



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master.

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences Biologiques.

Spécialité : Analyse Protéomique et Santé.

Intitulé :

Etude des protéines sériques au cours de syndrome néphrotique.

Présenté et soutenu par : BRIKA Fatima

Le : 28/06/2016

DERGHAL Amal

Jury d'évaluation :

Président du jury : NOUADRI T. (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : NECIB Y. (Prof - UFM Constantine).

Examinatrice : BENNAMOUN L. (MAA- UFM Constantine).

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciement

Remerciements

*Avant tout nous remercions Dieu tout puissant et miséricordieux,
qui nous a donné les forces et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à notre encadreur Monsieur NECIB Y.,
professeure au département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire à Université
des Frères Mentouri Constantine. pour avoir dirigé ce travail, ses judicieux conseils, ses
jugements critiques, son soutien, ses encouragements, ses qualités humaines, pour sa
générosité scientifique et pour sa gentillesse, nous tenons à lui exprimer toute nos gratitude.*

*Nous remercions les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.
Nous vous en sommes très reconnaissantes et en espérant être à la hauteur de votre confiance.*

*Que Docteur NOUADRI T. (MCA Université frères Mentouri Constantine)
trouve ici l'expression de nos respectueuses gratitude et le témoignage de nos profonds
remerciements pour avoir accepté de présider ce jury. Veuillez accepter cher maître toute
notre reconnaissance.*

*Nous remercions également l'examinatrice de ce travail, Maitre assistante BENNAMOUN
L. Nous vous adressons nos sincères remerciements et nos profonds respects pour l'intérêt que
vous apportez à ce travail.*

*Nous tenons également à remercier le personnel du laboratoire central, unité de biochimie
de l'hôpital militaire universitaire régional de Constantine, pour leur aide à la réalisation de
ce travail. Notre gratitude en particulier à Mr GHOUTI Abderrahman et docteur HOUAM
Fouad.*

*En fin nos remerciements à tous ceux qui ont aide à l'élaboration de ce mémoire du pré ou
du loin.*

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné
la vie, le symbole de tendresse,
qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma
réussite, à ma mère HADEF Eldjeida
A mon père, Messaoud, école de mon enfance
Vous êtes l'exemple de dévouement qui n'a pas
cessé de m'encourager et de prier
pour moi, puisse dieu, le tout puissant, vous
préservet et vous accorder santé,
langue vie et bonheur.*

*A très chère sœur Aïcha et mes frères Abdellah et
El-aïd.*

*A mais cher amies Amal, Zeineb, Radia et
chaima.*

*Merci pour tout...pour votre amour, la confiance
et l'énergie que vous m'aviez*

*Donnée...Mercie beaucoup pour votre aïd
précieuse, gentillesse, bonne humeur.*

*Spécialement à mon binôme DERGHAL Amal
qui a partagé avec moi les moments
difficiles de ce travaille*

A tout ma promotion de master d'APS

*A tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci
n'aurait aucun sens.....*



Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que...

Je dédie ce modeste travail à

A mes très chers parents :

DERGHAL Maamar et LAIB Fatima

A la lumière de ma vie mes chers parents

pour leur amour et pour leurs permanents encouragements.

Mon père et ma mère, je dédie ce travail à vous avec tout l'amour.

A mon Trésor

A mes frères Ramdan et Djihad

A mon frère Abdelwahabe et son femme Loubna et ces enfants : Loulo et Lamis.

A ma soeur Meriem

A ma soeur Lyamna et son mari Hicham et ses enfants les roses de mon cœur Linda, Bissane et Timou.

A ma grande mère Fatima Zohra.

A tout la famille DERGHAL

A tout la famille AZIOUNE spécialement mon marié Rabah et sa mère Fatima.

A mon binôme BRIKA Fatima qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travaille

A mes amies : Wassila, Samia B., Samia k., Soria, Meriem B.

Je spécialise une dédicace à Meriem H à qui je se souhaite tout La réussit dans sa vie, et merci pour tout qui me porte dans Son Cœur.

AMAL

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Chapitre 1 Revue bibliographique

1 Anatomie du rein.....02

1.1 Généralités.....02

1.2 Fonctions des reins.....03

1.2.1 Epuration.....03

1.2.2 Régulation.....03

1.2.3 Fonction endocrine.....03

1.3 Le néphron.....04

2 Fonctions de néphron.....05

2.1 Glomérule et filtration glomérulaire.....06

2.2 Tubule et réabsorption tubulaire.....07

2.3 La sécrétion tubulaire.....09

3 Syndrome néphrotique.....10

3.1 Définition.....10

3.2 Historique.....10

3.3 Epidémiologie..... 11

3.4 Physiopathologie.....11

3.5 Symptômes et signes cliniques.....12

3.6 Classification du syndrome néphrotique.....12

Sommaire

3.6.1 Syndrome néphrotique pur.....	12
3.6.2 Syndrome néphrotique impur.....	13

4 Exploitation du syndrome néphrotique par l'application de l'électrophorèse

en gel d'agarose du protéine sérique.....13

4.1 Historique.....	13
4.2 Principe de l'électrophorèse.....	13
4.3 Les protéines sériques de syndrome néphrotique.....	14
4.3.1 L'albumine.....	14
4.3.2 Globuline.....	15

Chapitre 2 Matériels et méthodes

1 Patients et méthodes.....17

1.1 Type et cadre d'étude.....	17
1.2 Echantillonnage.....	17
1.2.1 Population malade.....	17
1.2.1.1 Critères d'inclusion.....	17
1.2.1.1 Critères d'exclusion.....	17
1.2.2 Témoins.....	17
1.2.3 Support des données.....	17
1.3 Méthodologie.....	18
1.3.1 Phase pré-analytique et modalité de prélèvement.....	18
1.3.2 Phase analytique.....	18
1.3.2.1 Le dosage des protéines totales.....	18
1.3.2.2 L'électrophorèse des protéines sériques en gel d'agarose (hydragel).....	18
1.3.2.2.1 Mode opératoire.....	19
A) préparation des échantillon.....	19

Sommaire

B) Préparation de la migration.....	19
C) Préparation des séquences de traitement du gel.....	21
D) Fin du traitement du gel.....	22
1.3.3 Phase post-analytique.....	23

Chapitre 3 Résultats et discussion

I. Etude épidémiologiques.....	24
1 Répartition des sujets témoins.....	24
2 Répartition des sujets malades.....	24
2.1 Répartition selon le sexe.....	24
2.2 Répartition selon l'âge et sexe.....	26
2.3 Répartition selon la région.....	26
2.4 Répartition selon les antécédents.....	27
2.5 Répartition selon la présence des œdèmes.....	28
2.6 Répartition selon le type de SN.....	29
2.7 Répartition selon l'âge et le type du SN.....	29
II. Electrophorèse en gel d'agarose des protéines sériques.....	30
Conclusion.....	34

Résumé

Annexe

Références bibliographiques

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AA	Acide Aminé.
ADH	Hormone Anti Diurétique.
AG	Acide Gras.
EPS	Electrophorèse des protéines sériques.
GB	Globule Blanc.
GR	Globule Rouge.
HTA	Hypertension artérielle.
Ig	Immunoglobuline.
kDa	Kilo Dalton (1 KDa = 1000Dalton).
MBG	Membrane basale glomérulaire.
SN	Syndrome néphrotique.
TCD	Tube Contourné Distal.
TCP	Tube Contourné Proximal.

Liste des figures

Liste des figures

N° de figure	titre	page
Figure 1	Anatomie externe du rein gauche	02
Figure 2	Coupe sagittale d'un rein	03
Figure 3	Structure du néphron.	04
Figure 4	Les deux types de néphrons (localisation(a) et vascularisation(b)).....	05
Figure 5	Fonctions du néphron	05
Figure 6	Représentation schématique d'un glomérule et de l'appareil Juxtaglomérulaire	06
Figure 7	Les trois barrières de filtration au niveau de glomérule.....	07
Figure 8	Principaux sites de filtration et de réabsorption au niveau du néphron.....	08
Figure 9	Structure de l'albumine	14
Figure 10	Électrophorèse sur gel d'agarose des protéines sériques	15
Figure 11	Schéma d'une molécule immunoglobuline	16
Figure 12	Représentation graphique de la répartition des patients en fonction..	25
Figure 13	Répartition des malades en fonction de l'âge et le sexe.....	26
Figure 14	Répartition des malades selon la région.....	27
Figure 15	Répartition des pathologies en fonction des antécédents.....	27
Figure 16	Répartition des malades en fonction des oedemes.....	28
N° de la figure	titre	page
Figure 17	Répartition des malades selon le type du S.....	29
Figure 18	Répartition des patients selon l'âge et le type du SN.....	29

Liste des figures

Figure 19	Comparaison entre l'électrophorese en gel d'agarose d'un témoin et de 04 malades.....	30
Figure 20	Représentation graphique du tableau 5.....	31
Figure 21	Profils électrophorétiques du syndrome néphrotique en gel d'agarose 1 et 3 malades, 2 témoins.....	32

Liste des tableaux

N° de tableau	titre	page
Tableau 1.	Résumé de fonctions du néphron	10
Tableau 2.	Quelques protéines de chaque fraction :.....	16
Tableau 3.	Répartition des témoins selon l'âge et le se.....	24
Tableau 4.	Répartition des patients en fonction du sexe.....	24
Tableau 5.	Répartition en fonction de l'électrophorèse sérique sur gel d'agarose.....	31

Introduction

Introduction

Les reins sont des organes noble, leurs rôle principale est de filtrer le sang et d'éliminer les déchets (**MARIEB E. N., 2008**), une perturbation de cette fonction peut provoquer des maladies très grave, parmi lesquelles : le syndrome néphrotique ; affection glomérulaire fréquent chez les enfants (**INORENE M. H., 2002**) avec une incidence annuelle entre 2 et 3.7 pour 10000 enfant par an (**DESCHANE S. G., LACLERC A., 2010**), assez fréquent chez l'adulte et exceptionnel chez les vieillards. Il peut survenir à tout âge et sans discrimination de sexe (**INORENE M. H., 2002**).

Au cours de cette affection glomérulaire, le rein perdent leur capacité à filtrer le sang et laissent anormalement échapper des quantités importants des protéines dans les urines ; donc provoquant une protéinurie abondante, qui conduit à des perturbations plasmatiques dans les principales : hypoprotidémie, hypoalbuminémie et une hyperlipidémie.

La protidémie ; un terme qui désigne la mesure des protéines totale dans le sérum (**DAWNAY A. B., et al., 1991**) n'a pas d'intérêt sauf si elle est combinée à une électrophorèse des protéines sériques connu sous le terme de protéinogramme.

Le protéinogramme a vu le jour en 1937 par le biochimiste Suédois **Arne TISELIUS (1902-1971)**, prix **Nobel** en chimie en 1948, qui a réussite le premier à séparer les protéines contenu dans des liquides biologique complexe comme le sérum sanguin. Au jourd'hui cette technique devenu un outil indispensable dans de nombreux laboratoire tant au niveau de la recherche et de l'industrie que des sciences médicales au sens large.

C'est dans ce cadre que notre travail consiste à présenter d'une part les intérêts sémiologiques des protéines sériques et d'autre part, de mettre en évidence et d'évaluer la place d'électrophorèse sur gel d'agarose (hydragel) dans l'orientation de diagnostic de SN.

Notre travail comporte trois parties : une revue bibliographique portant sur le syndrome néphrotique et les protéines sériques de ce derniers, puis une partie matériel et méthode et enfin les résultats obtenu et leur discussions.

Revue bibliographique

1 Anatomie du rein :

1.1 Généralités :

En forme haricot, un rein adulte pèse environ 150 g avec 11 cm de longueur, 5 cm de largeur et 4 cm d'épaisseur (HORN et coll., 2005). Il présente une face convexe et une face concave, cette dernière constitue le hile rénal, par lequel les artères pénètrent dans le rein et d'où partent l'uretère et les veines (GARTNER L. P., HIATT J. L., 2004). Chaque rein est surmonté d'une glande surrénale, organe qui sécrète les hormones (Figure 1).

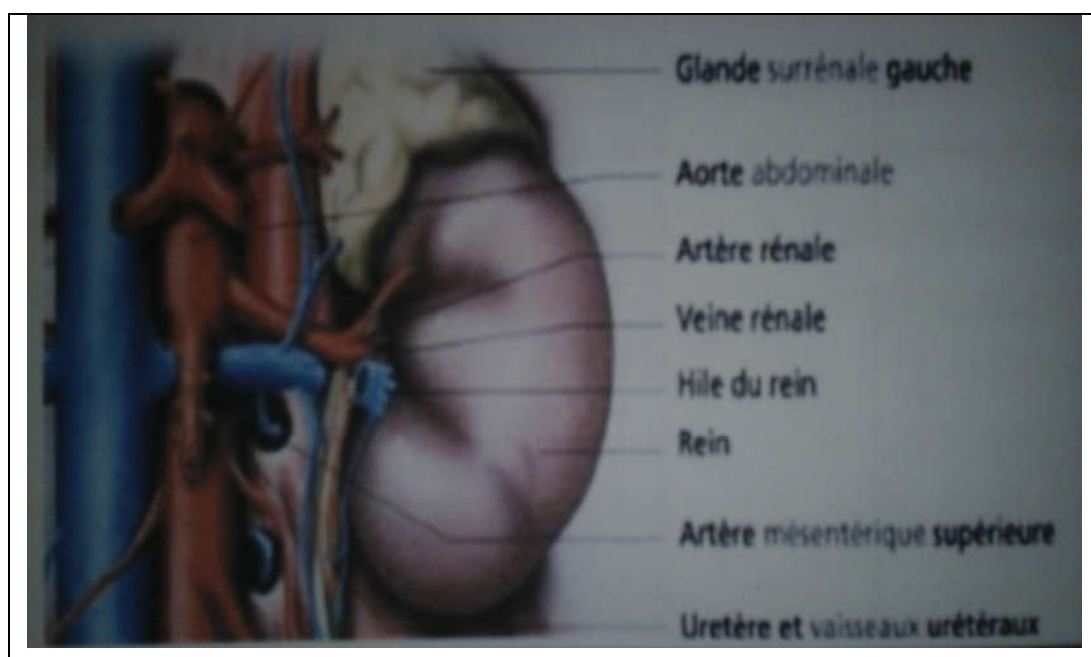


Figure1 : Anatomie externe du rein gauche (DELAMARCH P., et al., 2002)

Une coupe sagittale d'un rein montre qu'il est divisé en une partie périphérique : la corticale où sont situés 85% des néphrons, et une partie profonde : la médullaire (MARIEB E. N., 2008). Le cortex est subdivisé en labyrinthes et irradiations médullaires ou pyramides de ferrein. La médullaire est divisée en 7 à 9 pyramides, entourées de substance corticale.

Dans la base des pyramides, on trouve les rayons médullaires, un faisceau de conduits collecteurs et sécrétion de tubules rénaux (WELSCH, 2004) (Figure 2).

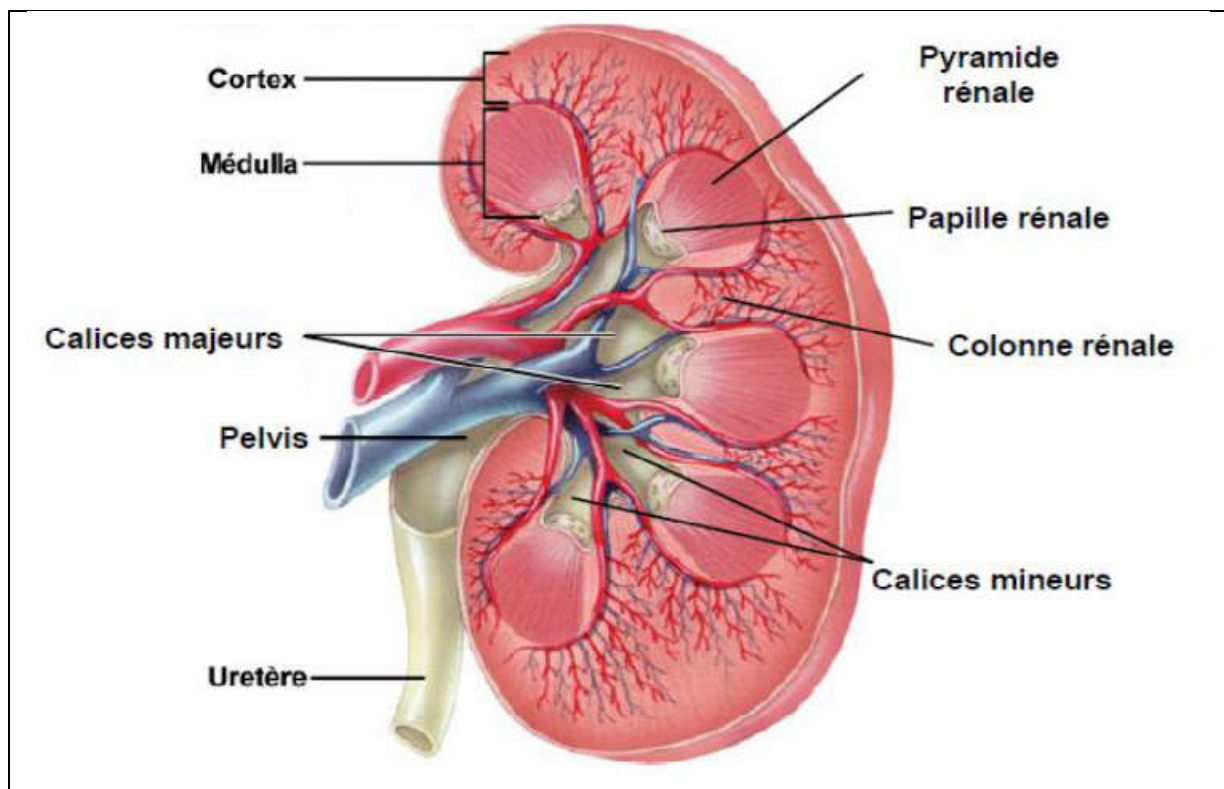


Figure 2 : Coupe sagittale d'un rein (SILBENAGL et al., 1985).

Le tube urinaire comprend 2 portions : le néphron et le système des tubes collecteurs (GARNTER L. P., HIATT J. L., 2004).

1.2 Fonctions des reins:

Les reins sont les organes d'élimination les plus importants du corps, il assure trois fonctions principales :

1.2.1 Epuration

Élimination des produits métaboliques provenant du sang (p. ex. créatinine, urée, acide urique) et des médicaments, de drogues et/ou de leurs métabolites (GAW, 2004).

1.2.2 Régulation

Excrétion de sodium et d'eau avec régulation de la rétention d'eau, de la pression sanguine et les électrolytes (sels).

Équilibre acides/bases (ROBERT, 1998).

1.2.3 Fonction endocrine

Trois hormones sont principalement produites par le rein :

- **La rénine** par l'appareil juxtaglomérulaire, qui régule la production des hormones impliquées dans l'homéostasie du sodium et le contrôle de la pression artérielle.
- **L'érythropoïétine**, produite par les cellules péri-tubulaires sous l'effet de l'hypoxie,

Chapitre 1. Revue bibliographique

c'est une hormone de la famille des cytokines qui régule la production de globules rouges.

• Les cellules tubulaires proximales assurent l'hydroxylation de la **vitamine D** Inactive (25 OH vitamine D) en 1-25 OH vitamine D grâce à la 1 α hydroxylase. C'est une hormone qui régule l'équilibre du Ca²⁺. (SILVERTHORN, 2007 ; LACOUR, 2013).

1.3 Le néphron :

Le néphron, est l'unité fonctionnelle et structural des reins en contiennent environ 1 million chacun (MARIEB E. N., 2008).

Il est constitué de 2 éléments principaux le corpuscule rénal et le tubule rénal.

✚ **Le corpuscule rénal** (corpuscule de Malpighi) est constitué :

D'une capsule de Bowman (capsule glomérulaire rénale), d'un glomérule (glomérule de Malpighi) et d'un mesangium (GARNTER L. P., HIATT J. L., 2004) (Figure3).

✚ **Le tubule rénal** est constitué des segments suivants : le tubule contourné proximal(TCP), tubule contourné distal(TCD), Anse de Henlé (GODIN, 2011). Plusieurs tubes contournés distaux rejoignent un tube collecteur (GARNTER L. P., HIATT J. L., 2004) (Figure 3).

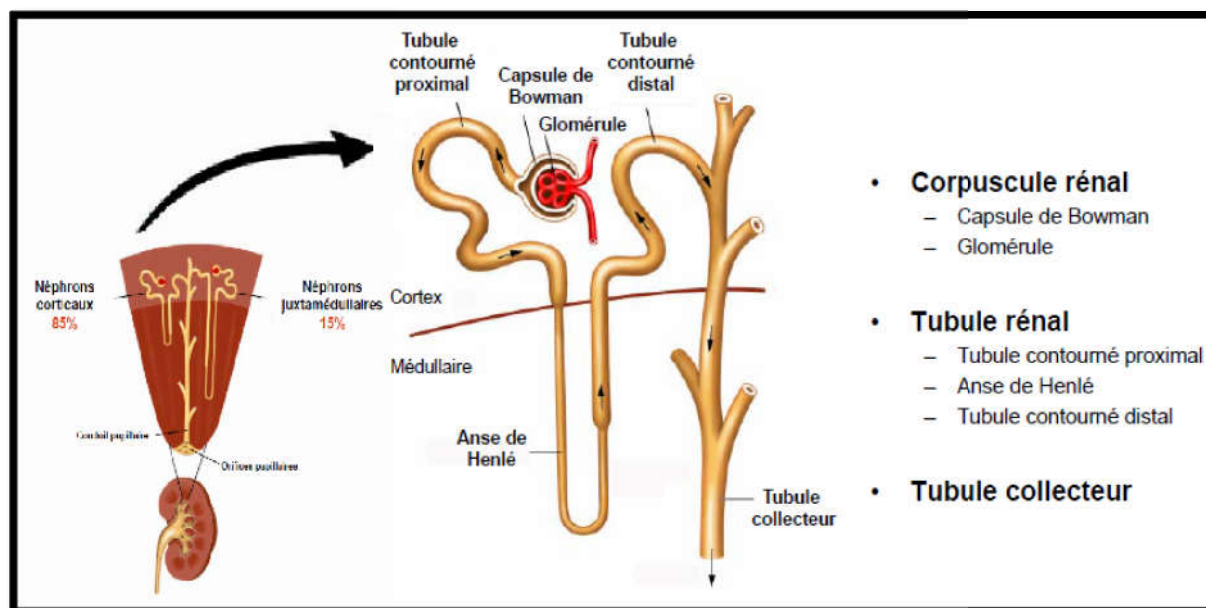


Figure 3 : Structure du néphron (GODIN, 2011).

Selon la localisation du glomérule dans le cortex, on distingue

Les néphrons corticaux

Constituent 85% des néphrons dans les reins, hormis un tout petit bout de leur anse qui est Situé dans la médulla rénale externe, ils sont entièrement situés dans le cortex.

Chapitre 1. Revue bibliographique

Les néphrons juxta-médullaires

Sont situés près de la jonction du cortex et de la médulla et jouent un rôle important dans la capacité des reins à produire de l'urine concentrée (MARIEB E. N., 2008) (Figure 4).

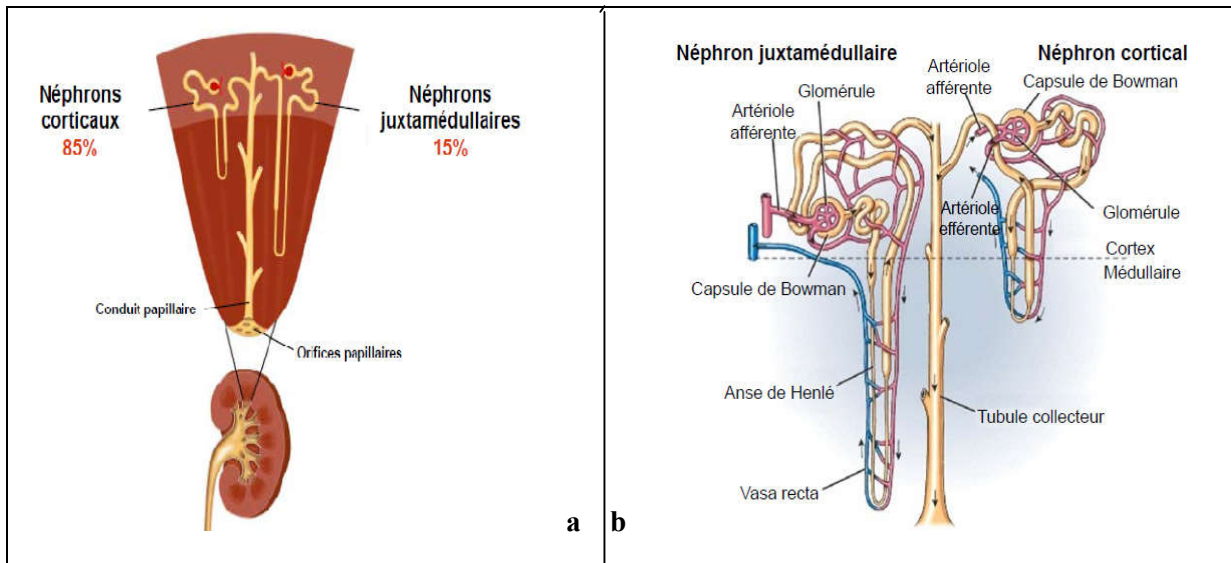


Figure 4 : Les deux types de néphrons (localisation(a) ; vascularisation(b)) (GOUDIN, 2011).

2 Fonctions des néphrons :

Le plasma se transforme en urine dans le néphron (GROLLMAN A., 1957), la formation de l'urine passe par 3 étapes : filtration, réabsorption, sécrétion et excrétion (Figure 5).

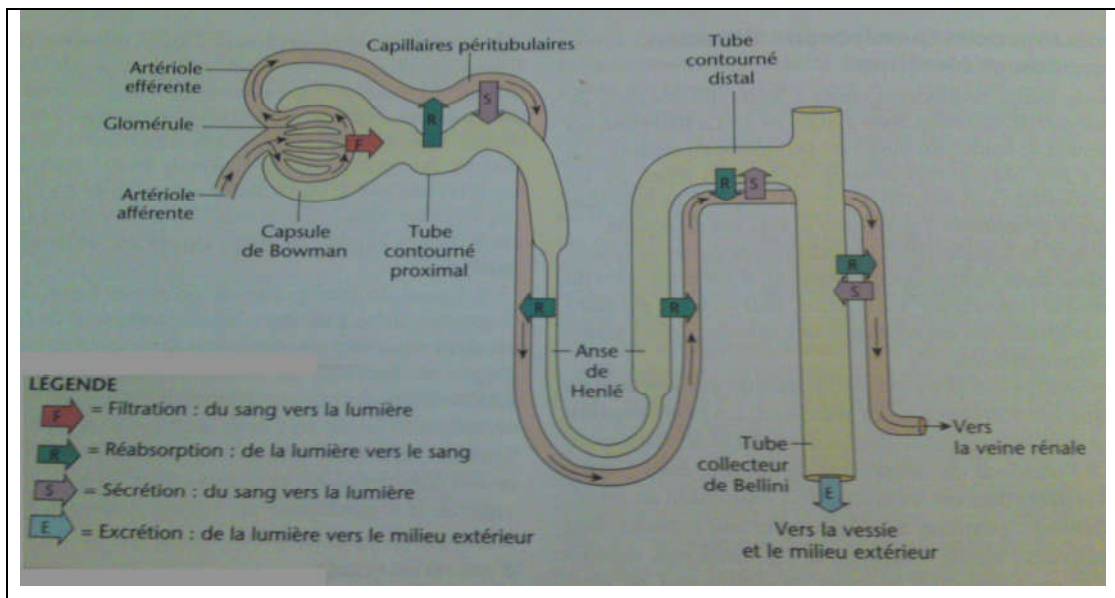


Figure 5 : Fonctions du néphron (SILVERTHORN, 2007).

2.1 Glomérule et filtration glomérulaire :

Les glomérules sont des structures spécialisées qui parcourent un mécanisme de filtration efficace pour débarrasser l'organisme des déchets métaboliques et des substances toxiques (MOULIN, PERALDI, 2005).

Elle comprend deux pôles : pôle vasculaire ; avec artère afférente qui se divise en 4 à 6 branches donnant la naissance aux capillaires [entouré par la capsule de Bowman (SILVERTHORN, 2007)] et artère efférente ; pôle urinaire formé par le tube contourné proximal (KOHLE Ch., 2011) (Figure 6).

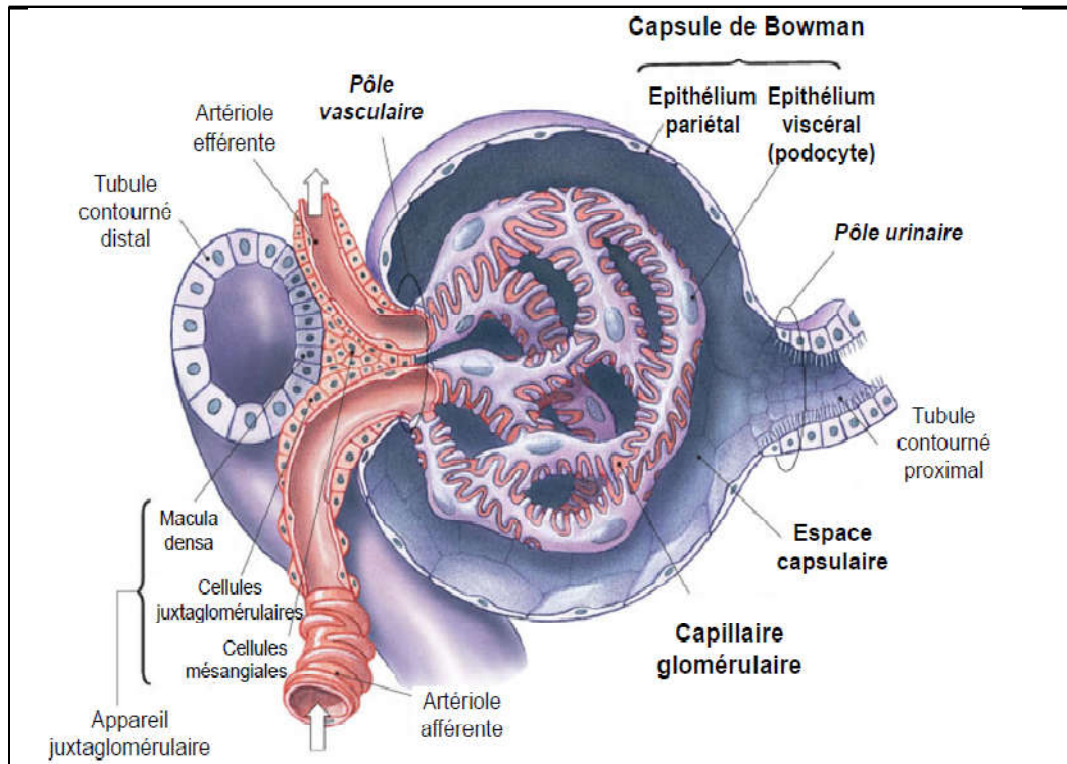


Figure 6 : Représentation schématique d'un glomérule et de l'appareil Juxta glomérulaire (GODIN, 2011).

Les substances qui sortent du plasma doivent traverser les trois barrières de filtration du glomérule avant de pénétrer dans la lumière tubulaire (voire figure7). Ces barrières s'opposent au passage des molécules de masse moléculaire supérieure à 60kDa (SILVERTHORN, 2007).

La première barrière de filtration est l'endothélium du capillaire ; structure fenêtré présentant des pores qui laissent passer tous les composants du plasma mais retiennent les cellules sanguines.

La seconde barrière est la membrane basale entourant les capillaires (Julie, 2009) Qui sépare l'endothélium du capillaire de la couche épithéliale de la capsule de Bowman. Elle est composée essentiellement de collagène et de glycoprotéines chargées négativement qui confèrent une sélectivité de charge (SILVERTHORN, 2007).

Le troisième barrière est le fente de filtration (épithélium de la capsule de Bowman) représenté par les prolongement cytoplasmiques des podocytes qui constituent une couche

Chapitre 1. Revue bibliographique

épithéliale assurant l'ensemble de la restriction au passage des protéines de haut poids moléculaire (MAISONNEUVE *et al*, 2004), (MARIEB E. N., 2008) et obtenir finalement le filtrat glomérulaire constitue l'urine primitive (PALLOT J. L., 2007) qui se trouve dans la chambre urinaire qui a une composition identique à celle du plasma tel que les électrolytes Na^+ , K^+ , Cl^- , glucose et l'urée, à l'exception des protéines de haut poids moléculaire et des éléments figurés du sang (GR,GB ...), s'il y a passage de leucocytes (leucocytaire) ou d'albumine c'est pathologique (MASSE C., 2011).

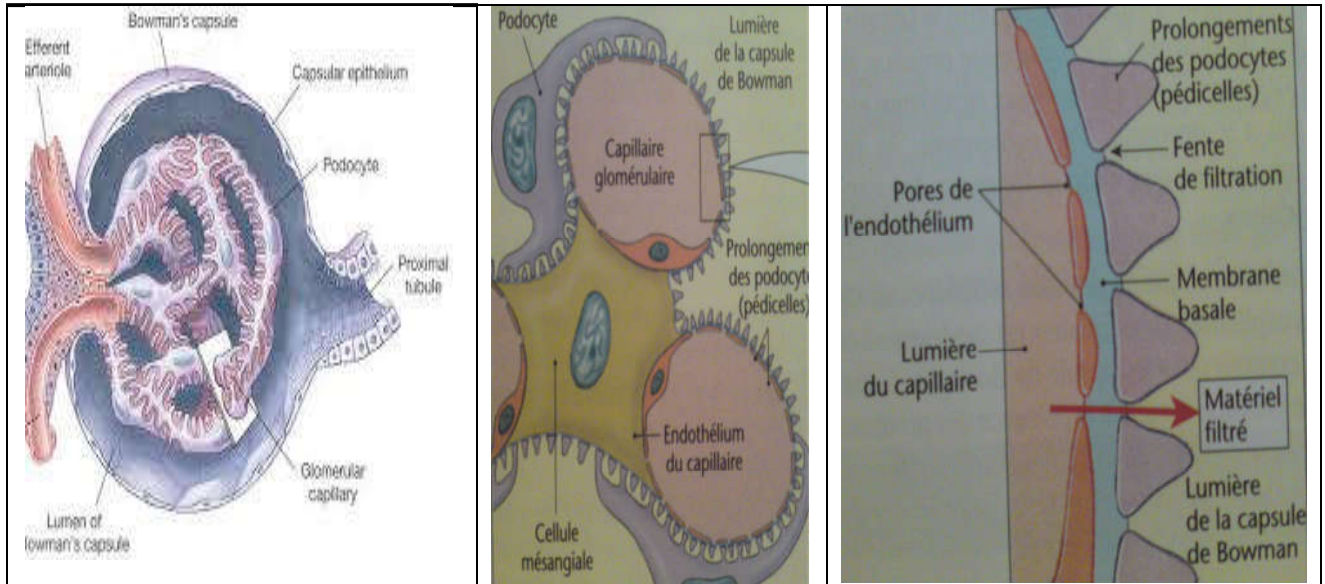


Figure 7 : Les trois barrières de filtration au niveau de glomérule (SILVERTHORN, 2007).

2.2 Tubule et réabsorption tubulaire :

Chaque jour, 180 litre de liquide filtré passe dans les tubules. Pourtant, seule 1.5 litre d'urine est excrété ; ce signifie que plus de 99% du liquide contenu dans les tubules doivent être réabsorbés dans le sang au cours de la traversée des néphrons (SILVERTHORN, 2007).

La réabsorption tubulaire est un mécanisme de transport transépithélial assuré par un transport actif par des transporteurs protéiques, l'osmose, diffusion et parfois par un transport passif (MARIEB E. N., 2008).

Le tube rénal est subdivisé en plusieurs segments :

Le tubule contourné proximal :

Début aussi tôt que le filtrat pénétré dans les tubules contournés proximaux. Au niveau du tube contourné proximal (TCP), 80% de l'urine primitive réabsorbé dont les protéines, les polypeptides, les AA et les hydrates de carbones, les petites molécules par diffusion, les grosses par endocytose (MARIEB E. N., 2008). Ainsi l'eau diffuse librement à travers la membrane grâce aux aquaporines (classe protéine membranaire qui forme des pores perméables aux molécules d'eau dans la membrane biologique) (LAURENT H., 2010).

L'anse de Henlé

Chapitre 1. Revue bibliographique

L'anse de Henlé est composée de l'anse grêle descendante perméable à l'eau, de l'anse grêle ascendante et de la branche large ascendante imperméable à l'eau réabsorbe le sodium et le chlore (MAI Ba., 2010). Il est une véritable épingle à cheveux située dans les pyramides de Malpighi. Elle conduit l'urine iso-osmotique au plasma qui sort du tubule proximal, depuis le cortex jusque dans la médullaire par sa branche descendante fine et la fait revenir dans le cortex par sa branche ascendante d'abord grêle, puis large (BERNARD L., 2013).

Le tubule contourné distal

Il entre en contact avec l'artériole afférente de son glomérule, formant l'appareil juxta Glomérulaire (MAI Ba., 2010). Leur diamètre de 40 μm , sa longueur est de 6 mm, il finit de réabsorber de sodium et le chlorure, mais plus particulièrement le potassium. Il régle également le calcium (BRAUNWALD et al., 2002).

Le tube collecteur de Bellini

C'est un tube rectiligne qui collecte l'urine formée par plusieurs néphrons. L'extrémité de ce tube s'ouvre au sommet de la pyramide de Malpighi au niveau de la papille et déverse l'urine dans un petit calice.

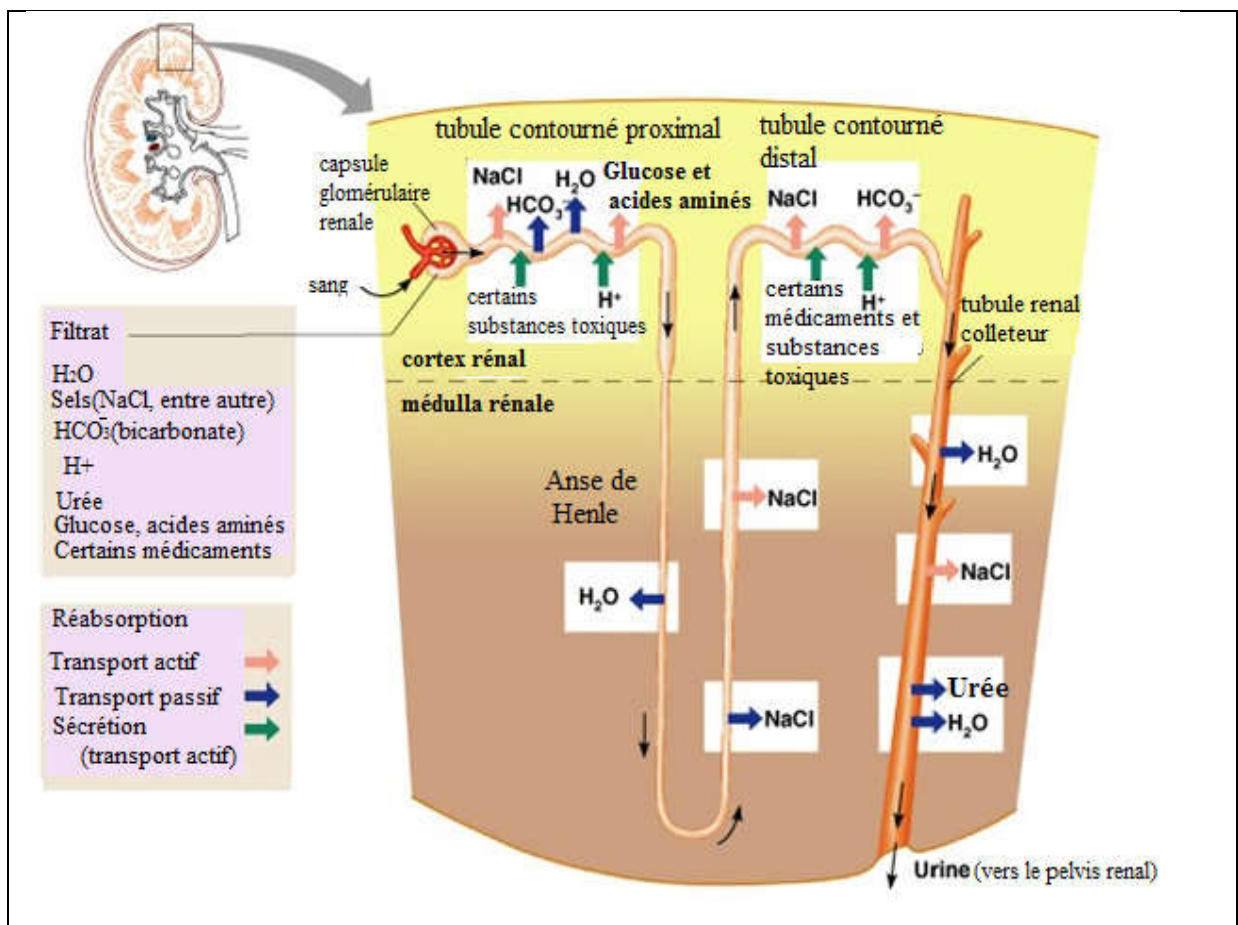


Figure 8 : Principales site de filtration et de réabsorption au niveau du néphron (MARIEB E. N., 2008).

Formation d'urine :

L'urine est l'un des liquides biologiques les plus intéressants et utile pour les études de la protéinurie clinique à cause de la facilité de sa collection sans aucune procédure douloureuse (THONGBOONKERD V., *et al.*, 2007).

Au niveau du tube collecteur, l'urine diluée est progressivement concentrée par transfert osmotique de l'eau. Le contrôle du transfert de l'eau est possible grâce à une perméabilité variable sous la dépendance de l'hormone anti diurétique (ADH) (LAURENT H., 2010) ; cette hormone d'origine hypophysaire a une sécrétion et une libération dans le sang régulées essentiellement par des osmo-récepteurs (MARIEB E. N., 2008).

L'eau passe par osmose, mais la réabsorption de la plus part des substances se fait par des mécanismes de transport actif qui utilisent des transporteurs membranaires exemples :

- Le glucose et les AA sont entièrement réabsorbés du filtrat.
- A l'opposé, certains déchets azotés sont faiblement réabsorbés ou ne le sont pas du tout :
 - ❖ L'urée réabsorbée à 50% : produit du catabolisme des protéines.
 - ❖ L'acide urique réabsorbé en partie, produit du métabolisme des acides nucléiques alimentaire et tissulaire.
 - ❖ La créatinine non réabsorbée : produit du catabolisme de la créatine musculaire
- La majeure partie de la réabsorption à lieu dans les tubules contournés proximaux (TCP) et le tubule rénal collecteur sont eux aussi actif (SILVERTHORN, 2007).
- La réabsorption des protéines filtrées :

Environ 30 grammes de protéines sont filtrées dans le filtrat glomérulaire chaque jour ; puis la quasi – totalité est réabsorbée à travers la membrane du tubule contourné proximal par pinocytose.

Seule une fraction des protéines de petit poids moléculaire peut être excrétée dans les urines, mais elle ne dépasse pas 150 mg/jour.

2.3 La sécrétion tubulaire :

Passage de molécules du sang des capillaires vers le filtrat en traversant les cellules tubulaires :

Elle concerne la sécrétion de K⁺, H⁺, NH₃, acide urique, les toxines, la créatinine, et les médicaments (MARIEB E. N., 2008).

Chez l'homme les phénomènes de réabsorption sont notamment plus importants que les phénomènes de sécrétion (PALLOT J. L., 2007). Le tableau suivant résume les fonctions du néphron :

Tableau 1 : Résumé de fonctions du néphron (KANE M., 2007).

Parties du néphron	Fonction
Corpuscule rénal (membrane glomérulaire)	Filtration du sang glomérulaire sous l'effet de la pression hydrostatique entraînant l'élaboration du filtrat, dépourvu de protéines plasmatiques et de cellules sanguines.
Tube contourné proximal (branches descendantes et ascendantes de l'anse de HENLE)	Réabsorption d'importants solutés physiologiques : Na ⁺ , K ⁺ , HCO ⁻ et le glucose. Réabsorption tubulaire obligatoire de l'eau par osmose : TCD.
Tube contourné distal	Réabsorption des ions Na ⁺ . Réabsorption tubulaire facultative de l'eau réglée par l'ADH. Sécrétion d'ions H ⁺ , NH ₃ et K ⁺ . de la créatinine et de certains médicaments.
Tube collecteur	Réabsorption tubulaire facultative de l'eau réglée par l'ADH.

3 Syndrome néphrotique :

3.1 Définition :

Le Syndrome néphrotique (SN) est une pathologie résulte d'une anomalie de la filtration glomérulaire (**FOURCARD J., 2006**). Il est définie par un ensemble de signes biologiques : hypoprotidémie < 60 g/l, hypoalbuminémie < 30g/l et protéinurie > 3 g/l (**MAISONNEUVE et al., 2004**) et pouvant associer : des œdèmes, une hyperlipidémie portant sur le cholestérol et les triglycérides (**VAULOURDOLLE M., 2007**).

3.2 Historique :

Les conceptions en matière de syndrome néphrotique sont passées par plusieurs étapes :

- La découverte d'une substance coagulante dans les urines d'un malade atteint d'œdèmes généralisés par **Williams Carles Weller** en 1811, motiva de nombreuses études à la recherche des causes de ces œdèmes (**HAMBURGER J., 1960**).
- Le terme « néphrose » fut proposé en 1905 par Muller, qui dans sa classification des néphroses, oppose les « néphrites », caractérisées par une atteinte inflammatoire aux « néphroses » caractérisées par une atteinte dégénérative du rein (**HAMBURGER J., 1960**), (**N'DOYE S., 1969 à 1977**), (**NIANG I., 1964**).

- Quelques années plus tard, de 1908 à 1914, **Munch** puis **Vohlard** et **Fard**, décrivent une néphropathie chronique avec œdèmes importants et albuminurie très élevée, associés à une infiltration graisseuse étendue des tubes, sans lésions glomérulaires. A cette affection, **Vohlard** propose le nom de « néphrose lipoïdique ».
- La biopsie rénale a été introduite en 1951 (**ZECH, REVILLARD, 1978**), plus tard, François **Aubert** a donné une définition biologique du SN qui associe une protéinurie abondante > 3g/24h, une hypoprotidémie <60g, une hypoalbuminémie < 30g/l, avec des œdèmes et une hyperlipidémie (**AUBERT, GUITARD, 1995**).

3.3 Epidémiologie :

La fréquence du SN varie selon l'âge, la race et les régions (**HAMBURGER, 1968**), le SN est la traduction clinique la plus fréquente (29 à 62.5%) (**CLEDES J., 2003**), et est de 5 à 6 fois plus fréquentes en Afrique qu'en Europe (**DIALLO et al., 1997**), occupant la deuxième place parmi les pathologies rénales après les infections urinaires (**ABDOULAYE M. A., 2005**).

En France, la prévalence annuelle est estimée à 15 pour 100 000 enfants de moins de 15 ans (**PINCON, NOBILI, 2008**). En Mali, une étude trouve que 82 cas de SN fait ressortir que 44% des malades hospitalisés pour atteinte rénale présenteraient un SN (**BA I., 1986**).

En Février 2008, le SN se représente généralement :

- Entre 2 et 12 ans avec un pic à 3 ans.
- 50% entre 1-4 an.
- 75% < 10 ans.

Son incidence est de 2 à 3 cas /100 000 enfants avec une évolution variable.

Le SN est une maladie universelle, puis fréquente chez l'enfant (**INORENS J., 2003**), avec une incidence annuelle entre 2 et 3.7 pour 10 000 enfants /an (**DECHENES G., LECLERC A., 2010**).

Il est assez fréquent chez les adultes et exceptionnel chez les vieillards. Il peut survenir à tout âge et sans discrimination de sexe (**INORENE M., 2002**).

3.4 Physiopathologie :

Les glomérules sont normalement imperméables aux protéines dont le poids moléculaire ≥ 60 kDa. C'est le cas de l'albumine. Les petites protéines, de poids moléculaires inférieur à 60kDa, franchissent physiologiquement le glomérule puis sont réabsorbées et catabolisées par les tubules (**BARIETY J., et al., 2009**).

Le passage glomérulaire des protéines plasmatiques à travers la paroi capillaire glomérulaire est normalement limité par deux barrières sélectives : une de charge et une de taille.

*La barrière sélective de charge est le fait des glycoaminoglycane poly anioniques, revêtant la membrane basale glomérulaire et les cellules avoisinantes, qui empêchent le passage de protéine plasmatiques anionique de taille moyenne (70 à 50kDa) dont l'albumine.

Chapitre 1. Revue bibliographique

*La barrière sélective de taille résulte de la présence de pores dans la membrane de fente glomérulaire et dans les diaphragmes de fente épithéliale, et empêche le passage des protéines plasmatiques de poids moléculaire supérieur à 150kDa (**DUCLoux D., 2003**).

Ce passage résulte:

- Soit d'anomalie fonctionnelle : perte des charges négatives de la membrane basale glomérulaire (qui repoussent les protéines chargées négativement dans le SN).
- Soit d'anomalie organique : lésions variables de la membrane basale glomérulaire de l'endothélium, ou de l'épithélium, dans pratiquement toutes les autres variétés de néphropathies glomérulaire (**JOLY D., 2006**).

3.5 Symptômes et signes cliniques :

SN est caractérisée de :

- ❖ Hypoprotidémie : elle survient lorsque l'apport protéique exogène et la synthèse hépatique (jusqu' à 40g/j) ne proviennent plus à compensées la fuite urinaire (**FRIMAT, 2012**). Baisse préférentielle du sérum albumine (diminution albumine sérique).
- ❖ Hypo volémie : elle résulte de la fuite de liquide vers interstitiel. Elle explique l'absence habituelle de l'hypertension artérielle.
- ❖ Œdèmes : ils sont la conséquence de la perturbation de l'équilibre de Starling (qui règle la filtration capillaire) par la baisse de la pression oncotique (**FORCARDE J., 2006**).
- ❖ Protéinurie : très abondante, toujours > 3g/24h, mais pouvant atteindre des taux de 15 à 20g/24h.
- ❖ Hypoalbuminémie < 30g/l : en général, plus la protéinurie est intense, plus l'albumine est faible donc l'hypo albuminémie est secondaire à la fuite urinaire.

3.6 Classification du syndrome néphrotique :

On peut distinguer deux types de SN :

3.6.1 Syndrome néphrotique pur (néphrose lipoïdique) :

Un SN est dit pur si l'anomalie est constituée par la seule protéinurie massive (**BERARD E., 2002**), et les signes indicateurs sont :

- Absence d'hypertension artérielle.
- Absence d'insuffisance rénale.
- Absence d'hématurie microscopique.
- Protéinurie sélective (**VIDALA E., TERLAUD C., 2009**)

Un SN pur traduit un syndrome hyperperméabilité capillaire glomérulaire purement fonctionnel sans anomalie visible en microscopique (**HAMBURGER J., 1968**).

3.6.2 Syndrome néphrotique impur :

Un SN est dit impur s'il est associé à un ou plusieurs signes précédents (**BERARD E., 2002**).

Un SN impur traduit une lésion morphologique analysable en microscopie optique et la présence d'hématurie et leucocytaire, peut traduire un processus inflammatoire au sein du glomérule (**FOURCADE J., 2006**).

4 Exploitation du syndrome néphrotique par l'application de l'électrophorèse en gel d'agarose (hydrigel) du protéine sérique.

4.1 Historique :

La première électrophorèse en milieu liquide qui a permis de séparer les protéines contenues dans des liquides biologiques complexes comme le sérum sanguin a été mise au point en 1937 par **Tiselius (TISELIUS A., 1937)**. Dès le début des années 50, la technique est améliorée stabilisant la phase liquide sur un support solide. C'est l'électrophorèse de zone. Le premier support utilisé est un support de papier par **Kunkel et Tiselius (KUNKEL H. G., TISELIUS A., 1951)**. En 1967, **Hjerten** est le premier à décrire l'utilisation de l'électrophorèse capillaire de zone, qui est en fait une variante améliorée du système de **Tiselius (HJERTEN S., 1967)**. Dès 1994, se sont développées les techniques par système automatisé adaptées à la séparation rapide des protéines sériques dans le domaine de la biologie clinique (Beckman Coulter, Sebia,...) dont le principe est celui de l'électrophorèse de zone (**LE CARRER D., BACH-NGOHOU K., 2005**).

4.2 Principe de l'électrophorèse :

Le principe de l'électrophorèse est fondé sur le déplacement de molécules chargées électriquement, placées dans un champ électrique. Le préfixe « électro » fait référence à l'électricité et la racine « phorese » vient du grec *phoros*, qui signifie porter « d'un côté à l'autre » (**DAUZAT A., et al., 1988**). Ce principe est universellement utilisé dans de très nombreuses applications, dans tous les domaines de la biologie, ou de la chimie, partout où il est nécessaire de séparer des molécules. En effet, selon leurs caractéristiques propres, notamment de taille et de charge électrique, les molécules placées dans un champ électrique vont montrer des mobilités différentes et ainsi pouvoir être séparées (**DAUNIZEAU A., 2003**).

On définit deux grands principes d'électrophorèse :

- ❖ L'électrophorèse dite « libre », où les molécules sont en solution dans une veine liquide.
- ❖ L'électrophorèse dite « de zone », où la veine liquide est stabilisée par un support sous la forme d'un gel imbibé d'une solution tampon. C'est celle qui est classiquement utilisée aujourd'hui pour la séparation des protéines du sérum (**DAUNIZEAU A., 2003**).

*électrophorèse sur gel d'agarose :

En 1966, **Elvitch** a remplacé le gel de polyacrylamide par un gel d'agarose caractérisé par des pores plus gros (**ELEVITCH F. R., 1966**). L'agarose est un colloïde naturel extrait d'une algue rouge (**SERWER P., 1983**) ; c'est un polysaccharide linéaire composé de l'unité de répétition fondamentale, l'agarobiose, elle-même composée d'unités alternantes de galactose et de 3,6-anhydrogalactose (**SAMBROOK J., et al., 1989**).

Chapitre 1. Revue bibliographique

Cette substance très hydrophile peut, même à très basse concentration (de l'ordre de 1%), former des gels solides mais très poreux. L'agarose ne polymérise pas par création de liens covalents, il se gélifie à basse température. Cette gélification est due à la formation d'une multitude de liens hydrogène entre les longues molécules linéaires dextrane qui composent l'agarose. Le dépôt et la migration se font à l'intérieure du gel avec un montage horizontal (BOYER R. F., 1993).

L'agarose est très fragile et se détruit facilement sous l'effet de manipulations. Sa grande porosité le rend très utile pour séparer les molécules ou les complexes moléculaires d'une masse supérieure à 200kDa (SAMBROOK J., et al., 1989). On utilise de plus en plus cette matrice pour la séparation des protéines sériques. Les laboratoires de biochimie clinique utilisent des versions automatisées avec des cassettes de gel d'agarose souvent colorables automatiquement (DAUNIZEAU A., 2003).

4.3 Les protéines sériques de syndrome néphrotique :

4.3.1 L'albumine :

C'est une holoprotéine soluble dans l'eau (GARNIER M., et al., 2004), synthétisée par le foie, représente environ 10% de la synthèse protéique hépatique et 60% des protéines plasmatique. Sa concentration plasmatique varie entre 30 et 50g/l, et sa demi-vie est de l'ordre de 15 à 19 jours et $pH_i=20$. C'est une protéine monocaténaire de faible poids moléculaire (66kDa) (TAMION F., 2010) qui comporte 3 domaines avec 67% hélice alpha et 35 résidus cystéine, possède 585 AA (Figure 9).

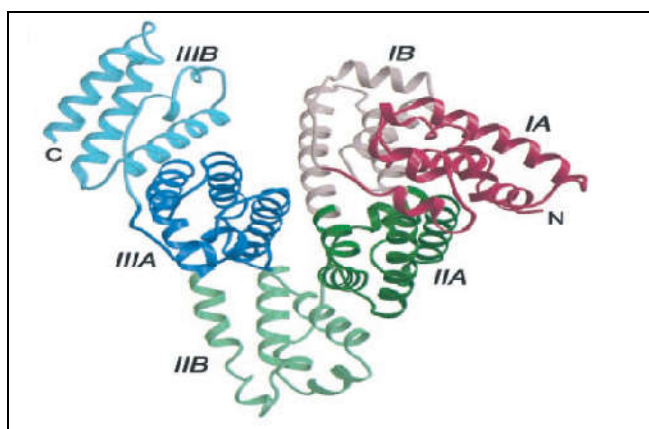


Figure 9 : Structure de l'albumine (BHATCHARY A., et coll., 2000).

L'albumine assure plusieurs fonctions : le maintien de la pression oncotique (60 à 80%), propriétés antioxydants, anti-inflammatoires (TAMOIN F., 2010), propriétés de fixation et de transport des substances endogènes et exogènes comme des hormones, des AA, des AG, de la bilirubine, des drogues et des ions, l'albumine a un certain pouvoir de tampon qui régle les variations du pH sanguin (GENSOULEN, BLOCH J., 2009).

Physiologiquement, les protéines urinaires sont composées de moins de 20mg/l d'albumine (FAUVEL J-P., LAVILLE M., 2006), c'est une protéine trop volumineuse pour traverser le capillaire d'un rein sain. C'est pourquoi la présence d'albumine dans les urines témoigne d'une anomalie du fonctionnement du rein (BROOKER et coll., 2000).

Chapitre 1. Revue bibliographique

Au cours du SN, l'hypoalbuminémie résulte de la fuite urinaire de l'albumine, elle est due soit à une perte des charges anioniques de la MBG, soit à des lésions histologiques de la MBG qui peuvent aussi être associées à une perte de ses charges anioniques (NIAUDET, 2008)

L'hypoalbuminémie entraîne une diminution de la pression oncotique (BEERS M. H., *et al.*, 2007), ainsi qu'une augmentation de la synthèse des lipoprotéines au niveau du foie et la diminution de leur catabolisme, un trouble de croissance, une augmentation de la fraction libre plasmatique des médicaments liés à l'albumine ce qui entraîne le risque de surdosage et d'effet toxique (MOULIN B., PERALDI M. N., 2005), l'albumine cause aussi le stress oxydatif (SINHA, *et al.*, 2005).

4.3.2 Globulines :

Cette appellation générique recouvre un groupe hétérogène de familles de protéines, de plus grande taille et plus solubles dans l'eau que l'albumine. On les différencie également lors d'une électrophorèse des protéines sériques, ou elles migrent moins que l'albumine. On peut également les subdiviser en quatre fractions : α 1-globulines, α 2-globulines, β -globulines et γ -globulines (PEBRET F., 2003) (Figure 10).

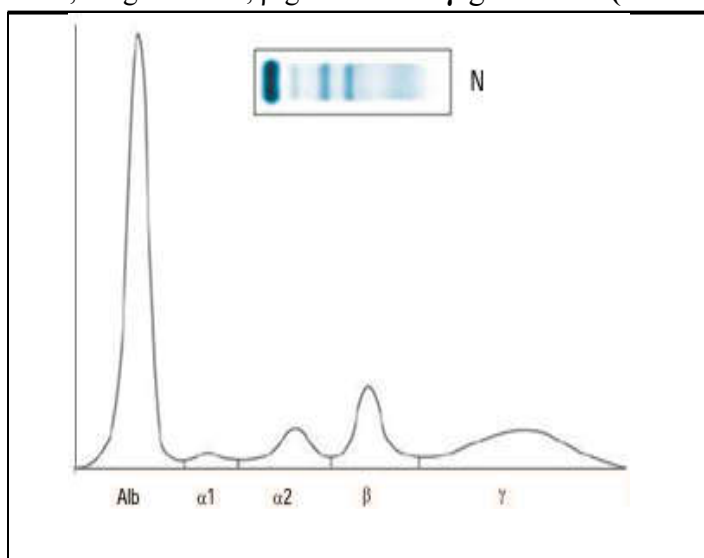


Figure 10 : Électrophorèse sur gel d'agarose des protéines sériques (THOMAS, 2015).

- ❖ **Alpha1-globulines, alpha2-globulines et bêta globulines** : sont synthétisées dans le foie, les alpha globulines transportent de nombreuses hormones dont le cortisol et la thyroxine tandis que les bêta globulines jouent un rôle important dans le transport des lipides comme le cholestérol, les vitamines (A, D et K), l'insuline et fer.

Il s'agit principalement de :

- ❖ Alpha1 globulines : alpha1 antitrypsine, alpha1-antichymotrypsine, orosomucoïde,....
- ❖ Alpha 2-globulines: alpha 2-macroglobuline, céruloplasmine, haptoglobine.....
- ❖ Bêta globulines: beta 2-macroglobuline, transferrine, C3,... (SZYMANOWICZ, *et al.*, 2006)
- ❖ **Gammaglobulines** : ce sont les anticorps, qui sont produits par les cellules du système immunitaire (BROOKER C., 2001) : elles sont composées de deux chaînes lourdes identiques appartenant à l'une des cinq classes, alpha, mu, gamma, epsilon, delta qui définissent la classe de l'Ig, et des deux chaînes légères identiques, soit kappa, soit lambda, qui définissent le type de l'Ig (CAQUETR, 2010)(Figure 10).

Chapitre 1. Revue bibliographique

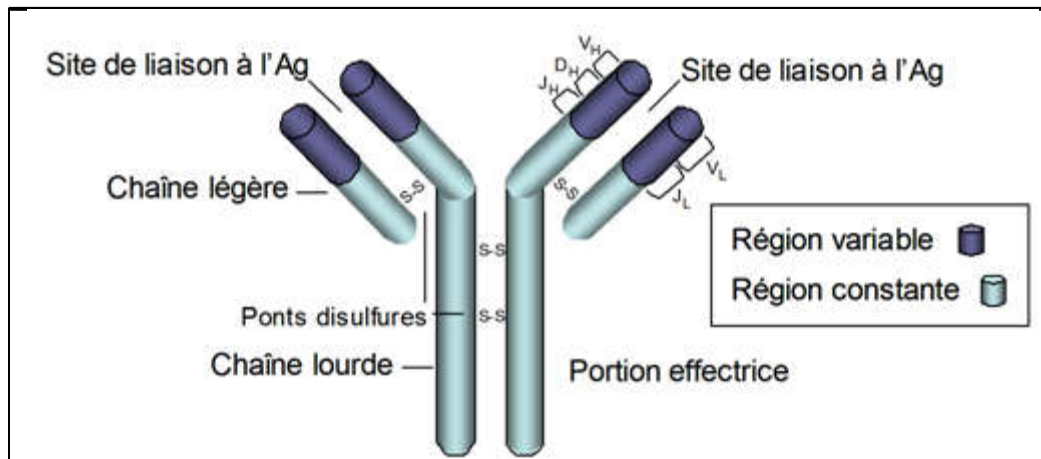


Figure 11 : Schéma d'une molécule immunoglobuline (LETONTURIEE P., 2007).

Les types des Ig : IgM, IgA, IgG, IgE, IgD (MALE D., 2007).

Au cours du SN une diminution du taux sérique des α 1-globulines et β -globulines est remarquée, par contre les : α 2-globulines augmente (HALOVET P., BERRYA, 2009).

La fuite urinaire des immunoglobulines G, entraîne un déficit de la réponse humorale et augmente le risque de survenance des infections bactériennes (DUCLOUX, 2008), (BEAUNE et coll., 1998).

Le tableau suivant présente les 5 fractions des protéines sériques et leurs fonctions biologiques :

Tableau 2 : Quelques protéines de chaque fraction : (MARSHALL, BANGERT et RAYNAUD, 2004), (HORN et coll., 2005).

Classe	Protéines	Concentration sérique (g/l)	fonctions
Albumine	Albumine	40	-Responsable majeure de la pression oncotique du plasma et de transport.
α 1-globuline	- α 1-antitrypsine	2.9	-Inhibition de la trypsine et d'autres substances.
	- α 1-glycoprotéine acide	1.0	-Transport de la progestérone.
α 2-globuline	-Haptoglobuline.	2.0	-Liaison de l'hémoglobine plasmatique.
	- α 2-macroglobuline.	2.6	-Liaison de protéase, transport du zinc.
	-Céruleplasmine.	0.35	-Transport du cuivre.
β -globuline	-Transferrine.	3.0	-Transport du fer.
	-LDL.	1.0	-Transport des lipides.
	-Compliment C3.	1.0	-Réponse immunitaire.
γ -globuline	-IgG	14	-Anticorps tardifs.
	-IgA	3.5	-Anticorps produit par les muqueuses.
	-IgM	1.5	-Anticorps précoces.

Matériels et méthodes

L'électrophorèse des protéines sériques est une technique permettant la séparation des protéines en fractions de mobilité différente, avec obtention de leur pourcentage relatif (**LE CARRER D., 1994**). Dans cette étude nous précisons l'utilisation de la technique de l'électrophorèse en gel d'agarose (hydragel).

1 Patients et méthodes :

1.1 Type et cadre d'étude :

Il s'agit d'une étude rétro et prospective de type transversal dans la période allant du mois de décembre 2015 au mois d'avril 2016 au niveau du laboratoire central, unité de biochimie de l'hôpital militaire universitaire régional de Constantine.

1.2 Echantillonnage :

1.2.1 Population malade

La population étudiée est constituée de 30 patients présentant un syndrome néphrotique, âgés de 2 à 70 ans, avec moyenne d'âge de 26.067 ans hospitalisés au niveau service de néphrologie de l'hôpital militaire universitaire Constantine.

1.2.1.1 Critères d'inclusion

Les 30 patients présentant sont tous hospitalisés, tout âge confondu, visant les deux sexes.

1.2.1.2 Critères d'exclusion

Les malades prélevés en ambulatoire possédant un dossier incomplet par manque des renseignements cliniques et de l'âge sont exclus de l'étude. Ces derniers sont nécessaires pour une meilleure interprétation des profils électrophrétiques.

1.2.2 Témoins

Ils sont au nombre de 04.

Le critère d'inclusion est :

- ✓ Sujets des deux sexes avec âge différents.

Les critères d'exclusion sont :

- ✓ Sujets ayant des antécédents médicaux personnels ou familiaux.
- ✓ Sujets prenant des médicaments au moment du prélèvement.
- ✓ Sujets refusant les prélèvements.

1.2.3 Support des données

Les informations et les renseignements cliniques et biologiques ont été récoltés à partir de dossiers de malades au niveau des services concernés.

1.3 Méthodologie :

1.3.1 Phase pré-analytique et modalité de prélèvement

Le préalable à la bonne réalisation de l'électrophorèse ainsi qu'à la qualité de son interprétation est de travailler sur un échantillon de sang veineux, recueilli sur un tube sec impérativement et sur un patient à jeun. L'analyse n'ayant aucun caractère d'urgence doit cependant être pratiquée dans la journée chaque fois que possible ou conservé entre 2 à 8°C pour un dosage différé. Cela évite ainsi la dégradation plus ou moins importante des protéines les plus fragiles (fraction du complément et lipoprotéines).

Le sérum, après coagulation d'une heure, est obtenu par centrifugation de 5 minutes à 3 000 rpm. L'aspect du sérum doit être limpide (absence de chylomicrons), exempt d'hémolyse et de fibrine (SZYMANOWICZ A., *et al.*, 2006).

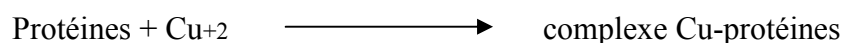
1.3.2 Phase analytique

La réalisation d'un profil électrophorétique est précédée par une première étape qui est le dosage global des protéines sériques.

1.3.2.1 Le dosage des protéines totales

Ce dosage repose sur une méthode colorimétrique adaptée sur l'auto analyseur COBAS 400 plus dont le principe est le suivant :

Les ions cuivriques du réactif de Biuret réagissent en solution alcaline (VALDIGUIE P., 2000), (DAWNAY A. B., *et al.* 1991), (VALIDIGUIE P., 2000) avec les liaisons peptidiques des protéines entraînant la formation d'un complexe pourpre caractéristique.



L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration en protéines.

Elle est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 552 nm (WEICHSELBAUM T. E., 1946).

1.3.2.2 L'électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose (hydragel) :

Type de support utilisé : gel d'agarose (hydragel).

L'électrophorèse sur gel d'agarose (Hydrasys®) est une technique semi automatisée permettant la migration et la séparation des protéines sériques en tampon alcalin (pH= 9.2) sur un gel d'agarose (Hydragel® protéine 15/30). Le système Hudrasys® (software 6.02.85) est un instrument multiparamétrique qui assure le traitement des Hydrogel selon les étapes suivants : application des échantillons non diluée, migration électrophorétique à 20W constants, séchage, coloration, décoloration, séchage final et lecture sur un densitomètre/scanner (Hyrys®, Sebia, version 4.16) à 570 nm, qui donne une séparation des protéines en cinq fractions de mobilité différente : albumine, α_1 et α_2 - globulines, β -globulines et γ globulines et une quantification relatives précise de chaque zone individualisée (LISSOIR B., *et al.*, 2003).

1.3.2.2.1 Mode opératoire :

Les échantillons a analysés : Sérums des malades (on utilise les sérums pour éviter l'action négative du fibrinogène sur la migration des protéines et par conséquent l'apparition des bandes anormales gênant la lecture densitométrique), éviter l'utilisation d'échantillons hémolysé et du plasma.

A) Préparation des échantillons :

Après le dosage de protides totaux, les sérums (échantillons) obtenu peuvent être conservés une semaine au réfrigérateur entre (2-8°C) (Pour des conservations prolongées "1mois" congeler les échantillons.

- Agiter 15 secondes au vortex (figure a).
- Déposer 12 μ l de sérum pur dans chaque puits ; le chargement de chaque applicateur ne doit pas excéder 2 minutes (figure b).
- Placer les applicateurs dans la chambre humide (figure c) et la placer au réfrigérateur pendant 5 min.



Figure a

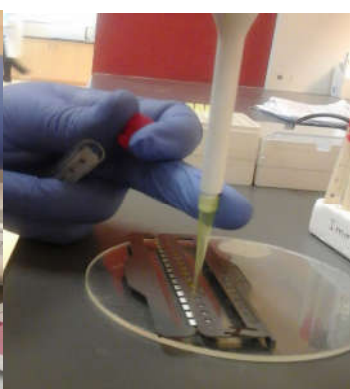


figure b



figure c

B) Préparation de la migration :

- Sélectionner le programme de migration "15/30 PROTEIN(E)" pour HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 dans le menu.
- Fixer les deux mèches tamponnées sur le chariot porte électrodes (figure d).



Figure d.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

- Déposer 200 μ l d'eau distillée ou déminéralisée pour hydrager le gel protéique (E) 15/30, sur le plateau de migration dans le tiers inférieur du cadre sérigraphié (Figure e).

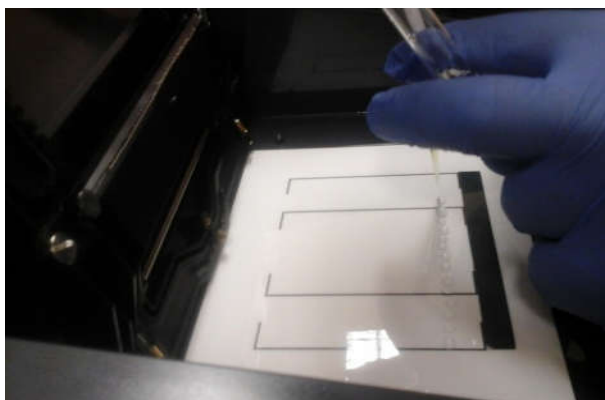


Figure e.

- Placer le gel (face gel orientée vers le haut) sur le plateau contre la barrette, à l'intérieur du cadre sérigraphié.
- Donner une forme concave au gel (Figure f) et le dérouler sur le plateau jusqu'au contact de la goutte d'eau qui doit se répartir sur toute la largeur du gel. Relever légèrement le gel pour éliminer les bulles d'air éventuellement piégées puis dérouler totalement le gel au contact du plateau. La goutte d'eau doit s'étaler sous toute la surface du film.

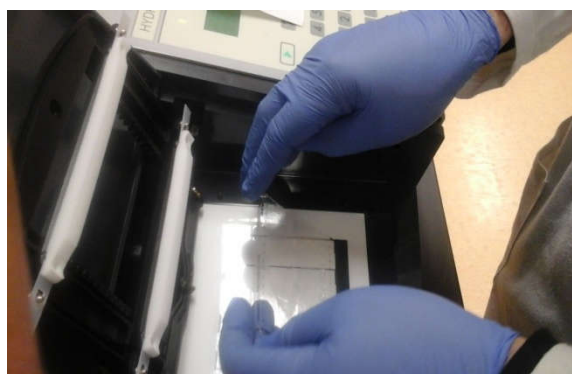


Figure f.

- Pour l'analyse de 30 échantillons, placer les applicateurs en positions N° 3 et 9 sur le porte-applicateurs (figure g)



Figure g.

- Fermer le capot du module de migration.
- Démarrer immédiatement la séquence en appuyant sur "START" (figure h).



Figure h.

C) Préparation des séquences de traitement du gel :

Placer le film sur le porte-film, face gel vers l'opérateur, en procédant comme suit (Figure i)



Figure i.

- Introduire le porte-film dans le module de traitement / coloration du gel (Figure j).

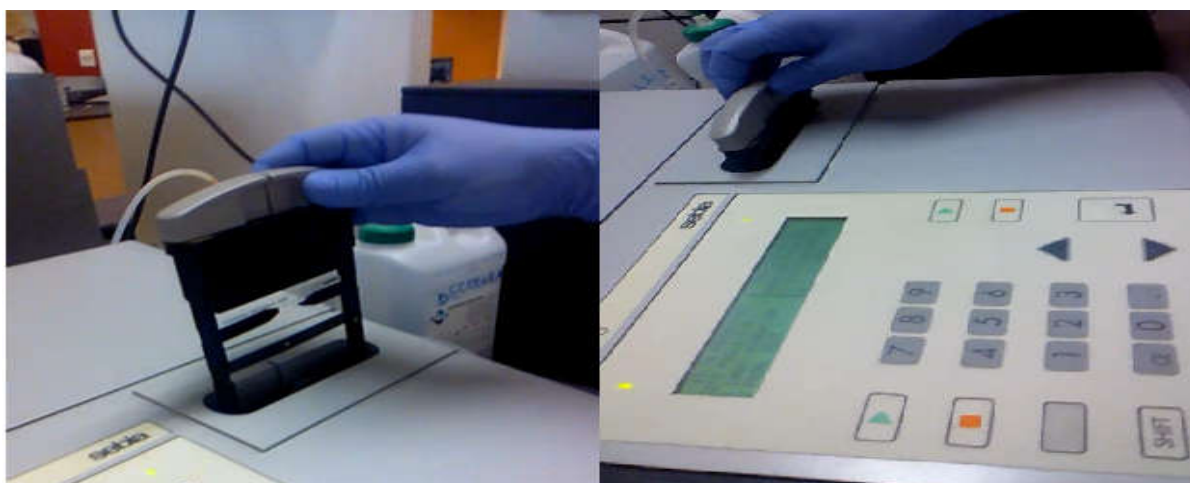


figure j.

Sélectionner le programme de coloration "PROTEIN(E)/B1-B2" dans le menu.

- Démarrer la séquence en appuyant sur "START" (Figure k).

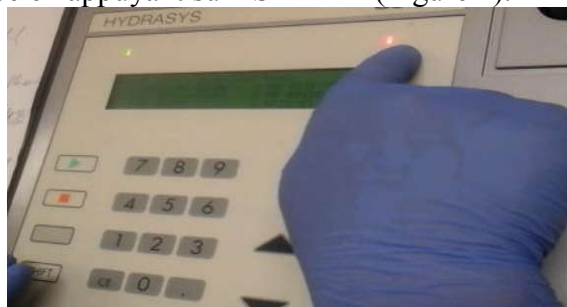


figure k.

Pendant toutes les séquences de coloration, décoloration et séchage, le système reste verrouillé. et chaque séquences prend un temps bien déterminé.

Quand la migration est fini (après une heure), un signal sonore (bip) retentit.

D) Fin du traitement du gel :

- Sortir le porte-film du compartiment ; ouvrir le porte-film et retirer le gel sec.

NOTE : Si des taches bleues résiduelles sont observées sur le gel après coloration / décoloration (figure l).



Figure l.

- Lire au densitomètre / scanner à 570 nm (figure m)



Figure m.

- La lecture à 570 nm par densitomètre permet de définir les concentrations relatives (pourcentages) de chaque fraction.

1.3.3 Phase post-analytique

La phase post-analytique correspond à l'interprétation des profils électrophorétiques et la discussion des résultats.

L'analyse statistique est effectuée par le calcul de la moyenne et l'écart types, en utilisant l'Excel 2007.

Moyenne : $\sum_{i=1}^N xi$

Ecart type : $\sigma_x = \sqrt{Var X}$

X : la moyenne arithmétique.

N : le nombre d'individus.

Var X : la variance.

σ : l'écart type.

Résultats et discussion

Chapitre 3. Résultats et discussion

Les recherches dans le domaine médical sont orientées aujourd'hui vers le pôle protéomique à cause de l'importance des protéines dans tous les mécanismes pathologiques qui touchent le corps humain.

Cette étude est de type rétrospectif. Elle a été faite sur 34 personnes réparties en deux groupes : une population de patients (30 malades présentant un syndrome néphrotique SN) et un groupe de témoins (04 individus) ne présentant aucune maladie.

I. Etude épidémiologiques :

Les malades ont été réparties selon plusieurs critères : âge, sexe, la région et les antécédents, présence ou absence des œdèmes et le type du SN.

1 Répartition des sujets témoins :

Ils son tau nombre de 04 (voir tableau 3) et sont répartis comme suit :

*03 personnes de sexe féminin, soit 75%, et 01 personne de sexe masculin, soit 25%.

* 02 enfants, soit 50%, un adulte, soit25% et un sujets âgé, soit 25%.

Tableau 3 : Répartition des témoins selon l'âge et le sexe.

	Masculin		Féminin		Total	
Age (ans)	N	%	N	%	N	%
<15	0	0	2	50	2	50
15-60	1	25	0	0	1	25
>60	0	0	1	25	1	25
Total	1	25	3	75	4	100

2 Répartition des sujets malades :

2.1 Répartition selon le sexe :

L'étude comprend 30 malades ayant un âge moyen de 26.067 ans avec un âge moyen de 29.18 ans pour les hommes et 23.64 ans pour les femmes (figure 12).

Tableau 4 : Répartition des patients en fonction du sexe.

Sexe	Effectif	Pourcentage %
Hommes	16	53.33 %
Femmes	14	46.67 %
Total	30	100 %

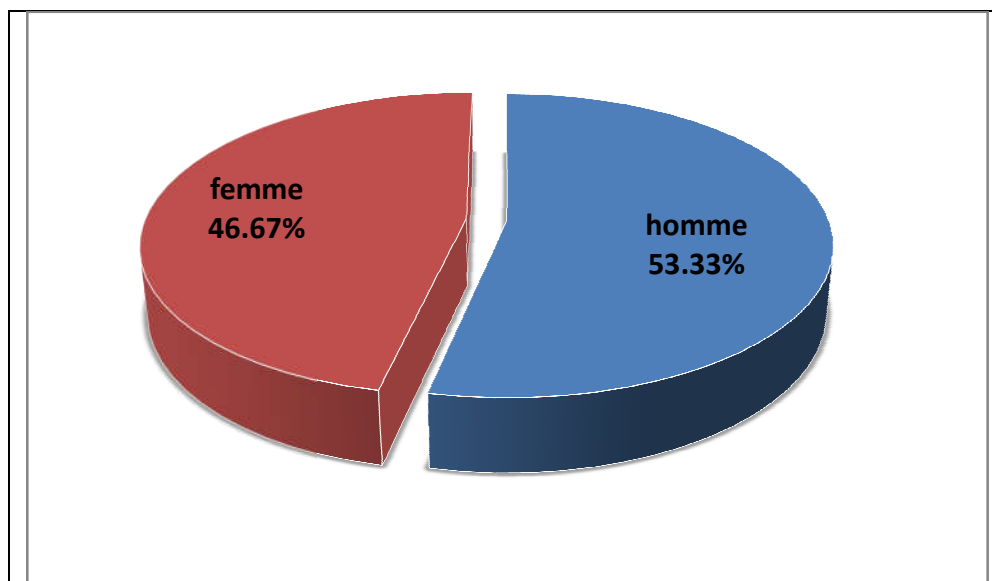


Figure 12 : Représentation graphique de la répartition des patients en fonction du sexe.

Dans notre étude Le sexe des patients était réparti comme suit :

- ❖ 14 femmes sur 30 soit 46.67 %.
- ❖ 16 hommes sur 30 soit 53.33 %.

Ces résultats sont similaires aux résultats de **AIT LAHCEN Z., 2013** qui se trouve 54 hommes (50,9%) et 52 femmes (49,1%).

Sexe-ratio

La répartition des patients selon le sexe a montré une égalité, avec 16 hommes (53.33%) et 14 femmes (46.67%) (Figure12). Le sexe-ratio (nombre d'hommes / nombre de femmes) a été de 1,14 qui est proche de 1 (**NIAUDET P., et al., 2008**).

La maladie est transmise selon le mode autosomique et récessif, les deux sexes sont donc également touchés (**BADOEEV., KUMOJUI R., 2008**) ; (**TEKA C., 2009**) ; (**HALLMAN N., 1973**) ; (**FOLASHADE ADEKANMBI A., 1985**).

Donc, il n'y a pas de prédominance entre les deux sexes, le SN affecte les deux sexes dans presque les mêmes proportions, similaire aux résultats de **INOIRENE M. H., 2002**.

2.2 Répartition selon l'âge et le sexe:

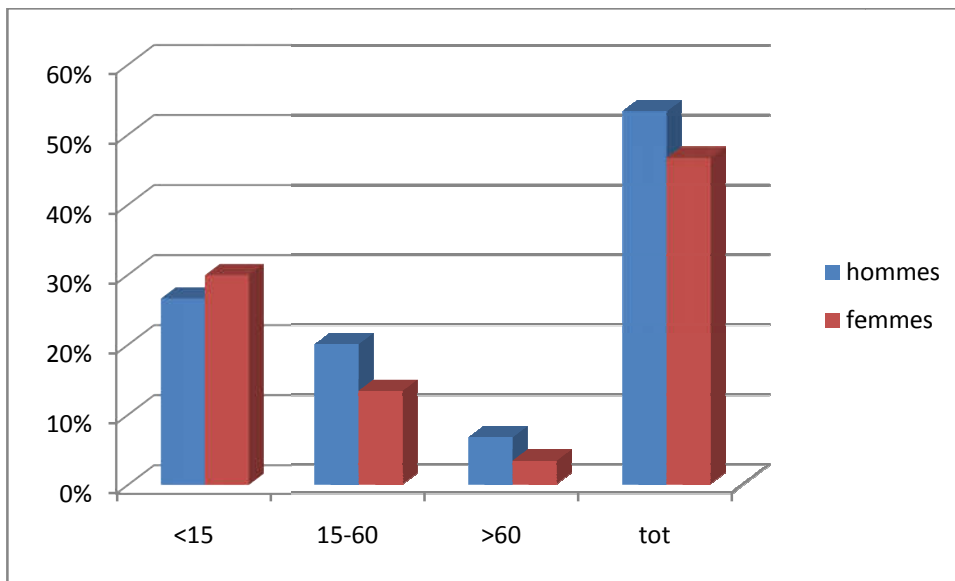


Figure 13 : Répartition des malades en fonction de l'âge et le sexe.

Parmi les 30 malades : 17 patients ont un âge inférieur à 15 ans, soit 56.67%, 10 patients entre 15 et 60 ans, soit 33.33%, et 3 patients supérieurs à 60 ans, soit 10%, similaire aux résultats des plusieurs études : **LOIRAT C., 1985 ; RUSSEL W., CHESNEY MD., 1999 et INORENE M. H., 2002**, qui trouvent que le syndrome néphrotique est prédominant chez les enfants (70%) (**DESCHENES, G., LECLERC A., 2010**).

Chez les enfants, c'est le sexe féminin qui est le plus fréquente (9/17 cas, soit 52.94%). Ces résultats s'opposent avec ceux d'**AZIB S., et al., 2011**, qui ont travaillé sur 90 enfants dont 74% sont des garçons.

Contrairement aux enfants, les prédominances chez les adultes est masculin (6/10 cas, soit 60%) ceux qui conforme avec les résultats d'**AKYOL T., et al., 2007**.

Pour les sujets âgés le sexe masculin est le prédominant avec 66.66%.

2.3 Répartition selon la région

Les malades ayant un SN hospitalisés dans l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine viennent de plusieurs wilayas de l'Est algérien (figure 14).

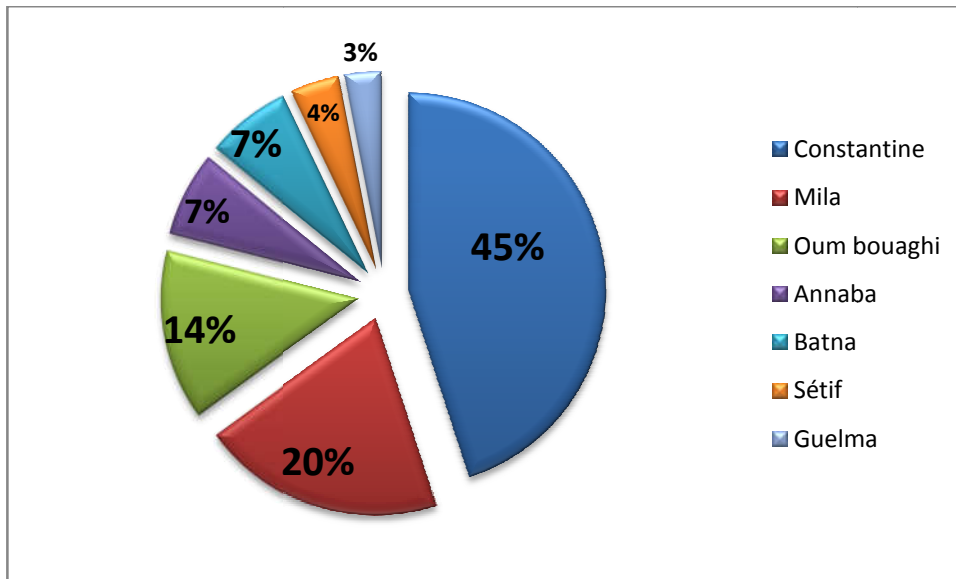


Figure 14 : Répartition des malades selon la région.

Le SN est une maladie universelle qui touche tous les ethnies sur tous les régions et les continents (DESCHENES G., LECLERC A., 2010).

La répartition des malades selon les régions montre que la majorité est originaire de la wilaya de Constantine avec un pourcentage de 45%. Viennent ensuite la wilaya de Mila, Oum Bouaghi, Annaba, Batna, Sétif et Guelma.

2.4 Répartition selon les antécédents :

Les personnes qui présentent un syndrome néphrotique peuvent avoir d'autres pathologies associées.

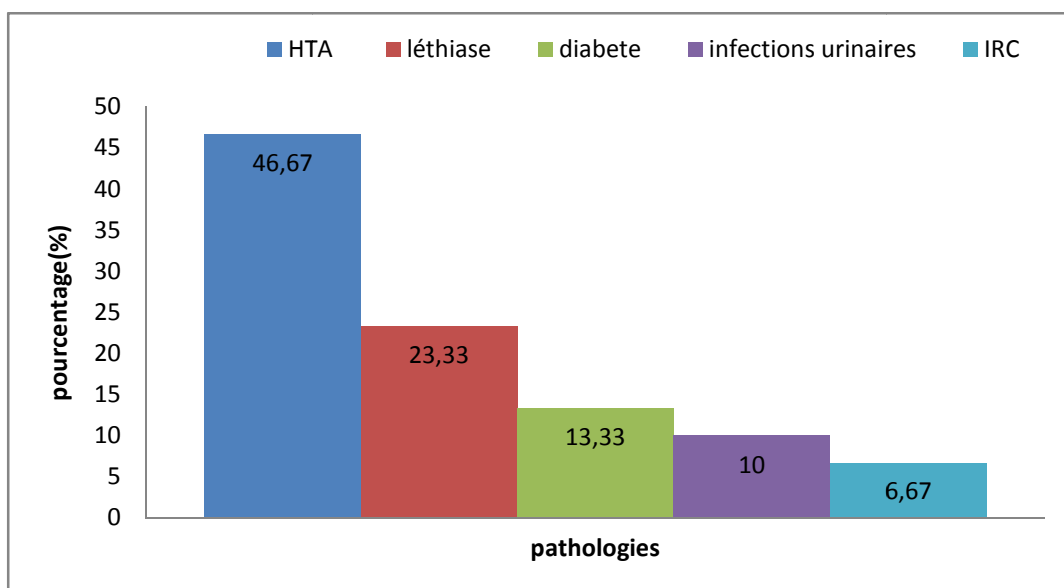


Figure 15 : Répartition des malades en fonction des antécédents.

Chapitre 3. Résultats et discussion

D'après la figure 15, l'HTA est observé chez la majorité des cas avec un pourcentage de 46.67%, puis lithiase (23.33%) et le diabète (13.33%), contrairement aux résultats de CHEMLI J. et *al.*, 2008 qui ont trouvés que l'HTA est présente chez 1 %.

Au cours du syndrome néphrotique, la baisse de la pression oncotique provoque une réabsorption massive d'eau et du sodium (HAYMANN J. P., 2002), cette rétention sodique provoque directement l'hypertension artérielle (HALIMI J. M., 2011).

Chez les diabétiques, la pression intra glomérulaire augmente et les glomérules se dilatent ce qui provoque initialement une hyper filtration, et donc un endommagement des glomérules (YOUNG J., 2011), les qualités fonctionnelles du filtre glomérulaire diminuent (LASARIDIS A. N., SARAFIDIS P. A., 2005) et donc, les protéines et surtout l'albumine peuvent passer dans les urines (BOUVENOT G., et *al.*, 1994).

2.5 Répartition selon la présence des œdèmes :

La plus part des patients atteints d'un syndrome néphrotique présentent un syndrome œdémateux.

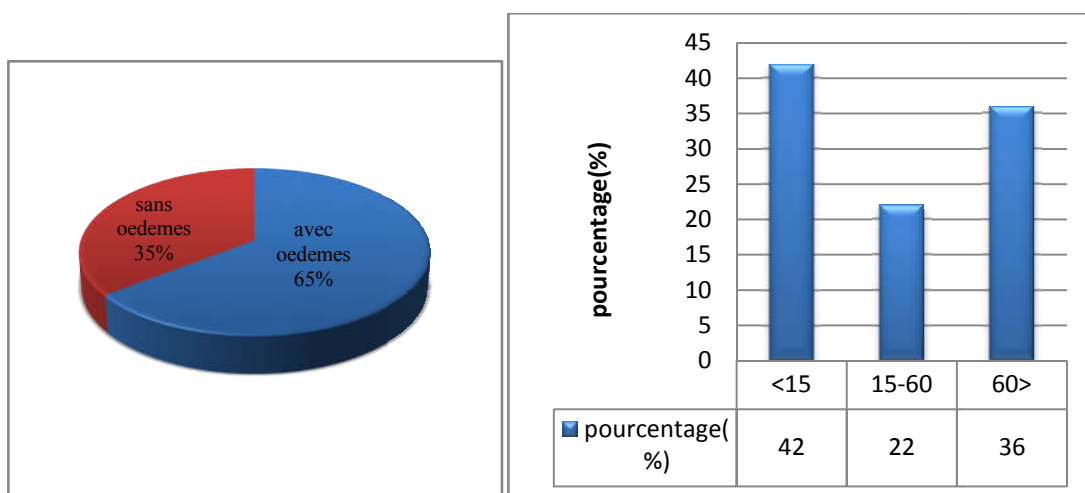


Figure 16 : Répartition des malades en fonction des œdèmes.

Les résultats de la répartition des malades en fonction des œdèmes sont confirmés par la bibliographie (GARCIA et coll., 2004) ; (NIAUDET, 2008) ; (DESHENES et coll., 2004).

Selon la figure 16 : 65% des patients présentent un syndrome œdémateux ceci est similaire avec les résultats de ABDOULAYE M. A., 2005. La plus part sont des enfants (42%), ensuite les patients âgés (36%) et les adultes (22%).

Les œdèmes sont dus à l'accumulation du liquide dans les tissus à cause de la diminution de l'albumine (hypoalbuminémie) suite à une diminution de la pression oncotique (BEERS M. H., et *al.*, 2007).

Les œdèmes représentent le signe majeur et sont presque constants (ANTIGNAC C., 2005), (HALLMAN N., et *al.*, 1973)

Les œdèmes deviennent cliniquement détectables lorsque la rétention hydro sodée dépasse 3 à 5% du poids du corps (NIAUDET P., et *al.*, 2000).

Chapitre 3. Résultats et discussion

Ces œdèmes se localisent au niveau des jambes et des chevilles en position debout, et au niveau des lombes en position couchée. Il s'agit d'œdèmes blancs, mous, indolores, prenant le godet (NIAUDET P., 2000).

Pour notre étude, chez 30 patients, soit 65% des cas, les œdèmes étaient le signe majeur, dont le siège principal était le visage et les membres inférieurs.

Les études récentes montrent que les œdèmes du SN sont liés directement à l'hypoalbuminémie. En effet l'équilibre normal entre les pressions hydrostatique et oncotique fait qu'il y a un flux liquidien net vers l'extérieur des capillaires au niveau du pôle artériel et un flux net vers l'intérieure du pôle veineux (BERREBI, 2003).

2.6 Répartition selon le type de SN :

La majorité des malades, soit 67 %, présente un syndrome néphrotique pur. Le reste a un syndrome néphrotique impur. Les résultats sont mentionnés dans la figure 17.

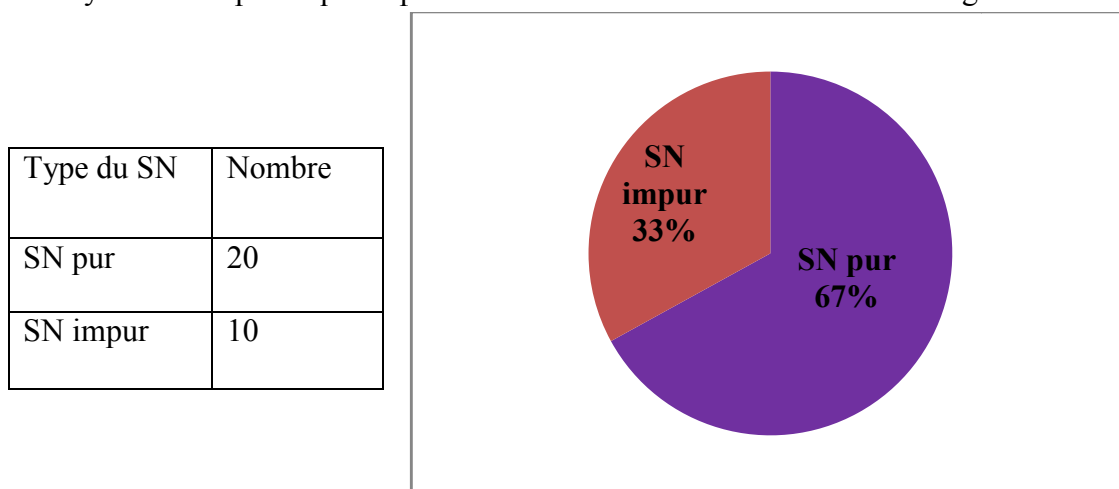


Figure 17 : Répartition des malades selon le type du SN.

D'après la figure 17 : la majorité des malades, soit 67%, présente un syndrome néphrotique pur. Le reste a un syndrome néphrotique impur, ces résultats sont proches de ceux d'EL HASSANI H., 2012.

2.7 Répartition des patients selon l'âge et le type de SN :

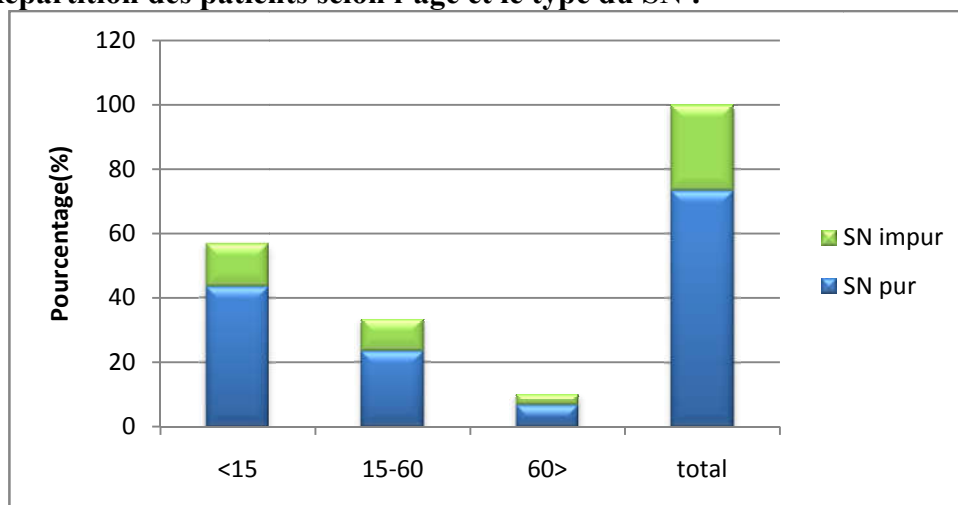


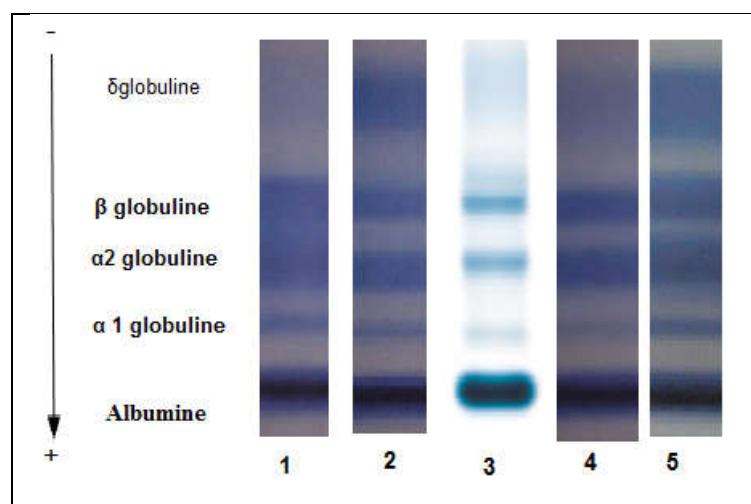
Figure 18 : Répartition des patients selon l'âge et le type du SN.

La répartition des malades en fonction de l'âge et de type de syndrome néphrotique montre que la plus part des enfants présentent un SN pur soit 67% (20cas sur 30) ceci conforme avec les résultats de **CHEMLI J., et al., 2010**, et de **MOYEN et coll.** Les données de la littérature montrent que le SN pur est rencontré le plus fréquemment chez les enfants avec une néphrose lipoïdique (**GARCIA et coll., 2004**).

Pour les adultes et les sujets âgés, le SN pur est également dominant (6/10 soit 60%), (3/4 soit 75%) successivement.

II. Electrophorèse sur gel d'agarose des protéines sériques :

L'électrophorèse sur gel d'agarose a permis la séparation des protéines sériques de 30 patients et des 4 témoins. Les électrophorégrammes de 4 patients et d'un témoin sont présentés dans la figure 19.



3 : témoin ; 1, 2, 4,5 : malades ayant le syndrome néphrotique

Figure 19 : Comparaison entre l'électrophorèse des protéines sériques sur gel d'agarose d'un témoin et de 4 malades.

Les protéines sériques sont séparées en cinq fractions. La plus intense est l'albumine. Celle-ci migre en premier lieu vers l'anode puis, l'α1-globuline, l'α2-globuline, la β-globuline et enfin la γ-globuline.

La comparaison entre un témoin et les malades (voire figure 19) montre :

- la fraction albumine de témoin est plus intense que celle de malade.
- L'α2-globuline est plus intense chez les malades que chez le témoin, avec une élévation ou non de l'intensité de β-globuline des malades et diminution de la fraction γ-globuline par rapport au témoin.

La lecture par densitomètre des électrophorégrammes donne :

- ❖ Chez les sujets témoins :
 - protides totaux : 68g/l.
 - albumine : 42.7 g/l

Chapitre 3. Résultats et discussion

- α 1-globuline : 2.7 g/l
- α 2-globuline : 6.5 g/l
- β -globuline : 5.15 g/l
- γ -globuline: 10.95 g/l

Ces résultats de l'état normal sont similaires avec les résultats d'ALBAREDE et coll., 2005.

❖ Chez les sujets malades :

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Répartition des protéines sériques en fonction de l'électrophorèse en gel d'agarose

	Basse		Normal		Augmented	
	N	%	N	%	N	%
Protides totaux	29	96.97	1	3.33	0	0
Albumine	30	100	0	0	0	0
α 1 globuline	0	0	20	66.67	10	33.33
α 2 globuline	0	0	6	20	24	80
β globuline	9	30	20	66.66	1	3.34
γ globulines	26	86.67	4	13.33	0	0

La représentation graphique du tableau 5 dans la figure 20 :

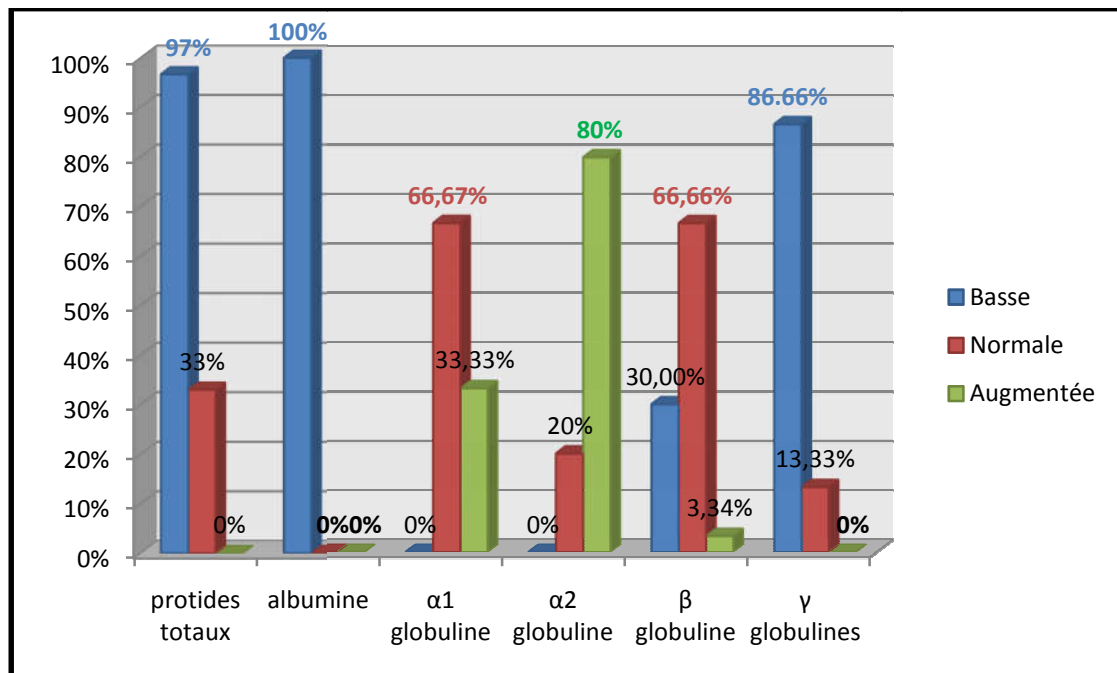


Figure 20 : Représentation graphique du tableau 5.

A partir de ces résultats on remarque les points suivants :

Chapitre 3. Résultats et discussion

- ✚ Une hypoprotidémie chez la majorité des patients, soit 97%.
- ✚ Une hypoalbuminémie chez tous les patients soit 100%.
- ✚ Une hyper α 2-globulinémie chez 80% des cas.
- ✚ Une hypo β -globulinémie chez 30% des cas, valeur normale dans 67%, une hyper β -globulinémie chez 3% des cas.
- ✚ Une hypo γ globulines chez 87% des cas, valeur normale dans 13%.

Ces résultats sont proches de ceux de **NIAUDET, 2008 ; MAISONNEUVE, 2004 ; JEHANNE M., et al., 2006 et ALILOUTE, 2010**, qui ont montré que non seulement une hypoalbuminémie mais également une augmentation des alphas 2-globulines et à un moindre degré, des bêta globulines, tandis que le taux des gammaglobulines est variable en fonction de la cause et du stade du syndrome néphrotique. On peut mentionner également que la protidémie est basse chez 97% des patients alors qu'elle est normale chez 3% des patients. Ce qui concorde avec les résultats de plusieurs auteurs ou la protidémie est inférieure à 60 g/l (**BERREBI W., 2008**).

D'autre part, nous constatons une variabilité des résultats de l'électrophorèse des protéines sériques similaire à celle rapporté par **NIAUDET, 2008 ; KEREN, 2003 et THOMAS, 2015**. Ces auteurs ont montré une hypoalbuminémie qui s'explique par la fuite urinaire de l'albumine sérique en raison de son faible poids moléculaire. Alors que l'hyper alpha 2-macroglobuline est liée à l'augmentation de la synthèse hépatique de ce dernier par un mécanisme de compensation, et quand il s'agit une protéine de haut poids moléculaire, il sera retenu dans le sérum au niveau du glomérule. Et pour ces raisons l'alpha2-macroglobuline devient chez plusieurs patients « protéine majeur du sérum » (**KEREN, 2003**).

D'autre part, nos résultats montrent une bêta globulinémie normale ou démunie, contrairement à ceux signalés par les mêmes auteurs. Probablement due à une fuite urinaire de la transferrine.

L'augmentation de la bêta globuline se caractérise principalement par une synthèse accrue de bêta lipoprotéines ; macroprotéine ne franchissant pas la barrière glomérulaire.

L'hypo gamma globulinémie, résulte de fuite urinaire des IgM et IgA dépend de la degré d'affection glomérulaire (**KEREN, 2003**) Figure 20.

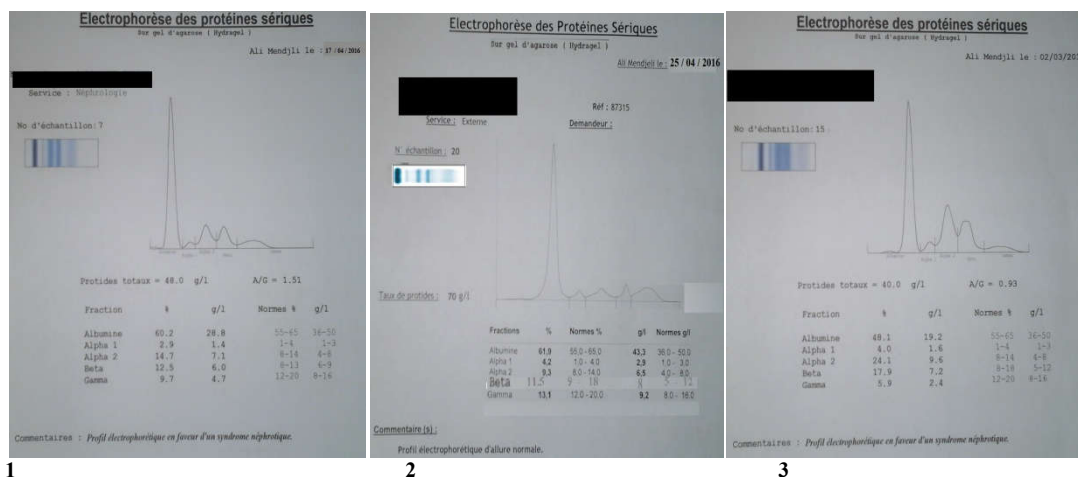


Figure 21 : Profils électrophorétiques du syndrome néphrotique sur gel d'agarose : 1 et 3 malades, 2 témoins.

Syndrome néphrotique

- Diminution de certaines fractions par fuite glomérulaire des molécules de petite taille:
 - ❖ albumine
 - ❖ α 1 antitrypsine et orosomucoïde migrant en α 1
 - ❖ de la transferrine migrant en β et diminution des IgG migrant en γ .

Chapitre 3. Résultats et discussion

- Augmentation de la synthèse hépatique de macroprotéines pour limiter la diminution de la pression oncotique et formation des œdèmes :
 - ❖ α_2 macroglobulines, haptoglobuline, de la synthèse des LDL migrant en α_2 .

En conclusion ; l'électrophorèse des protéines sériques en gel d'agarose (Hydragel) a permis de confirmer le SN par diminution des fractions alpha1 globuline et l'augmentation des alphas 2 globulines associées à une hypo albuminémie et une hypo gamma globulinémie.

Conclusion
Conclusion

Conclusion

Conclusion :

Notre étude a montré que le syndrome néphrotique est une pathologie rénale relativement fréquente. L'étude des protéines sériques du SN chez 30 individus permis de tirer plusieurs conclusions.

Le syndrome néphrotique touche tous les âges, avec une prédominance masculine (53.33%). Ces patients présents des œdèmes dans (35%) des cas. Le SN peut rester pur (67%) ou bien se compliquer d'IR, de lithiase ou bien d'HTA et devenir alors impur (33%).

Le dosage de protidémie montre : une hypoprotidémie inférieure à 60g/l chez 97% des patients.

L'électrophorèse des protéines sériques révèle des profils anormaux se caractérisant par une :

- ❖ Hypoalbuminémie chez l'ensemble des patients
- ❖ Hyperalpha2-globuline chez 80%.
- ❖ Hyperalpha1-globuline chez 33.33%.
- ❖ Bêta globulinémie basse chez 30% des patients.
- ❖ Hypo gamma globulinémie chez 86.66%.

La séparation des protéines sériques permet d'analyser les différents profils électrophorétiques qui nous a permis de :

- Constaté que chacun des échantillons présente un profil protéique qui lui est propre.
- Remarquer que chaque profil protéique peut rassembler ou pas à un autre par l'absence ou la présence d'une ou plusieurs bandes protéiques.
- Déterminer que le protéome sérique ne présente aucune trace de protéines (profil des témoins).
- Montrer qu'au cours d'un syndrome néphrotique, la quantité et la qualité des protéines sériques donnent plusieurs informations sur la maladie.

L'électrophorèse sur gel d'agarose (hydragel) des protéines sériques ce n'est pas une moyenne efficace pour le diagnostic des protéines sérique, il est une moyenne efficace pour confirmer l'atteint d'un SN, utilisé encore pour leur intérêt de suivre l'évolution de ce dernier chez les malades sous traitement. Il doit être accompagné avec autres tests : protéinurie, dosage de lipides, créatinine... .

Résumé

Résumé

Résumé :

Le syndrome néphrotique est la néphropathie glomérulaire la plus fréquente en Afrique qu'en Europe, elle occupe la deuxième place parmi les pathologies rénales après les infections urinaires.

Il est lié à une augmentation de la perméabilité glomérulaire qui est à l'origine de plusieurs complications, et se caractérise par une hypo protidémie, hypo albuminémie et hyper alpha 2 globulinémie.

Dans ce travail, nous avons utilisé l'électrophorèse sur gel d'agarose(hydragel)des protéines sériques comme technique pour diagnostiquer le SN chez une population de 30 malades hospitalisés au niveau du service néphrologie de l'hôpital militaire régional Constantine.

Cette étude a porté sur la protidémie au cours du syndrome néphrotique, afin de déterminer la relation entre la protidémie et les anomalies biologiques au cours du syndrome néphrotique. La séparation des protéines sériques par la technique d'électrophorèse en gel d'agarose (hydragel) prouve son intérêt dans le suivre et le diagnostic du SN ainsi la caractérisation de la protidémie.

Le laboratoire central de biochimie de l'hôpital militaire régional de Constantine grâce à la qualité des bilans effectués, de matériels utilisés et l'expérience de son personnel constitue une unité absolument indispensable et performante dans le diagnostic et la surveillance de la thérapeutique des patients de syndrome néphrotique.

Mots clés : syndrome néphrotique, protéines sériques, électrophorèse, gel d'agarose.

ملخص:

الداء النيفروزي (SN) هو اعتلال الكلية الكبيبي الأكثر شيوعا في أفريقيا أكثر منه في أوروبا، يحتل المرتبة الثانية بين أمراض الكلى بعد التهابات المسالك البولية، ويعود سببه إلى زيادة نفوذية الكبد التي تسبب حدوث عدة مضاعفات و يتميز بانخفاض معدل البروتينات المصلية، انخفاض الألبومين في المصل و ارتفاع الالفا 2 غلوبولين. في هذا العمل قمنا باستعمال طريقة الرحلان الكهربائي بهلام الاغاروز (hydragel) وذلك لفصل البروتينات المصلية من اجل تشخيص الداء النيفروزي، العمل نفذ على 3 شهود و 30 مريض على مستوى مختبر الكيمياء الحيوية المركزي التابع للمستشفى العسكري الجامعي الإقليمي بقسنطينة.

هذه الدراسة اعتمدت على قياس معدل البروتين في المصل خلال المتلازمة النيفروزية لتحديد العلاقة بين معدل البروتين الكلي والتشوهات البيولوجية اثناء المتلازمة النيفروزية.

فصل البروتينات في المصل باستعمال تقنية الرحلان الكهربائي بهلام الاغاروز (hydragel) يثبت أهميتها في تشخيص و متابعة SN من خلال تحديد تركيز البروتينات المصلية.

مختبر الكيمياء الحيوية المركزي التابع للمستشفى العسكري الجامعي الإقليمي بقسنطينة بسبب نوعية التحاليل المنجزة و الاجهزة الحديثة المستعملة ذات الدقة العالية، السرعة والتجربة الشخصية لطاقم العمل التابع له يشكل وحدة حيوية وقوية في تشخيص ورصد مرضى الداء النيفروزي.

الكلمات المفتاحية: الداء النيفروزي، بروتينات مصلية، هجرة كهربائية، هلام الاغاروز.

Summary

Summary:

Nephrotic syndrome is the most frequent nephropathy glomerular in Africa than Europe, it occupies the second place among kidney disease after urinary tract infections, it is linked to an increased glomerular permeability that is causing more complications and is characterized by hypo serum protein, hypo serum albumin and hyper alpha 2 globulin.

In this work, we used electrophoresis on agarose gel (Hydragel) serum proteins as a technique to diagnose the SN in a population of 30 patients hospitalized in the nephrology service of the regional military hospital in Constantine.

This study investigated the serum protein in the nephrotic syndrome, to determine the relationship between serum protein and biological abnormalities in nephrotic syndrome.

The separation of serum proteins by agarose gel electrophoresis technique (Hydragel) proves its interest in the monitoring and diagnosis of the SN and the characterization of serum protein.

The central biochemistry laboratory of the regional military hospital of Constantine because of the quality of performed assessments of materials used and the experience of his personal constitute a vital and powerful unit in the diagnosis and monitoring of therapeutic syndrome patients nephrotic.

Key words: nephritic syndrome, serum proteins, electrophoresis, agarose gel.

Annexe

Annexe

Annexe 1 :

Réactif du biuret

Tableau 1.composition et concentration du réactif du Biuret.

composants	Concentrations (mmol/l)	
	R1	R2=SR
Hydroxyde de sodium(NaOH)	400	400
Tartrate de potassium et de sodium	89	89
Iodure de potassium	/	61
Sulfate de cuivre	/	24,3
pH	13,4	13,2

R1 : Réactif alcalin

R1=R2 : réactif du biuret.

Annexe 2 :

La composition du kit de réactif Hydragel® 15/30 protéine comprend :

-**des mèches tamponnées** (jouant un rôle de réservoir de tampon pour l'électrophorèse et assurant le contact entre le gel et les électrodes).

- **du colorant Amidoschwarz** (solution acide a pH = 2 ; à 4 g/l) :

Ajouter 15ul de diluant colorant au flacon du colorant (AMIDON SCHWARZ)

Agiter bien puis ajouter 300ml de l'eau distillée

-**De l'éthylène glycol** (6,7 %).

-**Des applicateurs.**

-**Des papiers filtres.**

-**10 gels d'agarose** prêts à l'emploi. Chaque gel contient 8g/l d'agarose et du tampon Tris-barbital a pH=9,2.

-**une solution de décolorant** contenant 0,5g/l d'acide citrique (à diluer au 1/1000 avec de l'eau distillée). (Chaque flacon de solution de lavage HYDRASYS concentrée (SEBIA, référence N° 4541 : 10 flacons de 80 ml chacun) doit être complété à 5 litres

Avec de l'eau distillée).

-**une solution de lavage hydrasys®** (tampon alcalin pH = 8,8 ±0,3 et azoture de sodium 0,625%).

Annexe 3 :

Équipement et accessoires nécessaire

1. Système HYDRASYS SEBIA, référence N° 1200, N° 1201, N° 1202, N° 1203, N° 1210 ou N° 1211.
2. Micropipetteur, manuel ou automatique, tel que HYDRAPLUS SEBIA, référence N° 1216 ou HYDRAPLUS 2 SEBIA, référence N° 1217, pour le chargement des applicateurs.
3. Chambre humide, référence N° 1270, fournie avec le système HYDRASYS.
4. Bidons plastiques fournis avec le système HYDRASYS.
5. Pipettes de 10 µl et 200 µl.
6. Densitomètre / scanner capable de lire un film de 82 x 51 mm ou 82 x 102 mm à 570 nm (filtre jaune) : HYRYS SEBIA, GELSCAN SEBIA, DVSESEBIA ou scanner équipé du logiciel PHORESIS SEBIA. Se reporter aux instructions de chaque appareil pour son utilisation et sa calibration.
7. Porte-film pour le traitement des demi-gels SEBIA, référence N° 1278.

Annexe 4 : pourcentage et concentration des fractions et protéines séparés par électrophorèse sur gel d'agarose

Fraction	protéines	Gel d'agarose	
		%	g/l
Albumine	Albumine	55-65	36-50
α1-globuline	alpha1 antitrypsine, alpha1-anti chymotrypsine, orosomucoïde	1-4	1-3
α2-globuline	Alpha 2-macroglobuline, céruloplasmine, haptoglobine.....	8-14	4-8
β-globuline	beta2macroglobuline, transferrine, C3	8-13	6-9
γ-globuline	IgM, IgA, IgG, IgE, IgD	12-20	8-16

Annexe

Annexe 5 :

malades	sexe	âge	Protides totaux	Albumine	α 1-globuline	α 2-globuline	β -globuline	γ -globuline
1.	M	65	35	9.8	1.7	9.5	8.4	5.6
2.	M	29	40	21.5	2.5	6.7	5,6	3.8
3.	F	12	33	12,9	2.5	9.9	4,3	3.4
4.	F	48	33	12.1	2.5	10.9	4,2	3.3
5.	M	47	41	14	4.5	7.8	4,5	10.3
6.	M	14	44	27.7	2.9	7.9	3,5	2.1
7.	M	5	41	18	1.7	13	4,9	3.4
8	F	12	39	11,9	2	11	9,8	4,3
9.	M	21	28	14.4	1.6	6.5	2,7	2.8
10.	F	7	58	19.1	3.8	13.1	15,9	6,1
11.	M	22	48	25.4	3.3	8.6	5	5,7
12.	M	11	28	4.5	1.2	9.6	7,8	4.9
13.	M	36	29	15.2	1,1	4.4	4	4,3
14.	M	70	40	14.5	2.3	11	5,2	7.1
15	M	4	54	28.2	3,1	13.6	6	3.1
16.	F	51	51	22.1	2.8	11.5	7,8	6.8
17	F	2	55	23.4	2.5	11.5	8.5	9.1
18	M	6	52	27.8	2.7	11.9	5,9	3.8
19	M	21	48	28.8	1.4	7.1	6	4.7
20	F	3	57	31	3.6	9,6	5,3	7.5
21	F	4	41	18.4	3.3	12.6	4,4	2.4
22	F	5	46	21.1	1.9	10.6	8.5	3.9
23	M	30	30	5,7	2,5	9,7	8,8	3,3
24	M	7	55	20	3.4	11.1	10.1	10.4
25	M	10	37	11.2	3.5	11.3	6.7	4.3
26	F	42	37	8.8	3.9	11.4	6.4	6.3
27	F	9	60	26.1	2.3	12.5	9.3	9.8
28	F	11	40	17	3.7	18.1	0.6	0.7
29	F	29	41	21.2	2.7	8.3	5.5	3.3
30	F	65	40	19.2	1.6	9.6	7.2	2.4

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Les références bibliographiques :

-**Abdoulaye M. A., 2005.** Protéinurie et syndrome néphrotique de l'adulte dans le service de néphrologie et d'unité d'hémodialyse de l'HNPG : à propos de 65 cas. Thèse de doctorat : médecine. République du MALI : Université de Bamako. pp. 1027-1050.

-**Ait Lahcen Z., 2013.** Néphropathies Glomérulaires : profil épidémiologique, thérapeutique et évolutif au CHU Mohammed VI de Marrakech. Thèse de doctorat : médecine. République du Maroc : Université de Marrakech. pp. 40-46.

-**Akyol T., Bulucu F., Senoro O., Yamanel L., Aydine A., Inal V., Bozoglu E., Demirkaya E., Eken A., Musabak U., 2007.** Functions and Oxidative Stress Status of Leukocytes in patients with Nephritic Syndrome. Biological Trace Element Research. 116: 237-247.

-**Albarede S., Hattchouel J-M., Guyard A., Nicolas A., Burg E., Daunizeau A., 2005.** Immunoglobuline monoclonale : contrôle national de qualité et démarche diagnostique. Annales de biologie clinique 63 : 107-112.

- **Antignac C., 2005.** Anomalies génétiques du podocyte/Inflammation médecine-science Actualités néphrologiques (www.medecine.flammarion.com).

-**Aubert F., Guitard Ph., 1995.** L'essentiel médical de poche. Ellipses/AUPELF, 611p.

-**Ba I., 1986.** Contribution à l'étude du syndrome néphrotique dans le service de néphrologie de l'hôpital national du Point G. Thèse Med, Bamako.

- **Badoe V., Kumoji R., 2008.** Congenital Nephritic Syndrome of the Finnish Type Ghana Med J., 42 (1): 42-44.

- **Ballmer P., Weber bk roy-chaudhury P., Menurlan M, Watson H., Power D., Garlick P., 1992.** Elevation of albumin synthesis rates in nephritic patients measured with leonine, Kidney Into; 41: 132

-**Bariety J., Caprpn L., Grateau G., 2009.** Sémiologie clinique. MASSON. 8^e Ed. pp. 237-238.

-**Beers M. H., Fletcher A. J., Porter R., Berkwits M., Kaplan J. L., L'encyclopedie Medical. LAROUSSE. PP. 824, 840.**

-**Berard E., Broyer M., Dumas R., Echart Ph., Frichbach M., Loirat Ch., Martinat L., 2002.** Généralités sur le syndrome néphrotique pur de l'enfant. La revue de la société de Néphrologie Pédiatrique.

- **Bernard L., 2013.** Physiologie du rein et bases physiopathologique des maladies rénale : 43, N° 451. pp : 25-37.

Références bibliographiques

- Berrebi W., 2003.** Néphrologie. Estem Ed : Paris. 100-101-102.
- Berrebi W., 2008.** Néphrologie. Estem Ed : Paris. 100-102.1994. Pathologie médicale : pneumologie, néphrologie, cancérologie, nutrition. MASSON.pp. 370.
- Bhatchary A., Curry S., Franks N. P., 2000.** Binding of the General Anesthetics Propofol and Halothane Serum Albumine: High resolution crystal structures.J. Biol. Chems275: 38731-38738.
- **Boussoffara R., Ben Hamouda H., Antignac C., Sfar M. T., 2009.** Le syndrome néphrotique congénital de type finlandais. À propos de deux Observations Journal de pédiatrie et de puériculture 22, 341—345.
- Bouvenot G., Devulder B., Guillevin L., Queneau P., Schaeffer A., Beers M. H., Fletcher A. J., JONES T. V., Porter R., Berkwits M., Kablan J. L., 2007.** L'encyclopedie Medicale. LAROUSSE. PP. 824-840.
- Boyer R. F., 1993.** Modern experimental biochemistry (2th Ed). Addison-Wesley Publishing Company, Reading (USA). 114-145.
- **Braunwald E., Faussi A., Kasper D., Hanser S., 2002.** Principe de médecine Interne. 15^{ème} édition. Flammarion Médecine-Sciences, pp 2-257.
- Cledes J., 2003.** Le rein du sujet âgé. ELSEVIER.PP. 52.
- Daunizeau A., 2003.** Électrophorèse des protéines du sérum. In : FERMAND J. P., DAUNIZEAU A., PHAM B. N., INTRATORE L., BIENVENU J., PREUD HOMME J. L., immunoglobuline monoclonale .Paris : Cahier de formation Bioforma, 26-29.
- Dauzat A., Duboise J., Mitterant H., 1988.** Dictionnaire étymologique et hystérique; références Larousse. Paris, France: Libraries Larousse, 805.
- Dawnay A. B., Hirst A. D., Perry D. E., Chambrs R. E., 1991.** A of current analytical methods for the routine assay of serum total protein and recommendations for their improvement. Annales Biochemistry. 28(6): 556-567.
- **Delamache P., Dufour M., Multon F., 2002.** Anatomie physiologie biomécanique en STARS MASSON. Paris.2002. pp. 127
- Deschenes G., Leclerc A., 2010.** Epidémiologie du syndrome néphrotique de l'enfant. Archive de pédiatrie. 17: 622-623.

Références bibliographiques

- **Diallon A. D., Nochy D., Niamkey E., Yao beda B., 1997.** Aspects étiologiques du syndrome néphrotique de l'adulte noir africain en milieu hospitalier à Abidjan : 1-4.

-**Ducloux D., 2003.** Syndrome néphrotique. EMC néphrologie. 18-039-H-10.

-**El Hassani H., 2006.** Le syndrome néphrotique idiopathique chez l'enfant, 2012. Thèse de doctorat : médecine. République du Maroc : Université de Fès. pp. 29-30-31.

-**Elevitch F. R., 1966.** Thin gel electrophoresis in agarose. Journal of Clinical Pathology. 46: 692-697.

-**Faller A., Sprumont P., Schunek M., 2006.** Le corps humain. 5 Ed. De BOECK université. pp. 345-346.

-**Fatimi E., Benghanem G. M., Zahiri K., Mourtajil F., Niang A., Hachim K. Ramdani B., 2000.** Profil anatomo-clinique des glomérulopathies au Maroc. Néphrologie 22 : 209-283.

-**Fauvel J. P., Laville M.,** Protéinurie. ELSEVIER. Néphrologie.

- **Folashade Adekanmbi A., Olusoga B., Ogunfowora, Timiad A., Ogunlesi, Moji M., Ogundeyi, Adebivi O., Olowiand S., Adetoun, Sotimehin.,** Congénital Nephrotic Syndrome in a Nigerian Infant Oxford Journals Medicine Journal of Tropical. Pediatrics Volume 53, Issue4 pp. 287-291.

- **Fouque D., 1996.** Syndrome néphrotique et métabolisme protéique. Néphrologie, 17: 279-282.

-**Fourcarde J., 2006.** Néphrologie : syndrome néphrotique de l'adulte. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes. pp1-13.

-**Fourcarde J., 2006.** Néphrologie : Néphropathies Glomérulaires Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes. pp1-17.

-**Frimat L., 2012.** Syndrome néphrotique, protéinurie.

-**Gallet J. P., Valleteau Demoulliac J., 2009.** Guide pratique de la consultation en pédiatrie. 9^eEd. ELSEVIER MASSON. pp. 202.

-**Gana R., 1996.** SN à Mekhnès (52 cas) Thèse médicale N° 330 ; à Rabat.

-**Garcia C., Renard C., Delacour H., El Jahiri Y., Merens A., Berets O., Vest P., 2004.** Protéinurie chez une femme sans poules. Annales de biologie clinique62 : 441-5.

-**Garnier M., Delamare V., Delamare J., Delamare T., 2004.** Dictionnaire illustré des termes de médecine. MALOINE. 28^eEd. pp. 24.

Références bibliographiques

- Gensolen Bloch J., 2009.** Larousse médical. LAROUSSE Paris. pp. 26.
- **Godin D., 2011.** La filtration glomérulaire et sa régulation.
- **Grollma A., 1957.** Clinicalphysiology: the functional pathology of disease.
- Halimi J. M., 2011.** Rein et HTA chez le patient diabétique de type deux : stratégies thérapeutiques. Médecine des maladies Métaboliques. 5 : S27-S30.
- Hallman N., Norio R., Rapola J., 1973.** Congenital nephritic syndrome Nephron, 11:101-110.
- **Hamburger J., 1968.** Néphrologie glomérulaire, In traité en médecine, édité par Pierre Codeau et al, Flammarion médecine. Sciences, Paris tome 1, p. 289.
- Hamburger J., Richet G., Groster J., 1960.** Définitions, étiologies, physiologies et traitement des syndromes néphrotiques, In collection médico-chirurgicale à révision annuelle. Néphrologie et Flammarion, Paris, vol 1, p.290-30-05.
- Haymann J. P., Kanfer A., Legallicier B., Peraldi M. N., Ronco P., Rondeau E., Rossert P., Sraer J.D., 2002.** Néphrologie. 6^e Ed. ESTEM, pp. 19,20.
- Hjerten S., 1967.** Free zone electrophoresis. Chromatographic Reviews.9: 122-219.
- **Horn F., Lindenmeier G., Moc I., Grillhosl C., Berghold S., Schneider N., Munster B., 2005.** Biochimie humaine. Flammarion Ed : Paris. 141-148-506-536-537-538-547-475.
- Inorene M. H., 2002.** Complication de la corticothérapie chez les malades atteints de syndrome néphrotique dans le service de néphrologie et d'hémodialyse de l'hôpital national du Point G. thèse de doctorat : médecine. République du Mali : université de Bamako du Mali. Pp. 17-19.
- **Inorene M. H., 2002.** Complications de la corticothérapie chez les malades atteints de syndrome néphrotique. Thèse de Docteur en Médecine. Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie.
- Jehanne M., 2006.** Le 2006 ; vol.18, N° 9 :478-88.
- Julie K., 2009.** Le récepteur B1 des kinases dans la fibrose rénale : des mécanismes au potentiel thérapeutique. Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier Discipline ou spécialité : InnovationsPharmacologiques, pp 2.
- **Kane L. M., 2007.** Etude epidemio-clinique des tumeurs du rein dans le service d'urologie du centre hospitalier universitaire du point « G » à propos de deux cas du 1^{er} janvier 2007 au 31 janvier 2007

Références bibliographiques

- Kendousse A., 2011.** Les syndromesrisque thromboembolique dans le syndrome néphrotique chez l'enfant Sang thrombose vaisseaux Néphropathies Congénitiaux etinfantiles (A propos de 07 cas), 2011. Thèse de doctorat : médecine. République du Maroc : Université de Fès. Pp. 69-77-78.
- **Keren D F., 2003.** Protéine électrophorèses in clinical diagnosis.
- **Kohler Ch., 2011.** Appareil urinaire.
- Kunkel H. G., Tiselius A., 1951.** Electrophoresis of proteins on filter paper.The Journal of General Physiology.35/ 89-118.
- Lasaridis A. N., Sarafidis P. A., 2005.** Néphropathie diabétique et traitement antihypertenseur : quelles sont les leçons des essais cliniques. EMC-Néphrologie. 2 : 182-193
- Le Carrer D., 1994.** Electrophorèse et immunofixation des protéines sériques. Interprétation illustrées. Issy- les Moulinaux : Laboratoires SEBIA. 122.
- Le Carrer D., Bach Ngohou K., 2005.** L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. Spectra Biologie. 146 : 47-52.
- Letonturiee P., 2007.** Immunologie générale : connaissances et pratique. 8^eEd. ELSEVIER MASSON. PP. 60.
- Loirat C., 1985.** Néphrose. EMC, 18052 I10, 11.
- Mai Ba Cam Uyen., 2010.** Adaptation de la posologie des anti-cancéreux la fonction rénale. Faculté De Pharmacie De Chatenay-Malabry, pp 27.
- Maisonneuve N., Binaut R., Vanhiller P., 2004.** Syndrome néphrotique. EMC-Médecine.1 : 102-109.
- Marieb E. N., 2008.** Biologie humaine : Principe d'anatomie et de physiologie. Pearson éducation Ed : Paris369-547.
- Marshall W. J., Bangert S. K., Raynaud E., 2004.** Biochimie médicale : Physiologie et diagnostic. ELSEVIER. PP. 227.
- Masse C., 2011.** Physiologie du rein. Laboratoire de Physiologie. PCEM2-MI 4-Physiologie rénale. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes. pp1-21.

Références bibliographiques

- Moulin B., Peraldi M. N., 2005.** Néphrologie. Ellipse Marketing S.A Ed. 13-16-20-101-104-105-132-133-142-143.
- N'doye S., 1981.** Le syndrome néphrotique chez l'enfant au Sénégal. Evaluation après 5 ans. A propose de 210 cas au service de Pédiatrie du CHU de Dakar, Thèse de Med, Dakar, 1969-1977.
- **Niang I., 1964.** Contribution à l'étude du syndrome néphrotique chez l'enfant noir. A propose de 60 observations. Thèse, Med, Dakar.
- **Niaudet P., 2000.** Syndrome néphrotique chez l'enfant. Encycl Méd Chir, Néphrologie urologie. 18-039-D-10, Pédiatrie, 4-084-C25, 12p.
- Niaudet P., Brayer M., Gubler M., Jeanpierre C., Barbaux S., Antignac C., 2008.** Génétique et syndromes néphrotiques Service de néphrologie pédiatrique, hôpital Necker-Enfants-Malades Institut Pasteur, Paris, France
- Pallot J. L., 2007.** Physiologie rénale. Ifits, 28: 1-28.
- Perbet F., 2003.** Anatomie, Physiologie : pharmacologie. Heur de France. 6^e Ed. pp. 85.
- Pincon A., Nobili F., 2008.** Etude épidémiologique du syndrome néphrotique idiopathique de l'enfant de moins de 18 ans en Franche-Comté. Archives de Pédiatrie 15 : 969.
- Russel W., Chesney M. D., 1999.** The idiopathic nephritic syndrome. Current opinion in pediatrics, 11: 158-161.
- Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T., 1989.** Gel electrophoresis of DNA. In: Molecular Cloning: a laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, chapter 6.
- Serwer P., 1983.** Agarose gels: properties and us for electrophoresis. Electrophoresis.4: 375-382.
- **Silverthorn D. U., 2007.** Physiologie humaine. 4^eEd. Pearson Education. France. pp. 581-603.
- Sinha I., Ghosh S., Dey P., Jakob J., Banerjee D., 2005.** Reduction of urinary thiols in nephrotic syndrome a possible effect of free iron. Clinica Chimica Acta. 355: 91-96.
- Szymanowicz A., Cartier B., Couaillac J. P., Gibaud C., Poulin G., Riviere H., Le Carrer D., 2006.** Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques. Annales de biologie. 64 : 367-380.

Références bibliographiques

- **Tamoin F., 2010.** Albumine dans les états infectieux graves. Annales Française d'Anesthésie et de Réanimation. 29: 629-634.

- **Teka C., Soua H., Avadi A., Brahem M., Ben hsouna R., Mahjoub B., 2009.** Le syndrome néphrotique congénital de type finlandais. À propos de deux Observations Journal de pédiatrie et de puériculture () 22, 341—345.

- **Terrier B., Fakhouri F., Sultanic P., Delarue R., Hummel A., 2006.** La fuite urinaire d'érythropoïétine. La revue de médecine interne 27 : 643-645.

- **Thomas C., 2015.** Interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques.

- **Thongboonkerd V., Cutillas P. R., Schaub S., Nickerson P., Haubitz M., Mischak H., Kiernan U. A., Nelson R.W., 2007.** Proteomics of human Urine. In: Proteomics of Human Body Fluids. Humana Press. pp. 565.

- **TISELIUS A., 1937.** New apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. Transactions of the faraday Society. 33: 524-53.

- **Troudi M., Fejji S., Amri E., Sboui E., Slama A., Kharrat H., 2000.** Syndrome Néphrotique pur et primitif de l'enfant. Rev Magh Pédiatr; X, 1.

- **Valdigue P., 2000.** Biochimie Clinique. 2Ed. Editions médicales internationales, 197-282.

- **Vidala E., Terlaud C., 2009.** 120 diagnostics à ne pas manquer. 2 Ed. ELSEVIER MASSON. pp. 330.

- **Weichselbaum T. E., 1946.** An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. American journal of clinical pathology. 16 : 40.

- **Welsch U., 2004.** Précis d'histologie. LAVASIER. pp. 406-408, 419-420.

- **Young J., 2011.** Endocrinologie, diabétologie et maladies métaboliques. 2 Ed. ELSEVIER MASSON. Pp. 279.

- **Zech P., REVILLARD JD., 1978.** Syndrome néphrotique. In Néphrologie clinique, SIMEP, Ed. pp118-130.

Etude des protéines sériques au cours de syndrome néphrotique

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **Analyse Protéomique et Santé**.

Résumé :

Le syndrome néphrotique est la néphropathie glomérulaire la plus fréquente en Afrique qu'en Europe, elle occupe la deuxième place parmi les pathologies rénales après les infections urinaires, il est lié à une augmentation de la perméabilité glomérulaire qui est à l'origine de plusieurs complications, et se caractérise par une hypoprotidémie, hypoalbuminémie et hyper alpha 2 globulinémie.

Dans ce travail, nous avons utilisé l'électrophorèse en gel d'agarose (hydrigel) des protéines sériques comme technique pour diagnostiquer le SN chez une population de 30 malades hospitalisés au niveau du service néphrologie de l'hôpital militaire régional Constantine.

Cette étude a porté sur la protidémie au cours du syndrome néphrotique, afin de déterminer la relation entre la protidémie et les anomalies biologiques au cours du syndrome néphrotique.

La séparation des protéines sériques par la technique d'électrophorèse en gel d'agarose (hydrigel) prouve son intérêt dans le suivre et le diagnostic du SN ainsi la caractérisation de la protidémie.

Le laboratoire central de biochimie de l'hôpital militaire régional de Constantine grâce à la qualité des bilans effectués, de matériels utilisés et l'expérience de son personnel constitue une unité absolument indispensable et performante dans le diagnostic et la surveillance de la thérapeutique des patients de syndrome néphrotique.

Mots clés : syndrome néphrotique, protéines sériques, électrophorèse, gel d'agarose.

Laboratoire de recherche : laboratoire central de biochimie de l'hôpital militaire régional de Constantine

Jury d'évaluation :

Président du jury : NOUADRI T. (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : NECIB Y. (Prof - UFM Constantine).

Examinatrice : BENNAMOUN L. (MAA- UFM Constantine).

Date de soutenance : 28/06/2016