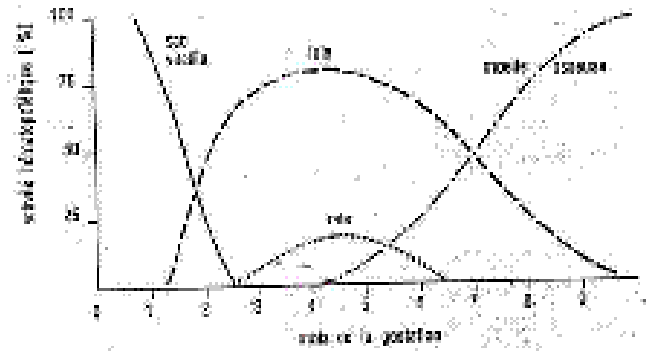


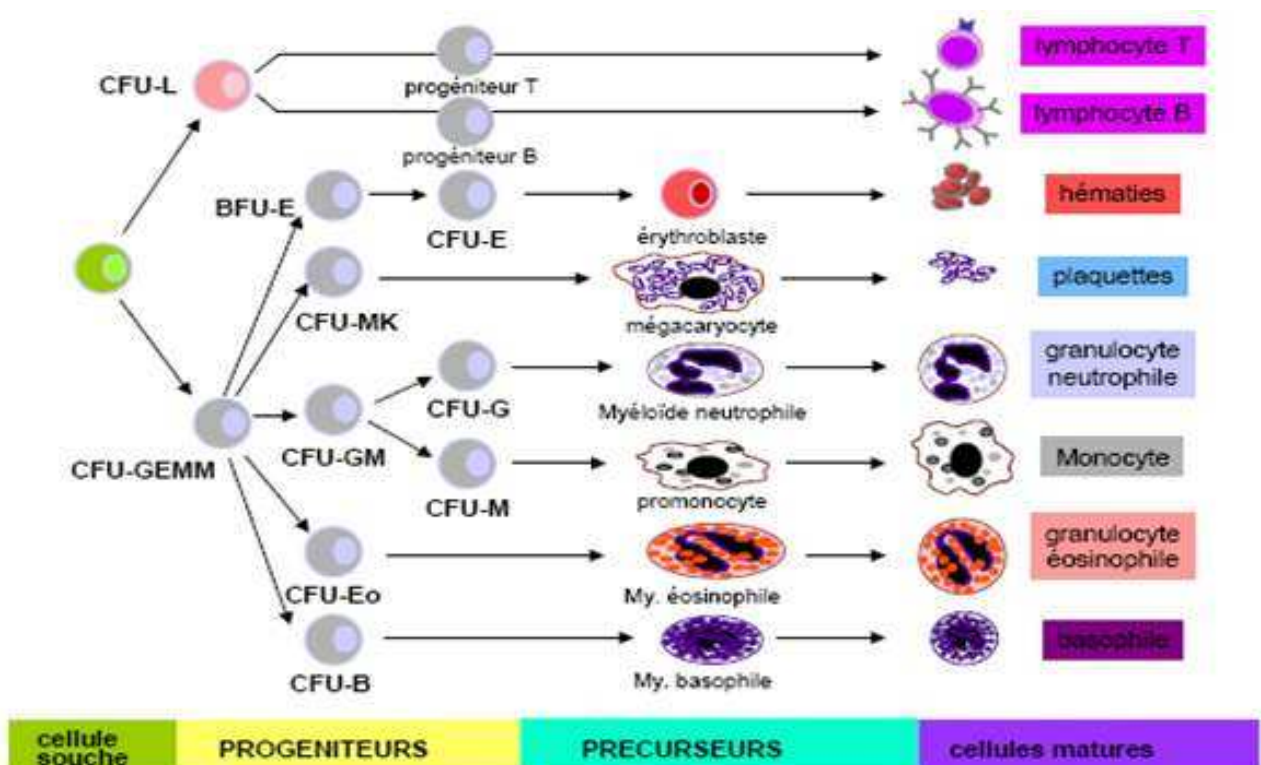
Fig. 1 : sites de l'hématopoïèse pendant la gestation

3. NOTION DE CELLULES SOUCHES (DIAGRAMME 1).

Il est actuellement établi que toutes les lignées sanguines dérivent d'une même cellule souche appelée cellule souche pluripotente. La démonstration a pu être établie chez l'animal et plus récemment chez l'homme. Une souris est irradiée à 1000 rads, dose suffisante pour détruire la totalité des cellules hématopoïétiques. En l'absence de greffe, l'animal meurt au cours des dix premiers jours.

Une greffe syngénique (entre animaux ayant le même génome) de cellules hématopoïétiques est effectuée par voie veineuse dans le but de restaurer l'activité hématopoïétique ; après 8 à 10 jours, la souris greffée est sacrifiée. L'examen de sa rate montre des colonies cellulaires hématopoïétiques ; certaines de ces colonies sont mixtes associant toutes les lignées hématopoïétiques, les «Co-

Diagramme 1 : Hématopoïèse



lony Forming Unit Spleen ou C.F.U.S. » (Cellules souches pluripotentes). La cellule souche dite C.F.U.S. est une cellule capable d'auto-renouvellement et de différenciation.

L'hématopoïèse comporte donc 4 compartiments :

- o Les cellules souches
- o Les progéniteurs
- o Les précurseurs
- o Les cellules matures

La cellule souche pluripotente

Dans l'espèce humaine, elle est représentée par la cellule souche hématopoïétique et est à l'origine de toutes les lignées hématopoïétiques. Les cellules souches sont capables de :

- se diviser
- se renouveler elles-mêmes: capacité d'auto renouvellement
- se différencier

Les cellules souches multipotentes

Représentées par les cellules souches myéloïdes « CFU-GEMM » et les cellules souches lymphoïdes « CFU-L », qui sont des colonies provenant de cellules souches pluripotentes. La cellule souche myéloïde **CFU-GEMM** (colony forming unit of granulo-erythro-macro-megacaryocyte) est capable de générer les lignées granuleuses et macrophagiques ainsi que les lignées érythroïdes et mégacaryocytaires. Elle possède la potentialité de différenciation vers les quatre types de lignées. La cellule souche lymphoïde CFU-L possède la potentialité de différenciation vers les deux types de lymphocytes T et B (diagramme 1).

Les cellules souches :

- sont localisées dans la moelle osseuse mais peuvent passer de façon temporaire dans le sang
- sont non identifiables morphologiquement
- Les cellules souches hématopoïétiques portent les antigènes CD34 et CD33 et HLA-DR et le récepteur au Stem Cell Factor
- sont en phase G0 ou en phase G1 du cycle cellulaire sous l'influence des facteurs de croissance.
- conservent leurs propriétés après congélation à -196° puis décongélation, même de nombreux mois plus tard

* l'auto-renouvellement assure le maintien d'un pool de cellules souches suffisant.

La différenciation comporte schématiquement 2 étapes:

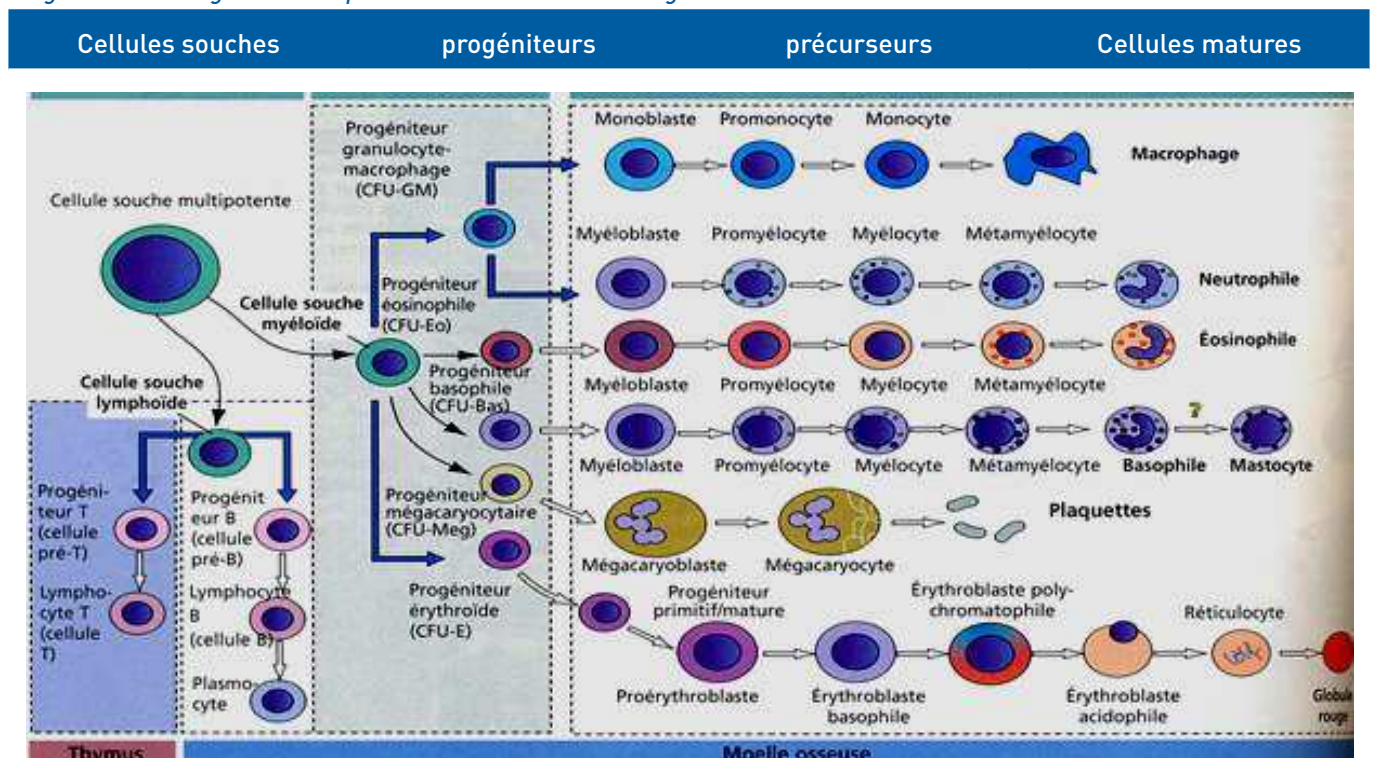
LES PROGÉNITEURS

Une première étape au cours de laquelle la cellule souche s'engage dans une voie de différenciation en perdant son caractère multipotent : il existe ainsi un compartiment de cellules déjà déterminées « committed stem cells » ou progéniteurs, intermédiaires entre les cellules souches multipotentes et les premières cellules morphologiquement identifiables appelées précurseurs, correspondants aux différentes lignées

Ces cellules sont appelées C.F.U. « Colony Forming Unit » pour cellules formant des colonies en raison de leur capacité à se multiplier sous forme de colonies. Elles ne peuvent être identifiées morphologiquement et ne peuvent donner naissance qu'à une ou deux lignées cellulaires.

Cinq types de progéniteurs dérivent de la cellule souche myéloïde :

Diagramme 2 : Progéniteurs et précurseurs des différentes lignées



- **Les progéniteurs érythroïdes** BFU-E/MK "Burst Forming Unit of Erythrocyte and Megacaryocyte" à l'origine de foyers de colonies érythroïdes et mégacaryocytaires, puis BFUE et CFUE précurseurs plus matures que les BFU-E, capables de générer des petites colonies érythroïdes.
- **Le progéniteur granulocyte-macrophage** CFU-GM, capable de donner des colonies granuleuses et macrophagiques.
- **Le progéniteur mégacaryocytaire** BFUE/MK puis CFU-MK ou CFU-Meg,
- **Le progéniteur éosinophile** CFU-Eo,
- **Le progéniteur basophile** CFU-Bas.
- **Les progéniteurs lymphoïdes** sont: Pro B, Pro T.

Ces progéniteurs n'ont plus la capacité de s'autorenouveler, mais possèdent encore un potentiel de prolifération et de différenciation. Les BFUE matures n'expriment plus CD33 et les CFUE n'expriment plus CD34 ni DR

LES PRÉCURSEURS

Une deuxième étape, dite de maturation, au cours de laquelle les cellules prolifèrent et acquièrent progressivement leur aspect différencié et mature. Les progéniteurs donnent naissance à des précurseurs reconnaissables morphologiquement qui ont la capacité d'effectuer un nombre limité de divisions. Les précurseurs sont localisés dans la moelle osseuse et ont perdu toute capacité d'auto renouvellement. Ils correspondent aux premières cellules morphologiquement identifiables.

Les précurseurs suivent ensuite un processus de maturation jusqu'à produire des cellules fonctionnelles avec acquisition des éléments de spécificité **Cellules matures**

4. L'ÉRYTHROPOÏÈSE (DIAGRAMME II)

L'érythropoïèse aboutit à la formation de globules rouges, cellules dépourvues de noyau et d'organites mais riches en hémoglobine (Hb). Physiologiquement, la formation des érythrocytes est continue.

4.1. ASPECTS MORPHOLOGIQUES DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE

Sous l'influence de l'érythropoïétine (EPO), certaines cellules déterminées entrent dans la voie de l'érythropoïèse, les progéniteurs BFUE et CFUE vont se différencier en proérythroblaste qui représente le premier précurseur identifiable morphologiquement.

BFU.E → CFU.E → Pro Erythroblast

BFU E (Burst Forming Unit Erythroid); CFU E (Colony Forming Unit Erythroid)

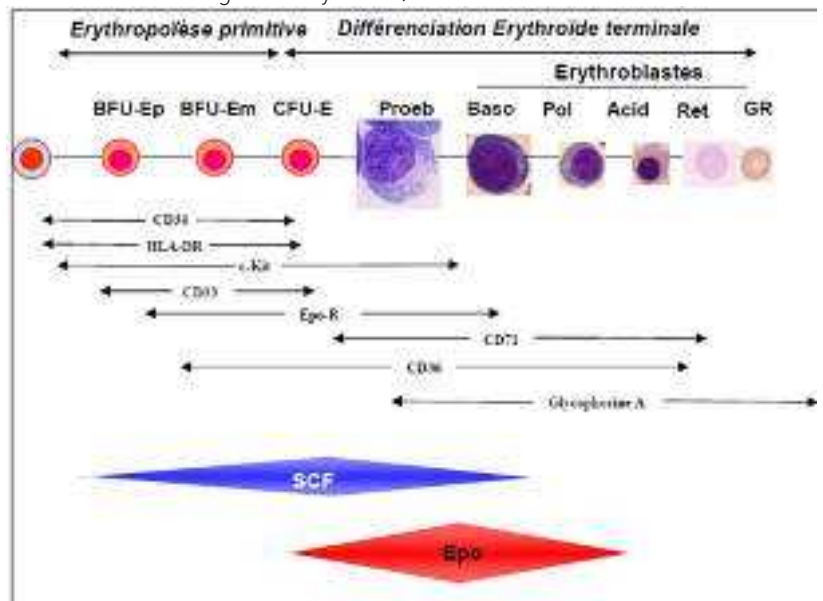


Fig1a : Erythropoïèse : expression antigénique des progéniteurs

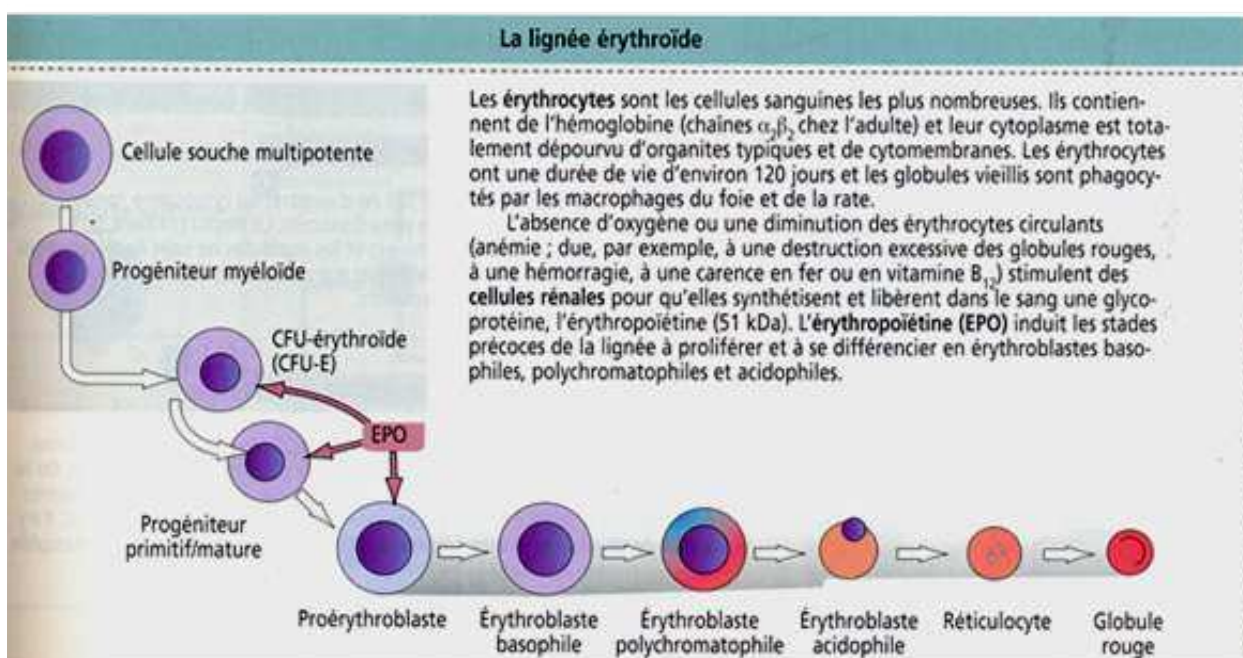


Fig 1b : Lignée érythroïde

4.1.1. PROÉRYTHROBLASTE

C'est une cellule dépourvue d'Hb.

* **Au MGG** : c'est une cellule de 20 à 25 microns de diamètre. Le noyau est arrondi et occupe les 4/5 de la cellule ; sa chromatine est fine ; il est pourvu d'un ou deux nucléoles. Le cytoplasme est très basophile et présente souvent un croissant ou halo plus clair juxtanucléaire : l'arcoplasme qui est une zone occupée par l'appareil de Golgi. Le proérythroblaste est basophile

* **En ME**, le cytoplasme est très riche en polyribosomes. Les proérythroblastes sont souvent retrouvés au sein d'îlots érythroblastiques; ils prélèvent la ferritine des macrophages par rophéocytose. Les figures 1 et 2 donnent les différentes étapes qui suivent le stade proérythroblastique comportant multiplication et différenciation cellulaire.

4.1.2. LES STADES SUIVANT LE PROÉRYTHROBLASTE

Sont caractérisés par :

- la diminution du diamètre de la cellule
- la diminution de la taille du noyau, les nucléoles disparaissent et l'augmentation de la densité chromatinienne
- la disparition progressive des organites
- l'enrichissement du cytoplasme en hémoglobine

La synthèse de l'hémoglobine commence au stade de l'érythroblaste basophile et se termine à la fin du stade réticulocyte. Ce processus de synthèse d'Hb est marqué morphologiquement par le passage de la basophilie à la polychromatophilie puis à l'acidophilie du cytoplasme.

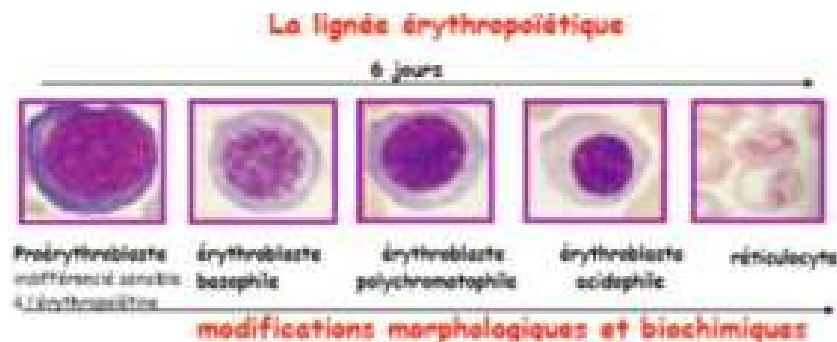


Fig 2 : Erythropoïèse, aspects morphologiques

L'érythroblaste polychromatophile Il ne se divise plus ; son noyau est très dense. Il subit une maturation l'enrichissant en Hb et devient ainsi érythroblaste acidophile. L'érythroblaste acidophile est une cellule mesurant 8 à 9 µm, à cytoplasme acidophile et à noyau très dense. Cette cellule va expulser son noyau accompagné d'une mince couronne de cytoplasme ; les noyaux éliminés seront phagocytés par les macrophages situés au centre de l'îlot.

4.2. LES ASPECTS DYNAMIQUES DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE NORMALE.

Chaque proérythroblaste aboutit théoriquement à la production de 16 globules rouges.

Le réticulocyte néoformé reste 48 heures dans la moelle osseuse puis traverse les sinusoides médullaires, se retrouve dans le sang périphérique où il perd ses ribosomes en moins de 48 heures pour devenir une hématie mature. Un taux augmenté de réticulocytes dans le sang témoigne d'une érythropoïèse active

4.2.1 DURÉE DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE NORMALE

Durée normale de l'érythropoïèse : 5 à 6 jours. Les différentes étapes de l'érythropoïèse n'ont pas toutes la même durée.

4.2.2 DURÉE DE VIE DU GLOBULE ROUGE

Elle est estimée à 120 jours. Le globule rouge perd progressivement l'activité de ses enzymes. Il va présenter des modifications de sa membrane: sera reconnu comme globule rouge vieilli et sera phagocyté essentiellement par les macrophages de la moelle osseuse et de la rate.

4.3. MÉTHODES D'EXPLORATION DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE

3 examens simples :

- **le dosage du taux d'hémoglobine dans le sang**
- **la mesure du pourcentage des érythroblastes dans la moelle** (obtenue par ponction de la moelle osseuse et étude du pourcentage des différentes lignées hématopoïétiques: myélogramme)
- **la numération des réticulocytes dans le sang** (% et valeur absolue).

Une mesure plus précise est fournie par l'étude de la cinétique du fer radioactif ⁵⁹Fe (taux de renouvellement plasmatique, taux d'incorporation du fer dans les globules rouges).

4.4. RÉGULATION DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE

Dans les circonstances physiologiques, l'activité érythropoïétique permet de compenser les pertes de globule rouge et de maintenir constante la masse globulaire totale.

LA RÉGULATION POSITIVE

- L'érythropoïétine

Cette régulation fait intervenir un facteur de croissance spécifique, l'érythropoïétine (EPO) ainsi que d'autres facteurs moins spécifiques.

La baisse de l'oxygénation tissulaire constitue le stimulus essentiel de l'érythropoïèse par l'intermédiaire d'un facteur humoral : l'érythropoïétine, glycoprotéine de structure globulaire. A partir du foie, il y aurait production d'un facteur qui, après interaction avec un facteur érythropoïétique rénal aboutirait à la production d'érythropoïétine. L'action de l'EPO se manifeste après une liaison de l'EPO avec son récepteur spécifique EPOR.

Les récepteurs sont présents à partir du stade BFU-E, le nombre de récepteurs augmente alors pour atteindre un maximum au stade CFU-E et ensuite diminuer. L'érythropoïétine agit sur l'érythropoïèse à plusieurs niveaux en se fixant sur des récepteurs spécifiques : son rôle essentiel est la transformation des CFU.E en proérythroblastes. L'homodimérisation des récepteurs de l'érythropoïétine va aboutir au recrutement de protéines à activité tyrosine kinase telles que JAK2 qui va activer par phosphorylation toute une cascade de signalisation intracellulaire. Les voies activées par le récepteur de l'érythropoïétine permettent la prolifération et la survie des cellules par l'intermédiaire de l'activation de la voie PI3k/AkT, et des

MAP kinases.

- Le Stem Cell Factor (SCF)

Le SCF est synthétisé par les différentes cellules stromales de la moelle osseuse. Il en existe deux formes l'une soluble et l'autre transmembranaire. La forme transmembranaire semble être prédominante physiologiquement et agit sur la survie et la prolifération des progéniteurs érythroïdes par l'intermédiaire d'un récepteur à activité tyrosine kinase. Il agit en synergie avec l'EPO mais aussi avec l'IL-3 à des stades plus précoces. Sa production constitutive n'est pas connue pour être régulée par l'hypoxie.

D'autres facteurs hormonaux semblent avoir une action sur l'érythropoïèse : la PTH, la thyroxine et la testostérone. Plusieurs facteurs non hormonaux sont indispensables au bon déroulement de l'érythropoïèse tels le fer indispensable à la synthèse de l'hème, l'acide folique et la vitamine B12 pour la synthèse de l'ADN.

LA RÉGULATION NÉGATIVE

Pour éviter un excès de production de globules rouges, l'érythropoïèse est régulée négativement :

- diminution du taux d'EPO circulante
- régulation de la mort cellulaire par apoptose des précurseurs érythroïdes au sein des îlots érythroblastiques
- des inhibiteurs protéiques (AcSDKP et PEEDCK)
- d'autres molécules telles le TGF- β (Transforming Growth Factor), le TNF- α (Tumor Necrosis Factor), INF- γ (les interférons) y participent également.

5. GRANULOPOIESE ET MONOPOIESE

Les granulocytes et les monocytes naissent dans la moelle osseuse à partir de cellules souches déterminées : CFU-GM. Ces cellules se différencient pour donner d'une part des CFUG (progéniteurs des granulocytes neutrophiles) et d'autre part, les CFU Macro (progéniteurs de la lignée monocyttaire). Les granulocytes éosinophiles dérivent des CFUEo, les basophiles dérivent des CFUB.

5.1. ASPECTS MORPHOLOGIQUES DE LA GRANULOPOÏÈSE

La première cellule granuleuse identifiable est le myéloblaste. Après 4 à 5 mitoses, et à la suite de phénomènes de maturation, le myéloblaste aboutit aux polynucléaires. Des critères morphologiques ont permis de distinguer plusieurs stades : myéloblaste, promyélocyte, myélocyte, métamyélocyte et polynucléaire. Ces différents stades de différenciation sont caractérisés par

- la diminution du diamètre de la cellule
- la raréfaction progressive des organites
- l'apparition progressive de granules spécifiques
- un cytoplasme de moins en moins basophile
- la densification de la chromatine et la lobation du noyau.

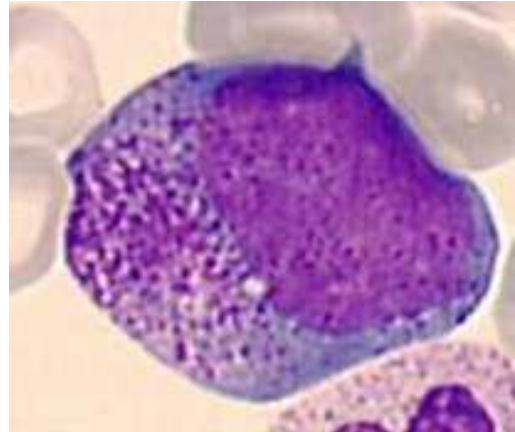
5.1.1. LE MYÉLOBLASTE

C'est une cellule de grande taille mesurant 20 à 25 microns de diamètre, de forme grossièrement arrondie.

Son noyau est volumineux, présente une chromatine fine avec plusieurs nucléoles. Le cytoplasme, moyennement abondant, est basophile. Il contient quelques fines granulations azurophiles **regroupées à un pôle de la cellule**. Elles ont une activité peroxydasique et phosphatasique acide. Les organites cytoplasmiques sont assez développés.

5.1.2. LE PROMYÉLOCYTE

Sa taille est d'environ 20 microns. Son noyau, volumineux, est souvent excentré et encoché ; sa chromatine fine apparaît par endroit plus dense. On ne retrouve habituellement qu'un seul nucléole. Le cytoplasme, faiblement basophile, comporte de nombreuses granulations azurophiles : ces granulations sont nombreuses, avec



une tendance à recouvrir le noyau.

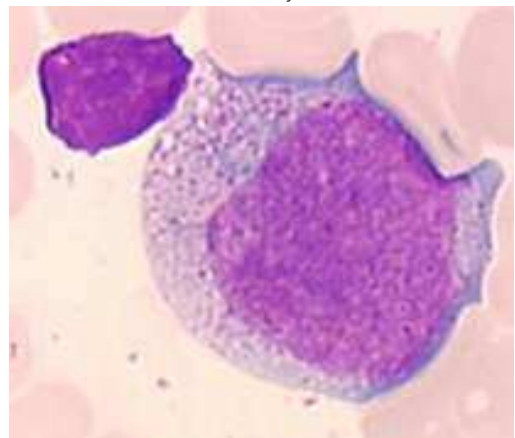


Fig 3 : Le myéloblaste MO

Fig 4 : Le promyélocyte MO

5.1.3. LE MYÉLOCYTE

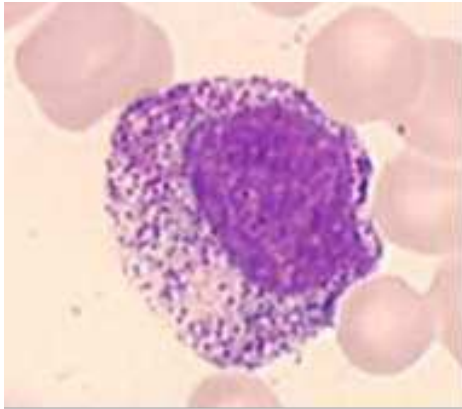
C'est une cellule de taille plus faible (15 à 18 microns). Son noyau, souvent arrondi, est plus petit que celui du promyélocyte et présente une chromatine plus dense. Les nucléoles ont disparu ; Le cytoplasme perd sa basophilie ; il comporte une majorité de granulations spécifiques et quelques granulations azurophiles.

Les granulations spécifiques permettent de distinguer le myélocyte neutrophile du myélocyte éosinophile, du myélocyte basophile. Les organites cytoplasmiques sont raréfiés ; le myélocyte est le dernier stade où des mitoses peuvent se produire.

5.1.4. LE MÉTAMYÉLOCYTE

Il mesure 12 à 14 microns. Le noyau présente un aspect réniforme ou en fer à cheval et une chromatine dense.

Le cytoplasme est clair, légèrement acidophile et les granulations spécifiques sont très nombreuses. Les organites cytoplasmiques sont rares. Le métamyélocyte ne peut plus se diviser mais subit une maturation qui consiste essentiellement en une lobation plus pronon-



cée du noyau.

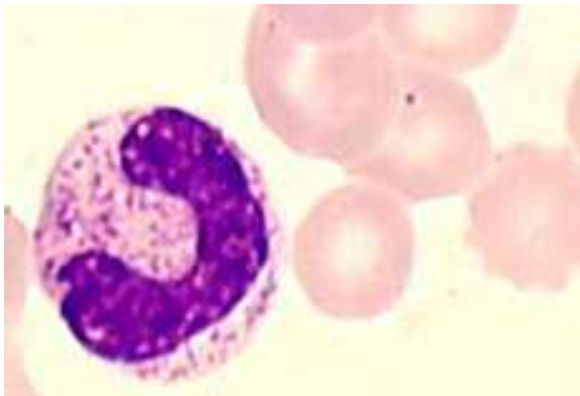


Fig5 : Le myélocyte neutrophile en MO

Fig 6 : Métamyélocyte neutrophile

5.2. ASPECTS DYNAMIQUES DE LA GRANULOPOÏÈSE

Dans la moelle, les cellules de la lignée granuleuse peuvent être réparties en 3 compartiments dont les limites se chevauchent :

- un compartiment de multiplication (myéloblaste, promyélocyte et myélocyte).
- un compartiment de maturation (métamyélocyte et polynucléaires non segmentés)
- un compartiment de réserve constitué de polynucléaires matures

La durée moyenne de la granulopoïèse serait de 20 jours. Chaque cellule souche serait à l'origine de 16 métamyélocytes.

5.3. RÉGULATION DE LA GRANULOPOÏÈSE (TABLEAU N°1)

Plusieurs molécules interviennent à différents stades de la granulopoïèse.

RÉGULATION POSITIVE

On désigne par C.S.A. «Colony Stimulating Activity», l'action d'un ensemble de substances nécessaires à la croissance et à la différenciation des cellules de la lignée myéloïde dans des cultures in vitro. Plusieurs facteurs de croissance hématopoïétiques (CSF : Colony Stimulating Factor) stimulent la prolifération et la maturation des

cellules déjà engagées dans la différenciation des granulocytes neutrophiles (G-CSF), des monocytes (M-CSF), des basophiles (interleukine 4) et des éosinophiles (interleukine 5).

*Les facteurs de croissance

-Le G-CSF

Le Granulocyte-Colony Stimulating Factor est un facteur de croissance hématopoïétique. Son rôle principal est de stimuler la prolifération et la différenciation des progéniteurs de la lignée granulocytaire de la moelle osseuse et d'induire la migration des polynucléaires dans le sang circulant.

Ce facteur de croissance exerce son action à la fois au niveau des cellules souches pluripotentes, des progéniteurs les plus précoces et aux stades les plus tardifs de maturation. Son activité s'exerce après sa fixation au récepteur RG-CSF. L'expression de ce récepteur est plus marquée aux stades les plus matures de la lignée granulocytaire mais on note sa présence dès les stades les plus immatures. La partie extracellulaire comporte le domaine de fixation au ligand tandis qu'on distingue au niveau intracellulaire trois domaines distincts, dénommés box 1, 2 et 3. Les domaines 1 et 2 sont impliqués dans la transduction des signaux de multiplication tandis que le domaine 3 est impliqué dans la transduction de signaux de maturation et de suppression du signal de prolifération. Après interaction entre le G-CSF et son récepteur, les tyrosines kinases JAK1 et JAK2 sont phosphorylées et la voie de transduction du signal Ras/MAP kinase est activée.

-Autres facteurs

• **IL1, IL6 et SCF** action sur les cellules souches pluripotentes (entrée dans le cycle cellulaire et préparation à la réception d'autres signaux de prolifération)

• **GM-CSF et d'IL-3** agissent sur la CFU GM (induction de la prolifération et engagement dans la différenciation)

• **Le GM-CSF** est une glycoprotéine qui supporte la croissance des colonies granulocytaires, monocytaires et granulo-monocytaires. Il favorise aussi la croissance des colonies mixtes, éosinophiles et mégacaryocytaires

• **Vitamines B12, folates et vitamines A et dérivés**

***Facteurs de transcription** impliqués dans l'activation des gènes de la lignée granulocytaire.

RÉGULATION NÉGATIVE

Il existe des facteurs inhibiteurs de la granulopoïèse. Les polynucléaires neutrophiles seraient la principale source de ces facteurs inhibiteurs.

Le mi-ARN (miR-223) intervient dans la régulation négative de la granulopoïèse par le biais du gène cible Mef2c qui agit sur les progéniteurs myéloïdes. miR-223 est spécifiquement exprimé dans le compartiment myéloïde du système hématopoïétique. Le taux d'expression est bas dans les CSH CD34+ et dans les progéniteurs myéloïdes communs, mais il est **fortement induit au cours de la différenciation granulocytaire** et réprimé dans le lignage monocyttaire.

Le miR-223 contrôle la granulopoïèse en association avec deux facteurs de transcription : Facteur Nucléaire NFIA et C/EBPα qui régulent la maturation des granulocytes.

Ces trois acteurs, miR-223, NFIA et C/EBPα jouent un

rôle dans une boucle de régulation négative.

5.4. ASPECTS MORPHOLOGIQUES DE LA MONOPOÏÈSE

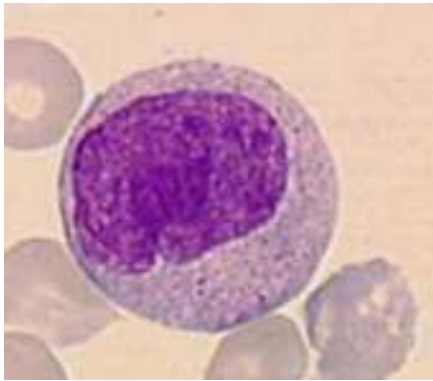
Le monoblaste est la première cellule morphologiquement identifiable de la lignée monoblastique. Chaque monoblaste se divise pour donner 2 promonocytes. Chaque promonocyte donne à son tour 2 monocytes.

5.4.1. LE MONOBLASTE

Sa taille est d'environ 20 microns. Il présente un noyau grossièrement arrondi, multinucléolé, à chromatine finement réticulée. Le cytoplasme, moyennement abondant, est basophile pouvant comporter quelques fines granulations azurophiles. La réaction de révélation de la peroxydase endogène est négative au niveau du cytoplasme du monoblaste.

5.4.2. LE PROMONOCYTE

Sa taille est proche de celle du monoblaste. Le noyau, de taille légèrement plus réduite, a un aspect souvent encoché et une chromatine légèrement condensée ; un ou 2 nucléoles sont notés. Le cytoplasme, assez abondant, est moins basophile et comporte parfois quelques fines granulations azurophiles. Les promonocytes et les monocytes présentent une réaction peroxydase positive au niveau de leur cytoplasme. Les monocytes ne consti-



tuent pas une population de réserve dans la moelle.

Fig 7 : Le promonocyte

6. LA THROMBOPOÏÈSE

La mégacaryocytopoïèse est l'ensemble des mécanismes de différenciation cellulaire qui conduisent à la production des plaquettes sanguines. La mégacaryocytopoïèse s'effectue dès la naissance dans la moelle osseuse. Les plaquettes sanguines résultent de la fragmentation cytoplasmique des mégacaryocytes médullaires arrivés à maturité. Le compartiment souche déterminé est représenté par des progéniteurs dits CFU-MK (morphologiquement non identifiables). Ces cellules sont à 2 N. Sur le plan morphologique, on peut décrire 4 stades successifs : le mégacaryoblaste, le mégacaryocyte basophile, le mégacaryocyte granuleux et le mégacaryocyte thrombocytaire.

6.1. ASPECTS MORPHOLOGIQUES DE LA MÉGACARYOCYTOPOÏÈSE

Les cellules du compartiment de prolifération :
Mégacaryoblaste → Promégacaryocyte → Mégacaryocyte

Ces cellules sont identifiables sur le frottis médullaire en microscopie optique et sont polyploïdes, leur ADN pouvant se dupliquer jusqu'à 64 N.

Au cours de la maturation, le noyau rond devient encoché puis polylobé, et la chromatine se condense.

6.1.1. LE MÉGACARYOBLASTE

En microscopie optique : La cellule mesure 15 à 30 microns de diamètre. Le noyau est rond ou indenté, multinucléolé. Le cytoplasme est peu abondant basophile non granuleux. Après une phase de prolifération des progéniteurs (mitoses classiques, cellules à 2n), les mégacaryoblastes ont la particularité de commuter leur système de mitose par un système d'endomitose qui conduit à l'augmentation de la ploïdie des cellules et parallèlement à l'accroissement de leur taille. L'endomitose correspond à la duplication de l'ADN sans division cytoplasmique concomitante. Ces endomitoses se font sans séparation du noyau, ce qui entraîne la production de cellules contenant un seul noyau polylobé. L'échelle de distribution des ploïdies s'étend de 4N à 64N, les 128N sont très rares. De la quantité d'ADN dépendrait la taille finale du cytoplasme et donc le nombre de plaquettes produites.

En microscopie électronique. Les granulations azurophiles sont en petit nombre.

6.1.2. LE MÉGACARYOCYTE BASOPHILE OU PROMÉGACARYOCYTE

* **En microscopie optique,** la cellule mesure 30 à 50 microns de diamètre le noyau est volumineux pourvu de nucléoles bien visibles le cytoplasme est abondant, basophile et comporte des granulations azurophiles.

* **En microscopie électronique,** le nombre de granules augmente ; L'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique sont développés et les polyribosomes sont nombreux.

Le premier signe de différenciation cytoplasmique permettant de reconnaître l'origine mégacaryocytaire de la cellule est l'apparition de membranes de démarcation à la périphérie du cytoplasme puis les membranes de démarcation s'étendent à tout le cytoplasme.

6.1.3. MÉGACARYOCYTE GRANULEUX

Le diamètre est encore plus important : 50 à 100 microns. Le noyau est très volumineux, aux contours complexes à la suite d'un processus de division nucléaire endomitotique au cours duquel les divisions nucléaires s'effectuent sans division cellulaire (noyau polyploïde) ; la chromatine est dense. Le cytoplasme est richement granuleux et acidophile. En microscopie électronique, les membranes de démarcation ont un développement considérable. Elles constituent les futures membranes plasmiques des plaquettes. Dans chaque territoire délimité par les membranes de démarcation on retrouve les constituants ultra structuraux d'une plaquette.

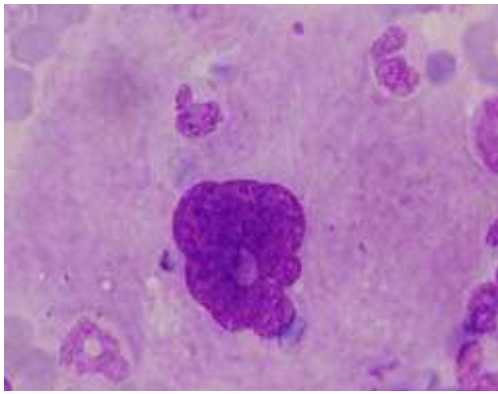


Fig 8 : Mégacaryocyte granuleux MO

6.1.4. LIBÉRATION DES PLAQUETTES À PARTIR DU MÉGACARYOCYTE THROMBOCYTOGÈNE

Des territoires apparaissent au sein des mégacaryocytes dans lesquels des membranes internes de démarcation délimitent les futures plaquettes. Le cytoplasme du mégacaryocyte arrivé à maturité devenu thrombocyto-gène émet de longs pseudopodes qui se fragmentent dans le courant sanguin libérant les plaquettes déjà délimitées par les membranes de démarcation. Un mégacaryocyte thrombocyto-gène libère environ 3000 plaquettes. Le noyau du mégacaryocyte thrombocyto-gène devient pycnotique et sera phagocyté dans la moelle osseuse et dans la rate.

Les cellules mégacaryocytaires suivent un processus de maturation jusqu'à la production des plaquettes sanguines. On distingue trois stades de maturation des mégacaryocytes : le mégacaryoblaste, le promégacaryocyte et le mégacaryocyte.

6.2. CINÉTIQUE DE LA MÉGACARYOCYTOPOÏÈSE

Le mégacaryoblaste est le stade où s'achève la duplication de l'ADN amenant la ploidie de la cellule jusqu'à 16 N et même 32N. Le mégacaryoblaste se divise par endomitose sans division cytoplasmique associée. Dans les conditions normales, la durée de la thrombopoïèse est de 8 à 10 jours. La durée de vie des plaquettes est de 7 à 10 jours.

6.3. RÉGULATION (TABLEAU N°1):

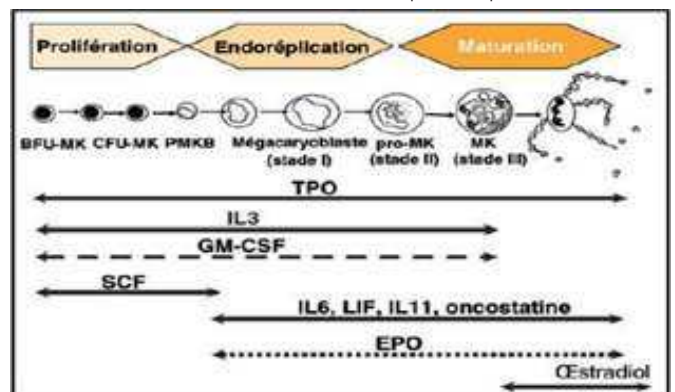
La thrombopoïèse est contrôlée par un facteur humoral : la thrombopoïétine. La quantité de la thrombopoïétine libre est régulée partiellement par le taux de plaquettes circulantes.

La thrombopoïétine (TPO) est une cytokine spécifique de la lignée mégacaryocytaire impliquée dans la prolifération, la différenciation et la maturation. La production est presque exclusivement assurée par le foie. Une petite quantité est assurée par le rein, le stroma médullaire et les poumons. Cette production est constitutive et ne dépend pas du taux de plaquettes.

La TPO agit en stimulant la croissance des progéniteurs CFU MK, la croissance et la différenciation des mégacaryocytes et la production de plaquettes. Elle exerce son activité après fixation sur son récepteur TPO-R ou Mpl. Celui-ci est présent à la surface des progéniteurs mégacaryocytaires, des précurseurs mégacaryocytaires et

des plaquettes. Après fixation de la TPO sur son récepteur, celui-ci se dimérise pour phosphoryler et activer les molécules JAK puis activer les STATS. Les voies de signalisation PI3K et ETS sont également mises en jeu. La transduction du signal va aboutir à la maturation des mégacaryocytes.

Les plaquettes fixent une partie de la TPO, or seule la TPO non liée circulante a la possibilité d'agir sur les MK. Ainsi si la masse plaquettaire circulante est forte (thrombocytose) la majorité de la TPO est fixée sur les récepteurs plaquettaires puis internalisée et dégradée laissant ainsi très peu de TPO libre pour agir sur les mégacaryocytes. Dans le cas contraire de thrombopénie, peu de TPO est



fixée par les plaquettes et une grande quantité de TPO est disponible pour agir sur les mégacaryocytes.

Fig 9 : Régulation de la thrombopoïèse

L'interleukine IL-11 joue également un rôle important en parallèle de la thrombopoïétine à différents niveaux de la production.

Au niveau des progéniteurs mégacaryocytaires précoces, l'interleukine IL-3, le GM-CSF et le G-CSF, le SCF et le LIF (Leukemia Inhibitor Factor) agissent positivement.

L'interleukine IL-6 agit essentiellement sur les précurseurs mégacaryocytaires, elle augmente les taux de TPO.

7. LYMPHOPOÏÈSE

La cellule souche déterminée dans le sens lymphoïde dérive de la cellule souche pluripotente et se localise dans la moelle osseuse. Les cellules souches lymphoïdes donnent naissance par différenciation à un progéniteur lymphoïde T qui va migrer dans le thymus, et à des progéniteurs lymphoïde B et NK qui vont rester dans la moelle osseuse. Contrairement à la lymphopoïèse T de localisation thymique qui régresse à la puberté, la différenciation B se poursuit tout au long de la vie.

7.1. LA MATURATION LYMPHOÏDE B À PARTIR DES PRÉCURSEURS B

caractérisée par sa localisation **exclusivement médullaire** chez l'adulte. Quatre stades de différenciation. Cette classification est corrélée avec le réarrangement des gènes d'Ig et l'expression de protéines de surface.

1. CELLULE PRO-B (PROGÉNITEURS B)

2. CELLULE PRÉ-B (PRÉCURSEURS B).

La prolifération et la différenciation des cellules pro-B en cellules pré-B requièrent le microenvironnement produit par les cellules stromales de la moelle osseuse.

La cellule Pré B est reconnaissable par immunocytochimie. Les lymphocytes pré-B expriment des **chaînes μ intra-cytoplasmiques** sans Ig de membrane. La chaîne lourde μ intracellulaire s'associe avec une chaîne légère inhabituelle pour former le récepteur pré-B ou pré-BCR.

3. LES CELLULES B IMMATURES.

L'étape suivante comporte la synthèse des chaînes légères kappa ou lambda associées à la chaîne lourde μ mais exprimées à la surface des lymphocytes. Au stade de **LB immatures**, il y a expression d'IgM de surface.

L'expression d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère confère à la cellule une spécificité donnée. Le récepteur à l'antigène (BCR pour « B Cell Receptor ») est devenu fonctionnel, remplace le récepteur pré-B et est constitué d'une IgM de surface.

Les lymphocytes B immatures sont sujets à un processus de sélection négative où les lymphocytes B possédant des immunoglobulines membranaires spécifiques pour les antigènes du soi sont éliminés par apoptose.

4. CELLULES B MATURES OU LYMPHOCYTES B NAÏFS

La coexpression d'immunoglobulines membranaires IgD et IgM caractérise les lymphocytes B matures. Le lymphocyte exprime à sa surface membranaire les deux chaînes lourdes μ et δ (IgM et IgD) associées à un seul type de chaîne légère. A ce stade, Le lymphocyte B mature ne garde qu'une immunoglobuline de surface avec une chaîne lourde et une chaîne légère kappa ou lambda. Ces lymphocytes B matures immunocompétents, dits «vierges» ou «naïfs», quittent la moelle osseuse pour gagner, via le sang, les zones B des organes lymphoïdes périphériques. C'est à ce niveau que surviendra la maturation B après contact avec l'antigène. La

phase dépendante des antigènes a lieu dans ces organes lymphoïdes.

Ces lymphocytes B naïfs sont des petits lymphocytes au cytoplasme peu abondants et à chromatine dense. Après rencontre de l'antigène et activation, une partie des lymphocytes B se différencie en cellules sécrétant des anticorps, les plasmocytes, le reste donne des lymphocytes B mémoires. Les plasmocytes n'ont pas d'Ig membranaires mais sécrètent de grandes quantités d'anticorps.

7. 2. LA MATURATION LYMPHOÏDE T À PARTIR DES PRÉCURSEURS T

La maturation se fait après passage obligatoire par le thymus. À leur arrivée au thymus, les progéniteurs lymphoïdes n'expriment pas de molécules de surface caractéristiques aux lymphocytes. A ce niveau, le contact des T immatures avec les cellules épithéliales du thymus assure une maturation fonctionnelle T aboutissant à des T matures qui quittent le thymus et gagnent par voie sanguine les zones T des organes lymphoïdes. Dans le thymus, la différenciation lymphocytaire T comprend 3 stades tous caractérisés par une forte prolifération :

- **le stade pro T**: CD3 exprimé au niveau intracytoplasmique pré-TcR.
- **le stade pré T** dans la zone corticale : formation du récepteur TCR pour « T-cell receptor ». Les molécules CD4 et CD8 sont co-exprimées en surface.
- Les **Lymphocytes matures** se situent dans la zone médullaire. En surface, elles expriment soit CD4 (fonction auxiliaire), soit CD8 (fonction cytotoxique). Le but de cette étape est que les cellules qui réagissent fortement avec les protéines du soi sont éliminées.

Cytokine	Cellules sécrétrices	Activité
GM-CSF (facteur stimulant la formation de colonies de granulocytes et de monocytes)	Endothélium, macrophages, précurseurs des lymphocytes T	Prolifération et activation des précurseurs des granulocytes et des monocytes ; prolifération des cellules pluripotentes
G-CSF (facteur stimulant la formation de colonies de granulocytes)	Monocytes, endothélium, fibroblastes	Prolifération et activation des précurseurs des granulocytes
M-CSF (facteur stimulant la formation de colonies de monocytes)	Endothélium, monocytes, fibroblastes, ossements	Prolifération et activation des précurseurs des monocytes
Facteur des cellules souches (stem cell factor)	Cellules de soutien de la moelle, cellules endothéliales, fibroblastes	Prolifération des progéniteurs précoces et déterminés, en synergie avec d'autres cytokines
EPo	Rein, foie	Prolifération des précurseurs érythroïdes et mégacaryocytaires
IL-1	Monocytes, endothélium, fibroblastes	Provoque l'entrée des cellules souches dans le cycle de division cellulaire ; induit la sécrétion de G-CSF, GM-CSF, M-CSF ; libération de polymucides neutrophiles par la moelle
IL-2	Lymphocytes T	Prolifération et activation des lymphocytes T et NK et des monocytes
IL-3	Lymphocytes T	Prolifération des cellules souches hématopoïétiques, précoces et déterminées, en particulier des mégacaryocytes
IL-5	Lymphocytes T	Prolifération et activation des précurseurs des polymucocytaires éosinophiles et basophiles
IL-6	Monocytes, fibroblastes, lymphocytes T	Induit la prolifération des cellules souches, en particulier des progéniteurs des mégacaryocytes
IL-8	Endothélium, monocytes, fibroblastes	Activation des neutrophiles
IL-9	Monocytes	Prolifération des précurseurs érythroïdes et mastocytaires, maturation des mégacaryocytes
IL-11	Fibroblastes	Prolifération des progéniteurs monocytaires et de progéniteurs précoces et déterminés

TESTS D'ÉVALUATION

Question 1 :

- A- La cellule souche multipotente hématopoïétique est une cellule facilement identifiable sur un frottis médullaire de part sa taille anormalement grande
 - B- Si quelques heures avant une irradiation on injecte à des souris des cellules médullaires, ces mêmes souris survivent
 - C- L'hématopoïèse extra embryonnaire se déroule de la 3ème semaine à la fin du 2ème mois de la vie embryonnaire
 - D- La cellule souche myéloïde peut donner naissance à des globules rouges, des globules blancs et des lymphocytes
 - E- Toutes les maturations cellulaires décrites lors de l'hématopoïèse sont sous la dépendance de facteurs de croissance.
-

Question 2 :

- A- Le monocyte est une cellule à chromatine dite peignée dérivant directement d'un monoblaste
 - B- Les monocytes sont des cellules aux granulations azurophiles pouvant donner des macrophages ou encore des ostéoclastes
 - C- La bourse de Fabricius est un organe permettant le développement des lymphocytes B.
 - D- La maturation médullaire des monocytes est de l'ordre de 3 jours environ.
 - E- Le GM-CSF est un facteur de croissance nécessaire à la maturation des monocytes et des polynucléaires.
-

1-CE
2-BCE

RÉPONSES

PCEM1

**THÈME VI :
LE MILIEU INTÉRIEUR
HÉMATOLOGIE**

PHYSIOLOGIE DE L'HÉMOSTASE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Définir l'hémostase et ses différentes étapes
 2. Expliquer les mécanismes de la formation du clou plaquettaire
 3. Schématiser la représentation classique de l'activation de la coagulation
 4. Expliquer le déroulement de la coagulation selon la conception actuelle
 5. Expliquer le rôle central de la thrombine dans l'hémostase
 6. Citer les facteurs activateurs de la coagulation
 7. Citer les inhibiteurs physiologiques de la coagulation
 8. Préciser les niveaux d'action des inhibiteurs de la coagulation
- schématiser l'activation de la fibrinolyse

1- INTRODUCTION

L'hémostase regroupe les différents mécanismes qui assurent d'une part la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire et d'autre part la prévention des thromboses en maintenant le sang à l'état fluide dans les vaisseaux. Cette fonction physiologique essentielle à la vie nécessite l'intervention de plusieurs facteurs: les vaisseaux ; les plaquettes ; le système de la coagulation et le système fibrinolytique.

Une anomalie congénitale ou acquise au niveau de l'un ou de plusieurs de ces 4 facteurs peut entraîner des manifestations hémorragiques ou au contraire thrombotiques.

L'hémostase est mise à l'épreuve plusieurs fois par jour à l'occasion de ruptures spontanées de fins vaisseaux (par microtraumatismes), mais chez le sujet normal, l'arrêt rapide du saignement explique l'absence de traduction clinique.

L'hémostase comprend trois temps qui sont intimement intriqués (figure 1):

- L'hémostase primaire ou temps vasculo-plaquettaire, qui aboutit à la formation d'un thrombus blanc ou clou plaquettaire et assure un arrêt transitoire du saignement
- La coagulation, qui vient consolider le clou plaquettaire par un réseau de fibrine et permet une hémostase définitive
- La fibrinolyse, qui assure la dégradation de la fibrine et permet de dissoudre le thrombus limitant son extension

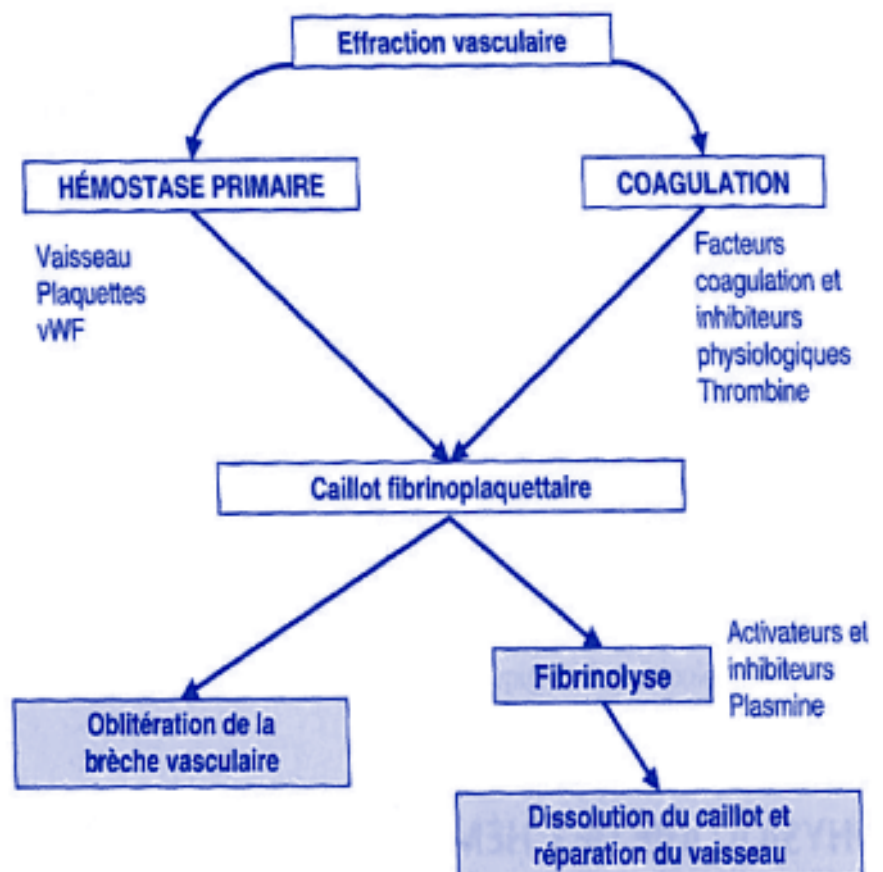


Figure 1 : Les trois étapes de l'hémostase

(Dans : Hémorragies et thromboses, M.-M. Samama et al)

2. LES FACTEURS DE L'HÉMOSTASE

2.1 HÉMOSTASE PRIMAIRE

Elle fait intervenir quatre acteurs principaux : le vaisseau, les plaquettes, le facteur von Willebrand et le fibrinogène.

2.1.1 LE VAISSEAU

L'endothélium vasculaire possède des propriétés antithrombotiques, car il prévient l'activation des plaquettes et des facteurs de la coagulation.

Le sous-endothélium est, à l'inverse, une surface thrombogène. Le collagène, la membrane basale, la fibronectine, l'élastine peuvent en effet activer les plaquettes.

2.1.2 LES PLAQUETTES

Ce sont des cellules anucléées en forme de disque de 2 à 4 µm au repos. Elles contiennent différents types de granules dont le contenu sera sécrété lors de l'activation plaquettaire via un système canaliculaire ouvert sur l'extérieur. La membrane est formée d'une bicouche phospholipidique et possède des récepteurs pour un certain nombre de molécules en particulier : la Glycoprotéine Ib récepteur du facteur von Willebrand et la Glycoprotéine IIb/IIIa récepteur du fibrinogène (figures 2).

Les plaquettes se disposent en amas sur le frottis de sang prélevé au bout du doigt. La constatation de ces amas est très importante, car elle constitue une preuve de leur valeur fonctionnelle.

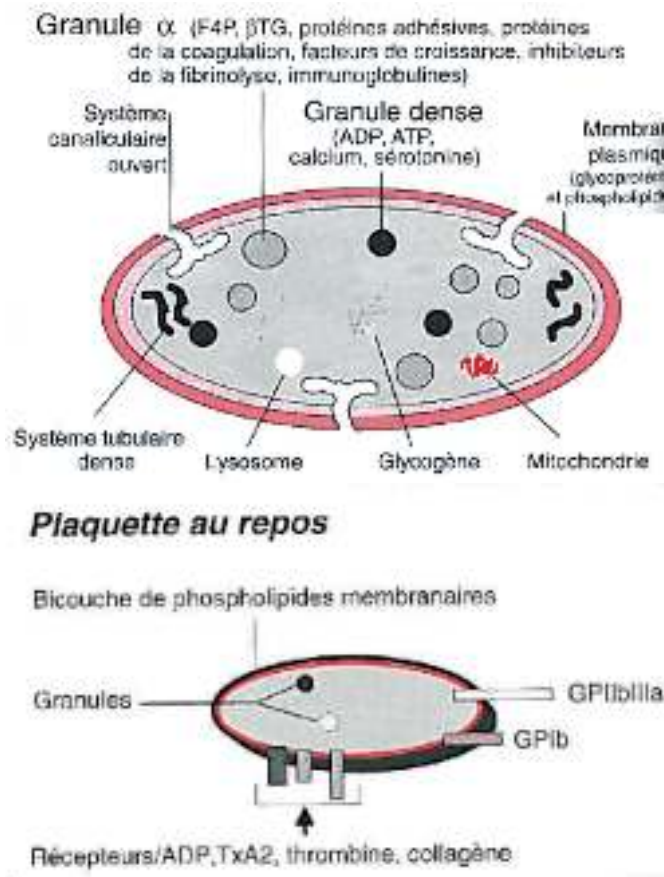


Figure 2 : Structure de la plaquette

(Dans : La thrombose veineuse et ses traitements, M Aiach et al)

2.1.3 LE FACTEUR VON WILLEBRAND (VWF)

Le vWF est une protéine multimérique synthétisée par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. On le retrouve dans le plasma, le sous-endothélium et les granules alpha des plaquettes. Le vWF a un double rôle : il permet l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium et assure le transport du facteur VIII (facteur anti-hérophilique A) au site de lésion vasculaire ainsi que sa protection de la dégradation enzymatique.

2.1.4 LE FIBRINOGENÈ

C'est une glycoprotéine plasmatique soluble synthétisée par le foie. Il est le substrat d'une enzyme clé, la thrombine qui le transforme en fibrine insoluble (étape ultime de la coagulation).

Le fibrinogène joue un rôle important dans l'agrégation des plaquettes activées. Il se fixe simultanément sur les récepteurs IIb/IIIa de deux plaquettes différentes formant ainsi des ponts entre les plaquettes qui s'agrègent.

2.2 LA COAGULATION

2.2.1 LES FACTEURS DE LA COAGULATION

Ils sont au nombre de 10 auxquels on ajoute la prékallicrine (PK) et le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM), impliqués dans la phase contact (tableau 1). Ce sont des glycoprotéines synthétisées par le foie qui sont classées au plan fonctionnel en 3 groupes :

- Les pro-enzymes ou précurseurs d'enzymes : facteurs II, VII, X, IX, XI, XII, XIII et PK
- Les cofacteurs : facteurs V, VIII et KHPM. Ce sont des accélérateurs des réactions enzymatiques
- Simple substrat : le fibrinogène (I)

La forme activée d'un facteur est désignée par le suffixe « a » (exemple : V activé = Va)

2.2.2 LES PHOSPHOLIPIDES ANIONIQUES

Ils constituent des surfaces catalytiques permettant la fixation et l'interaction des protéines de la coagulation entre elles. Ils sont exposés par les plaquettes, mais aussi par d'autres cellules telles que les leucocytes ou les cellules endothéliales. Ils sont appelés, par habitude, « facteur 3 plaquettaire » (F3P).

2.2.3 LE FACTEUR TISSULAIRE OU THROMBOPLASTINE TISSULAIRE

C'est une lipoprotéine libérée par les tissus suite à des traumatismes. Il peut être exprimé par les cellules endothéliales lésées ou activées ou à la surface des monocytes activés.

Tableau 1 : Facteurs de la coagulation avec leurs principales caractéristiques

Nom usuel	Facteur	Lieu de synthèse	Utilité de la vit K	De-mi-vie
Fibrinogène	I	Foie	0	3-5 jours
Prothrombine	II	Foie	+	3-4 jours
Proaccéléline	V	Foie	0	15-24 h
Proconvertine	VII	Foie	+	4-6 h
Facteur antihérophilique A	VIII	Foie ganglions, rate, reins	0	12-18 h
Facteur antihérophilique B	IX	Foie	+	18-30 h
Facteur Stuart	X	Foie	+	40-50 h
Facteur Rosenthal	XI	Foie	0	60 h
Facteur Hageman	XII	Foie	0	48-60 h
Facteur stabilisant de la fibrine	XIII	Foie	0	4-8 jours

2.2.4 LES INHIBITEURS PHYSIOLOGIQUES DE LA COAGULATION

Ils assurent la régulation de la coagulation en limitant le processus de coagulation. Ils sont représentés par l'antithrombine, le système protéine C/protéine S et le TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor)

2.3 LA FIBRINOLYSE

Les facteurs impliqués dans la fibrinolyse sont le plasminogène, la plasmine, les activateurs du plasminogène et les inhibiteurs du système fibrinolytique.

3. DÉROULEMENT DE L'HÉMOSTASE

3.1 DÉROULEMENT DE L'HÉMOSTASE PRIMAIRE

L'hémostase primaire est mise en jeu rapidement après une **brèche vasculaire** qui met à nu les structures sous-endothéliales. Elle se déroule schématiquement en deux temps :

3.1.1 LE TEMPS VASCULAIRE

Il correspond à une vasoconstriction réflexe immédiate, mais transitoire des petits vaisseaux lésés, secondaire à la libération par les plaquettes au niveau de la lésion d'adrénaline, de noradrénaline, de sérotonine et de thromboxane A2. Cette vasoconstriction favorise l'interaction entre les plaquettes et le sous-endothélium vasculaire.

3.1.2 LE TEMPS PLAQUETTAIRE (figure 4)

Le contact des plaquettes avec les structures sous-endothéliales (adhésion) entraîne leur activation.

a- L'adhésion des plaquettes

Les plaquettes adhèrent aux structures sous endothéliales et en particulier au collagène par l'intermédiaire

du facteur Willebrand. Cette adhésion n'est possible que si le facteur Willebrand se fixe sur un récepteur de la membrane plasmique plaquettaire, la glycoprotéine Ib.

b- L'activation plaquettaire

Elle va se traduire par les événements suivants :

- Changement de forme : la plaquette, discoïde au repos, va devenir sphérique, émettre des pseudopodes et centraliser ses granules.
- Réaction sécrétoire ou « release » : le contenu des granules denses (ADP, ATP, sérotonine, Ca++) et des granules alpha (fibrinogène, vWF, facteur 4 plaquettaire...) va être libéré dans le milieu extérieur.
- Synthèse du thromboxane A2, puissant agent agrégant et vasoconstricteur.
- Réarrangement des phospholipides de la membrane plaquettaire : certains phospholipides anioniques (pro-coagulants) vont passer du feuillet interne au feuillet externe de la membrane plasmique permettant la fixation des facteurs de la coagulation.

c- L'agrégation plaquettaire

C'est l'accolement des plaquettes les unes aux autres pour former un agrégat cellulaire. La libération d'ADP, de thromboxane A2 et de sérotonine par les plaquettes adhérentes aux sous-endothéliums permet un recrutement de nouvelles plaquettes circulantes in situ qui vont alors s'accrocher aux premières plaquettes adhérentes et le thrombus plaquettaire s'accroît.

L'agrégation plaquettaire, d'abord réversible, devient irréversible en présence de thrombine. Elle fait intervenir :

- le fibrinogène qui relie les plaquettes entre elles
- un complexe glycoprotéique de la membrane plaquettaire : la glycoprotéine IIb-IIIa qui devient un récepteur du fibrinogène en présence de calcium, après une activation plaquettaire.

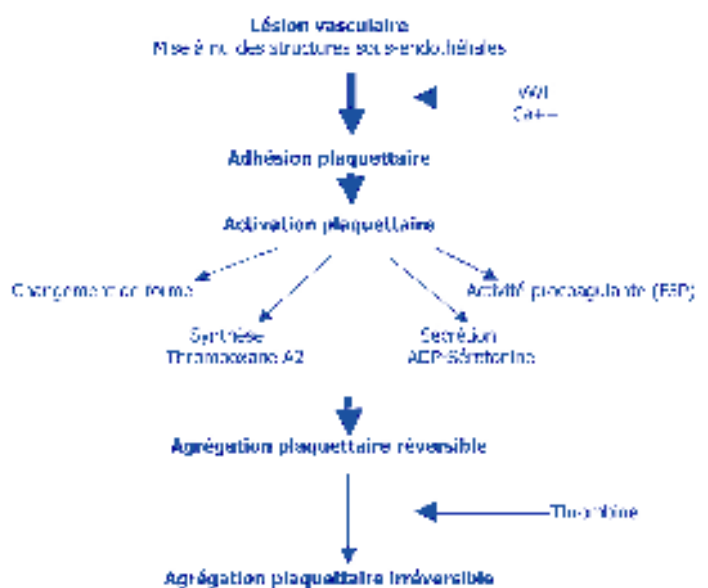


Figure 4 : Temps plaquettaire

3.4 DÉROULEMENT DE LA COAGULATION

La coagulation a pour but de former un thrombus solide. C'est la transformation d'un liquide, le plasma, en un gel. Ce phénomène est dû à la transformation du fibrinogène

soluble en fibrine insoluble sous l'action de la thrombine. La production de thrombine résulte d'un enchaînement de réactions enzymatiques en cascade qui se déroulent à la surface des phospholipides membranaires des plaquettes essentiellement.

3.4.1 REPRÉSENTATION CLASSIQUE DE LA COAGULATION (figure 5)

Elle distingue deux voies d'activation de la coagulation : la voie intrinsèque et la voie extrinsèque.

a- La voie intrinsèque

L'initiation de cette voie se fait par le contact du sang avec les structures sous-endothéliales. Cette étape, appelée phase contact, fait intervenir le kininogène de haut poids moléculaire, la prékallikréine et le facteur XII. Ce dernier, activé, va lui-même activer le facteur XI en présence d'ions Ca^{++} . En présence du XIa, le facteur antihémostatique B (IX) est à son tour activé en IXa. Il se forme alors un premier complexe à la surface de la membrane plaquettaire, capable d'activer le facteur X en Xa («tenase» des anglosaxons). Ce complexe fait intervenir le IXa, le Ca^{++} , le facteur 3 plaquettaire et un cofacteur qui est le facteur VIII activé par les premières traces de thrombine.

b- La voie extrinsèque

La paroi vasculaire contient de la thromboplastine tissulaire capable d'activer, en présence de Ca^{++} , le facteur VII en facteur VIIa. Celui-ci active très rapidement le facteur X en Xa.

c- La voie commune

Le facteur Xa fixé à la surface des phospholipides d'origine tissulaire (fraction lipidique de la thromboplastine tissulaire qui est une lipoprotéine) ou d'origine plaquettaire (facteur 3 plaquettaire) va, en présence de facteur Va, et de calcium constituer la prothrombinase. Le fac-

teur Va provient du facteur V activé par la thrombine. La prothrombinase est un complexe enzymatique faisant intervenir le Xa, le Va, le Ca^{++} et des phospholipides. Il existe donc une similitude avec le complexe activateur du facteur X.

La prothrombinase permet la formation de thrombine (IIa) à partir de la prothrombine (II). La thrombine transforme le fibrinogène en fibrine.

3.4.2 REPRÉSENTATION ACTUELLE DE LA COAGULATION (Figure 6)

Selon la conception actuelle de la coagulation, l'élément déclenchant du processus de coagulation in vivo est le facteur tissulaire. Ainsi « la voie extrinsèque » démarre in vivo la génération de thrombine tandis que « la voie intrinsèque » assure la persistance de la génération de thrombine. De ce fait le processus de coagulation in vivo peut se décomposer en trois phases : une phase d'initiation de la coagulation par le facteur tissulaire, une phase d'amplification du processus et une phase de propagation.

a- Phase d'initiation de la coagulation

La coagulation est initiée par le complexe FT-FVIIa qui active à la fois le facteur IX et le facteur X. Les facteurs IXa et Xa activent respectivement le facteur X et le facteur II. Cette phase permet la formation des premières traces de thrombine.

b- Phase d'amplification

La thrombine générée amplifie immédiatement sa propre formation :

- elle active les cofacteurs VIII et V, leur permettant de remplir leur fonction : le facteur VIIIa accélère l'activation du facteur X par le facteur IXa, le facteur Va accélère l'activation du facteur II par le facteur Xa.
- elle active le facteur XI renforçant les réactions qui mènent à sa propre production.

- elle active les plaquettes

Le facteur XI est également activé par la phase contact (PK, KHPM et facteur XII). Le rôle de cette voie d'activation (voie intrinsèque) est mineurs et les déficits même sévères en facteur XII, PK ou KHPM n'entraîne pas d'augmentation du risque hémorragique.

c- Phase de propagation

Elle entraîne la génération de grandes quantités de thrombine qui active en boucle de rétrocontrôle les facteurs V, VIII, XI et les plaquettes et protéolyse le fibrinogène.

La fibrinoformation se fait en 3 étapes (figure 7) :

- Action de la thrombine qui hydrolyse la molécule de fibrinogène en fibrinopeptides A et B et monomères de fibrine.
- Polymérisation spontanée des monomères de fibrines qui vont s'associer entre eux par des liaisons hydrogène formant des molécules de fibrine soluble.

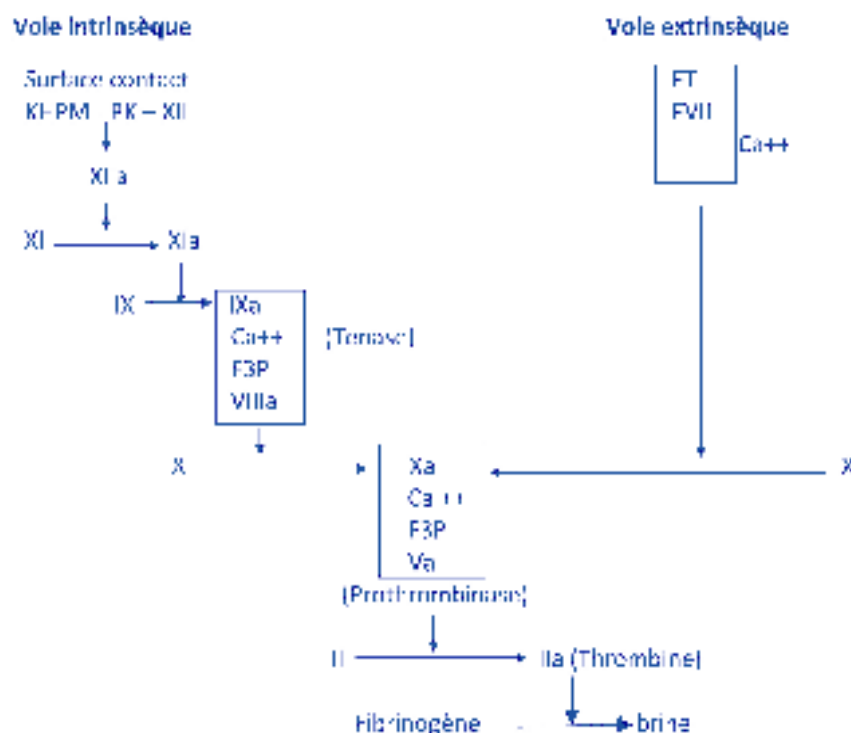


Figure 5 : Schéma classique de la coagulation

- Action du facteur XIII qui, activé par la thrombine (XIIa), transforme les liaisons hydrogène en liaisons covalentes formant ainsi la fibrine insoluble

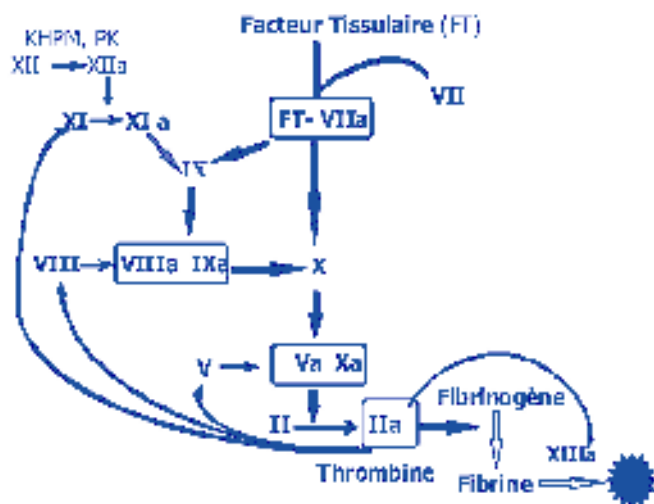


Figure 6 : Schéma actuel de la coagulation
(d'après J F Schved)

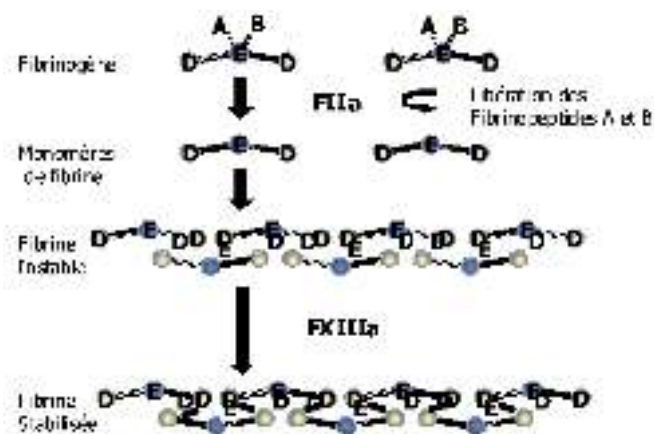


Figure 7 : Étapes de la fibrinoformation
(d'après J F Schved)

3.4.3 RÉGULATION DE LA COAGULATION

Une fois le processus de coagulation déclenché, la génération de thrombine serait infinie s'il n'y avait pas d'inhibiteurs physiologiques de la coagulation. Ces inhibiteurs interviennent de façon que la formation de thrombine soit un phénomène localisé à la brèche vasculaire et limitée dans le temps.

a- L'antithrombine

Elle est synthétisée par le foie, elle inhibe les enzymes de la coagulation essentiellement la thrombine (IIa) et le facteur Xa et à un moindre degré les facteurs XIIa, IXa et XIa. L'action de l'antithrombine est immédiate en présence d'héparine.

b- Le système protéine C/protéine S

Les protéines C et S sont synthétisées par le foie en présence de vitamine K. La protéine C activée inhibe les facteurs Va et VIIIa, en présence de son cofacteur la protéine S. La protéine C étant activée par la thrombine en présence de thrombomoduline (cellule endothéliale).

c- Le TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor)

C'est un inhibiteur du facteur VIIa en présence du facteur Xa.

3.5 DÉROULEMENT DE LA FIBRINOLYSE

La fibrinolyse (figure 8) est le processus qui entraîne la dissolution progressive de la fibrine formée au niveau de la brèche vasculaire permettant ainsi de prévenir le dépôt excessif de fibrine et de repermeabiliser le vaisseau. Il s'agit d'un processus localisé au niveau du caillot de fibrine.

Il fait intervenir le plasminogène, globuline plasmatique synthétisée par le foie. Sous l'action d'activateurs plasmatiques ou tissulaires, le plasminogène est activé en une enzyme protéolytique, la plasmine. La plasmine dégrade la fibrine en produits de dégradation solubles : PDF. Dans certaines circonstances pathologiques, le fibrinogène est également dégradé par la plasmine en PDF. La dénomination PDF regroupe les produits de dégradation de la fibrine et/ou du fibrinogène.

Les D-Dimères (D-Di) sont une variété particulière de PDF spécifiques de la fibrine provenant de la dégradation de la fibrine stabilisée par le facteur XIII.

Les activateurs du plasminogène sont l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA) synthétisé par la cellule endothéliale, l'urokinase (UK) et le système contact. Les activateurs de la fibrinolyse présentent un intérêt thérapeutique majeur, car ils sont utilisés comme agents thrombolytiques au cours de certains accidents thrombotiques graves en particulier l'infarctus du myocarde.

Le système de la fibrinolyse est régulé par plusieurs inhibiteurs qui sont essentiellement soit des anti-activateurs du plasminogène soit des anti-plasmines. Les principaux inhibiteurs sont l'inhibiteur de l'activateur tissulaire du plasminogène de type 1 (PAI-1), l' α_2 -antiplasmine (α_2 -AP) qui est un puissant inhibiteur de la plasmine et le TAFI (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor).

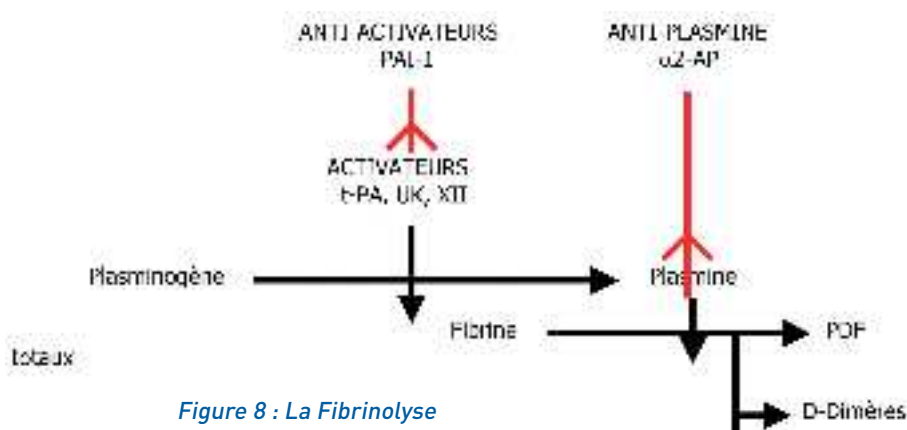


Figure 8 : La Fibrinolyse

4. CONCLUSION

Les systèmes de la coagulation et de la fibrinolyse constituent une balance hémostatique en équilibre parfait à l'état physiologique. Chacun de ces deux systèmes est sous la dépendance d'activateurs et d'inhibiteurs dont les variations, en pathologie, peuvent entraîner un déséquilibre de la balance hémostatique et entraîner, selon le cas, des accidents hémorragiques ou au contraire thrombotiques.