

EXPLORATION DU METABOLISME DES PROTEINES PLASMATIQUES

1/INTRODUCTION

Les protéines représentent la plus grande partie des matières solides du plasma. En dehors du fibrinogène, protéine fibreuse, ce sont toutes des protéines globulaires.

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

2/METHODES D'EXPLORATION DES PROTEINES

Elles reposent sur les propriétés fondamentales des protéines :

- liaison peptidique CO-NH méthodes chimiques.
- caractère amphotère techniques électrophorétiques.
- caractère immunogène techniques basées sur la réaction Ag-Ac.

→PRELEVEMENT : sur sérum obtenu à partir de sang veineux prélevé à jeun.

2.1/DOSAGES PROTEIQUES

☒ Dosage des protéines totales : par spectrophotométrie réaction du **biuret** plus ou moins modifiée pour s'adapter aux analyseurs biochimiques multiparamétriques.

Taux normal : 65-80g/l

☒ Dosage des protéines : **les dosages isolés** : toutes les protéines peuvent être dosées individuellement, par des méthodes immunométriques. Leur dosage est habituellement demandé à l'occasion d'un syndrome ou d'une maladie particulière.

Sur le plan technique, diverses méthodes sont utilisables : - dosage turbidimétrique ou nephelométrique laser après immuno précipitation.

Dosage radio-immunologique avec marqueur isotopique.

Dosage avec marqueur enzymatique, composé chimiluminéscent.

Le profil protéique : le dosage isolé d'une protéine est difficile à corrélérer à une pathologie précise, pour plusieurs raisons : - les protéines peuvent exprimer plusieurs fonctions physiologiques de sorte que c'est la représentation graphique des dosages de plusieurs protéines, exprimés en g/l ou mieux en pourcentage de la normale en fonction de l'âge et du sexe du sujet.

Deux types de profils peuvent être envisagés :

1/ Un profil élargi, à 8 ou 10 protéines, dit d'orientation comportant une série de protéines très différentes en ce qui concerne leur origine, demi vie, leur fonctions ou leur régulation.

Ce type de bilan est destiné à mettre en évidence un maximum d'information biologique utile au diagnostic ou au dépistage de complications. Il sera toujours accompagné d'une électrophorèse.

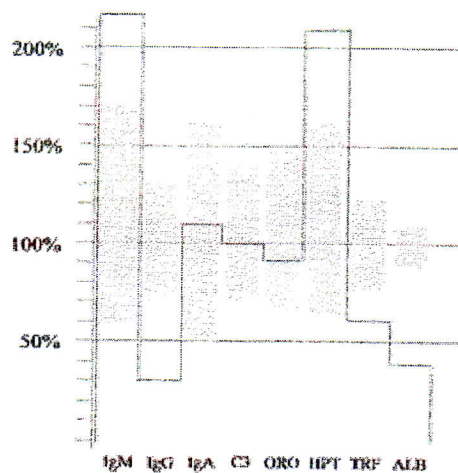
INDICATIONS DU PROFIL ELARGI : - caractériser la nature et l'étiologie d'une anémie.

- préciser la fuite protéique en cas d'entéropathie exsudative ;
- débrouiller des hypothèses diagnostiques suggérées par une VS accélérée, une fièvre prolongée, une altération inexplicquée de l'état général des algies diffuses avec ou sans syndrome inflammatoire

clinique.

-mettre en évidence un déficit immunitaire au cours d'infections chroniques ou récidivantes.

2/ Profil minimum ou ciblé, de 2 à 3 protéines, destiné essentiellement au suivi évolutif d'un syndrome inflammatoire, d'une intervention, d'un état de dénutrition profonde ou d'une hémolyse chronique.



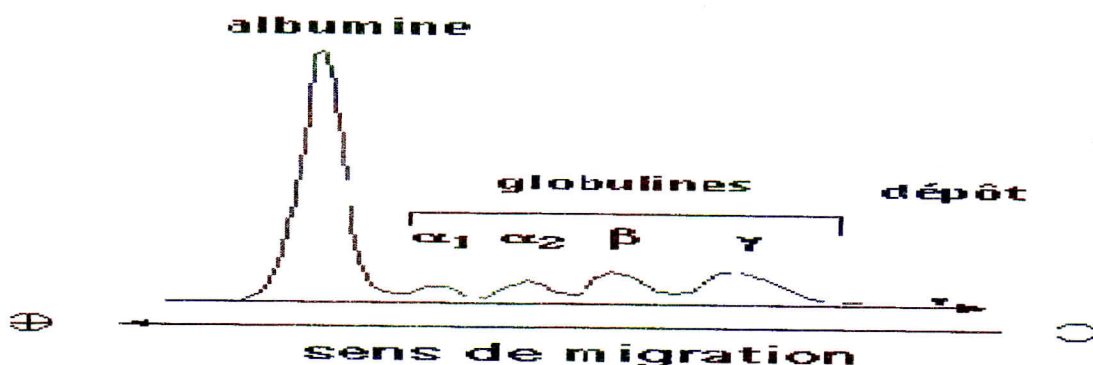
■ ELECTROPHORESE DES PROTEINES PLASMATIQUES :

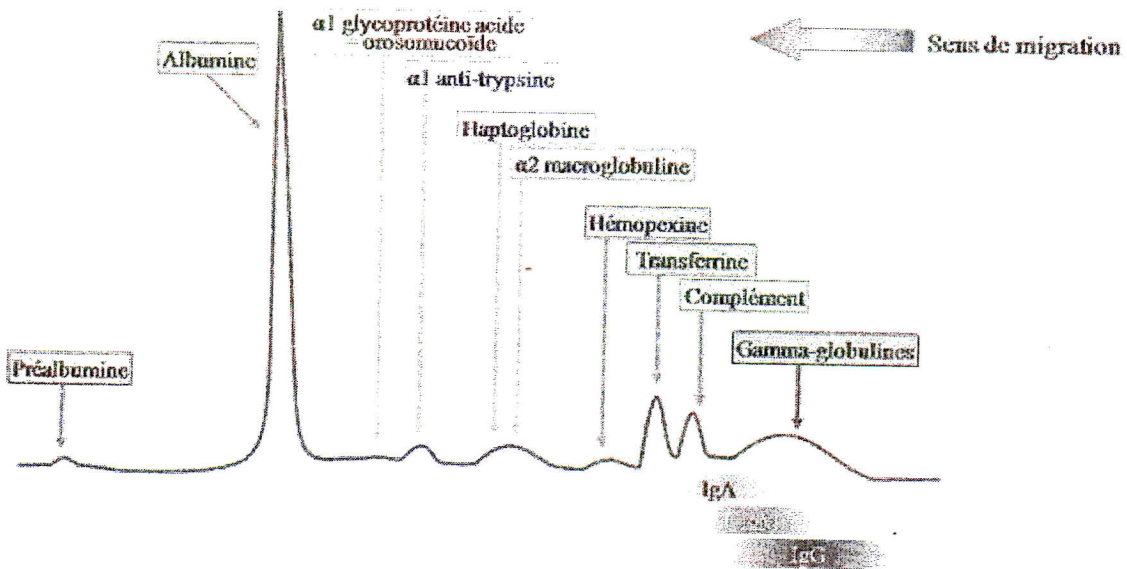
L'électrophorèse consiste à faire migrer et à fractionner grâce à un champ électrique, au sein d'un milieu variable et dans un tampon de PH déterminé, les protéines séparées par leur charge électrique.

Le choix du support est essentiel, le tampon généralement à PH 8,6 auquel les protéines s'ionisent comme des anions, migrant donc vers l'anode, à laisser migrer durant un temps variable puis fixation et coloration après transpiration du support, la lecture photo densitométrique de chaque bande colorée donne le tracé classique ou apparaissent les 5 pics : albumine, α_1 , α_2 , β et gamma globulines.

Les valeurs de référence des différentes fractions de l'électrophorèse :

α_1 globuline : 1 – 3g/l α_2 globuline : 3 – 6g/l β globuline : 6 – 9g/l γ globuline : 9 – 14g/l





ELP DE HAUTE RESOLUTION

1/ ETUDE DESCRIPTIVE DES PRINCIPALES PROTEINES SERIQUES :

1.1/ Groupe des albumines : Pré albumine (PA) et Rétinol-binding protein (RBP).

Complexe appartenant aux fractions mineurs (<1% des protéines) le plus anodique à l'électrophorèse. Ce sont des holoprotéines très riches en tryptophane. Protéines de petite taille PA=55KDa RPB : 21K. Leur synthèse est hépatique.

Rôle biologique : fonction de transport plasmatique

PA : fixation et transport des hormones thyroïdiennes appelée aussi la transthyréline.

La RBP : assure la fixation et le transport plasmatique de la vitamine A. Le complexe PA-RBP se dissocie en deux composants quand le rétinol est capté par les cellules cibles.

Le dosage se fait par immuno-néphélométrie ou IDR.

Ce sont des marqueurs de **dénutrition**.

Albumine (ALB) : protéine majeure du plasma (38 à 48 g/l) holoprotéine, taille relativement faible PM : 66KDa, lieu de synthèse principalement le foie.

Rôle de transport de différents ligands comme les métaux, les ac gras, les stéroïdes, les médicaments. Rôle dans le maintien de la pression oncotique du plasma.

1.2/ Groupe des alpha-1- Globulines : groupe hétérogène comportant, α_1 antitrypsine, orosomucoïde, α_1 anti-chymotrypsine, α_1 lipoprotéine.....

☑ Alpha-1-antitrypsine (α_1 -AT) : est le constituant principal des α_1 , (90%), protéine positive de la réaction inflammatoire (PRI+), action anti protéasique. (se lie aux enzymes protéolytiques pour les inactiver)

Synthèse hépatique, présente un grand polymorphisme génétique, demi-vie biologique de 5js.

Valeurs usuelles : 0,8- 2,0g/l

- ☐ OROSOMUCOÏDE ou α_1 glycoprotéine acide : protéine à caractère très acide
synthèse et catabolisme hépatique, demi-vie de 2 à 3js, rôle mal connu
- ☐ α_1 anti-chymotrypsine : anti protéase

1.3/ Groupe des α_2 globulines : regroupe l'haptoglobine, l' α_2 macroglobuline, la céruloplasmine.

- ☐ Haptoglobine : protéine de l'inflammation, synthèse est surtout hépatique, demi-vie est de 3 à 5js
Le catabolisme est hépatique et dans les macrophages, rôle biologique : combinaison à l'Hb.
- ☐ α_2 macroglobuline : macro glycoprotéine, anti protéase, PRI+
Valeurs de référence : 2 à 3,5g/L.
- ☐ La céruloplasmine : riche en cuivre c'est une oxydase dans laquelle le cuivre est un cofacteur.
Rôle biologique est le transport du cuivre.

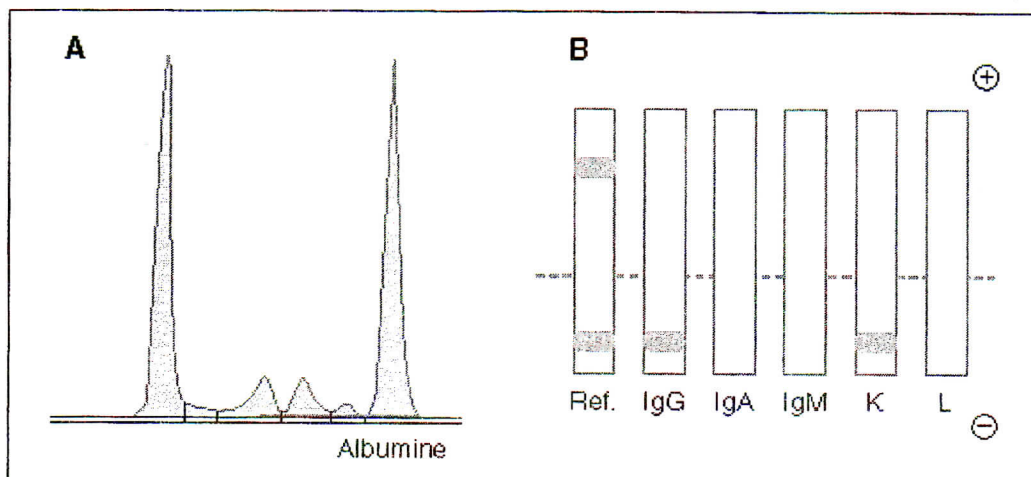
1.4/ Groupe des bêta globulines : regroupe la transferrine, CRP, les fragments du complément (C3, C4), fibrinogène.....

- ☐ Transferrine : PM relativement faible, taux usuels : 1,5 à 3 g/l transporte le fer.
- ☐ CRP : PRI+++ marqueur précoce de l'inflammation, sa concentration est < 5mg/l
demi-vie très courte 24 heures (témoin précoce de l'efficacité thérapeutique, lors d'une antibiothérapie).

1/5 Groupe des gammaglobulines : support de l'immunité humorale.

- Les Igs sont synthétisées par les plasmocytes, on distingue les IgG, IgA, IgM, IgD, et IgE
- Structure générale est de type H2L2 (2 chaînes lourdes et 2 chaînes légères)
- Les trois premières sont quantitativement les plus importantes.

IMMUNOELECTROPHORESE et IMMUNOFIXATION : combine les principes de l'électrophorèse des protéines et de l'immunodiffusion après séparation des protéines, on dépose les anticorps (immun sérum : antiprotéines plasmatiques humaines spécifiques dans la gouttière à l'axe de migration. La rencontre Ag-Ac se traduit, après diffusion, par un arc de précipitation.



↑
IF d'un cas de myélome (IgG K)

NB la recherche de protéines peut se faire dans différents liquides (LCR, urines, liquide pleural, ascite.....etc) but : orienter le diagnostic étiologique.

ETUDE de la PROTEINURIE

Au-delà de la protéinurie physiologique < à 150mg/24h, la protéinurie est pathologique et elle constitue un marqueur sensible et précoce de toute affection rénale. Son étude apporte un complément non négligeable au dossier clinique et biologique. En effet, d'une part la quantité de protéines éliminées dépend de l'étiologie et de la gravité des lésions et d'autre part la nature de ces protéines ainsi que leurs proportions renseignent sur la localisation de l'atteinte rénale, glomérulaire, tubulaire ou mixte.

☐ Le dosage des protéines urinaires, détectés par la positivité de la bandelette spécifique est toujours difficile.

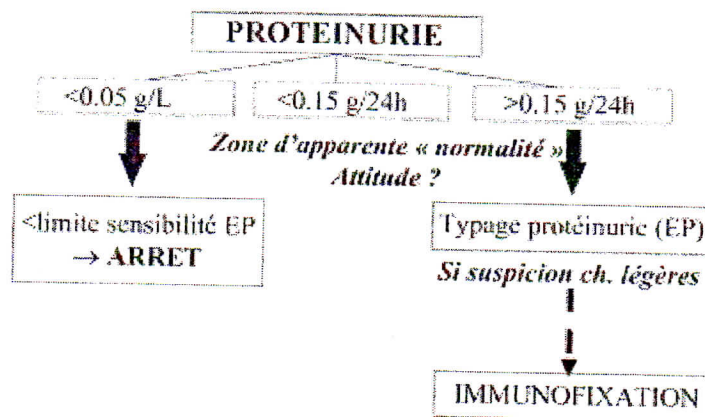
☐ L'électrophorèse des urines : méthode de choix, permet de visualiser toutes les protéines présentes, nécessitant toujours une concentration préalable.

☐ L'étude qualitative de la protéinurie permet de définir de la classer en fonction de son origine.

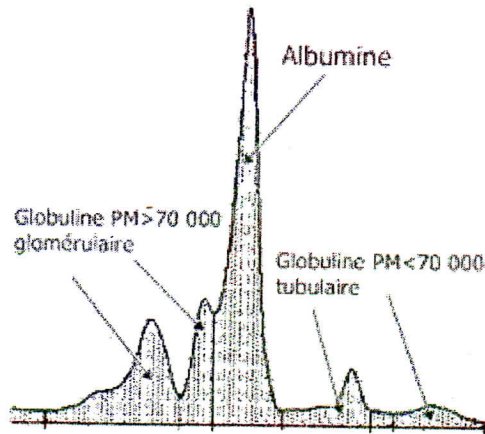
* **protéinurie tubulaire** : comportant peu d'albumine, mais toutes les globulines du sérum.

* **protéinurie glomérulaire sélective** : protéines de bas poids moléculaires : albumine 80% et un pic transferrine.

* **protéinurie glomérulaire non sélective** : dans laquelle toutes les protéines du plasma sanguin peuvent être représentées.



Electrophorèse urinaire



Albumine : 2.25 g/l
Globuline PM > 70000 : 1.68 g/l
Globuline PM < 70000 : 0.47 g/l

VARIATIONS PATHOLOGIQUES

Des hypo et hypéprotéïnémies peuvent être rencontrées

A/ LES HYPOPROTEINEMIES : portent surtout sur l'albumine et les immunoglobulines.

a / Défauts de synthèse : ° carences nutritionnelles : par défaut d'apport protéique :

-Kwashiorkor et marasme

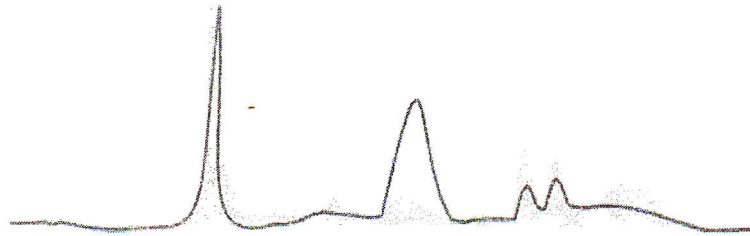
-Malabsorption

° atteintes hépatocellulaires graves : cirrhose, ictères graves.

b / Déperditions : sont les plus fréquentes

Pertes rénales : syndrome néphrotique (protéinurie massive) le tracé électrophorétique est très évocateur avec un effondrement du pic d'albumine et une diminution généralisée de toutes les protéines à l'exception des α_2 macroglobuline qui augmente et d'un léger pic en zone β lié à la présence de β -lipoprotéine en excès.

Syndrome néphrotique



- **Pertes digestives** : au cours des entéropathies exsudatives : causes nombreuses
malabsorption intraluminale
malabsorption par atteinte de la muqueuse intestinale : causes nombreuses
- **Pertes cutanées** : dans les brûlures étendues

Les hypo gammaglobulinémies : acquises ou congénitales

1/ Hypo gammaglobulinémies acquises : les causes sont rénales ou digestives.

Quant aux défauts de synthèse on peut les voir lors des syndromes d'épuisement du système immunitaire ou lors des thérapeutiques immunosuppressives (corticoïdes, IS).

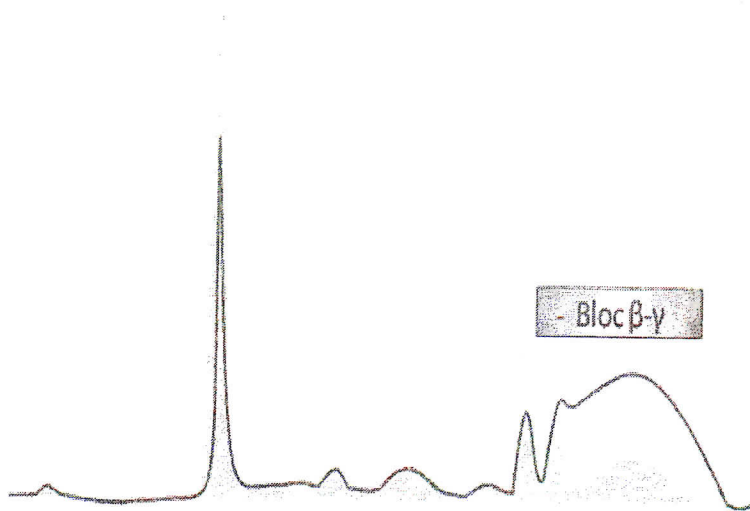
2/ Hypo ou agammaglobulinémies primitives : il s'agit de déficits immunitaires spécifiques, touchant l'immunité humorale (lymphocyte B) surtout les déficits immunitaires combinés sévères d'origine génétique. Le diagnostic biologique se fait par le dosage pondéral des immunoglobulines.

B/ HYPERPROTIDEMIES : sont dominées par les hyper gammaglobulinémies

B1/ Hyper gammaglobulinémie diffuse et polyclonale : affections diverses, à l'électrophorèse l'aspect des gammaglobulines est arrondi et étalé:

☑ infections aiguës ou chroniques, maladies auto immunes on peut voir une augmentation concomitante des α_2 et des gamma globulines.

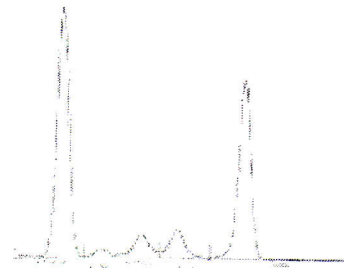
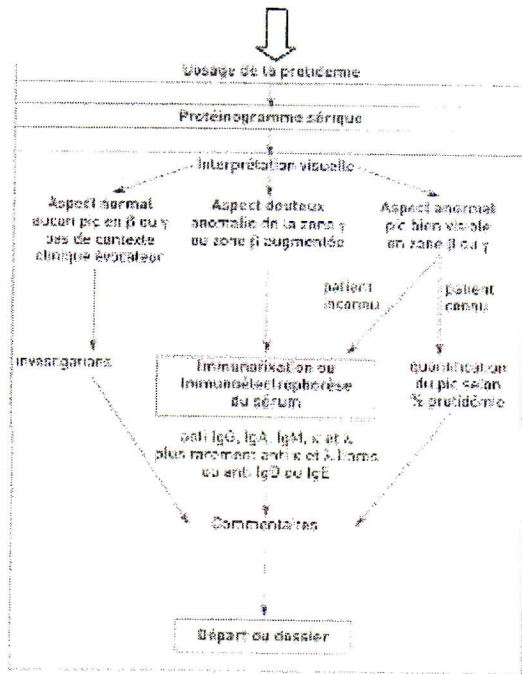
☑ Cirrhose du foie, l'élévation des β et gamma globulines en (dos de chameau) est très caractéristique. Elle est due à l'augmentation des IgA et IgM qui dépasse celle des IgG qui se positionne à l'ELP entre β et gamma globulines.



BLOC BETA- GAMMA (cirrhose)

B2/ Dysglobulinémies monoclonales : ou gammopathies monoclonales, correspondent à la synthèse d'une seule immunoglobuline par un clone cellulaire d'origine lymphocytaire B en voie de multiplication anarchique. Sur le tracé électrophorétique une **bande mince, étroite et très homogène** est objectivée ou une courbe densitométrique montrant un pic aigu et étroit dit monoclonal.

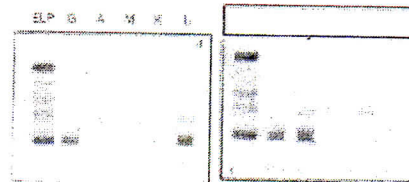
Plusieurs entités cliniques et biologiques : myélome plasmocytaire, macroglobulinémie, LLC, maladie des chaînes lourdes et les gammopathies bénignes.



Protéides totaux = 90.0 g/l A₂ = 0.77

Protéine	g/l	%	Norme %	g/l
Albumine	45.6	50.9	54-65	38-46
Alpha 1	2.2	2.4	1.2-1.7	0.8-2.2
Alpha 2	3.4	3.8	6.0-10	4-10
Bêta	7.8	8.7	6.5-13	6-10
Gamma	18.9	21.0	7.0-15	5-15

Commentaires : Présence d'une bande de concentration élevée monoclonale dans les gammaglobulines.



L'examen clé est l'électrophorèse montrant une bande **étroite** qui évoque la présence d'une sécrétion d'immunoglobuline monoclonale plus, immunofixation pour le typage des immunoglobulines et un dosage pondéral des immunoglobulines polyclonales.