

Exploration des protéines plasmatiques

Première partie

Introduction :

Les protides proviennent du mot grec **protos** ou premier, ce sont les constituants principaux de la cellule .Ils sont formés par l'enchaînement d'AA et renferment 16% d'azote

Les protéines représentent la plus grande partie des matières solides du plasma, pour la plupart synthétisée au niveau hépatique.

En dehors du fibrinogène, protéine fibreuse du plasma, ce sont toutes des protéines globulaires. Seul le sérum albumine est une holoprotéine, toutes les autres sont des hétéro protéines pouvant contenir des lipides (lipoprotéines), des métaux (métalloprotéines) et surtout des glucides, la plupart des protéines plasmatiques sont en effet des glycoprotéines.

I- Les Besoins en protéines

Pour un adulte les besoins journaliers sont de 1 à 1,1 g/kilo de poids corporel. Les besoins sont assurés par une alimentation mixte et équilibrée, on retrouve les protéines végétales des céréales telles que les glutélines et les protéines de l'alimentation carnée et lactée

II- Biosynthèse :

Il existe deux principaux centres de biosynthèse : le foie et la lignée lymphocytaire. A l'exception des immunoglobulines, la majorité des protéines plasmatiques sont synthétisées par le foie

III- Digestion et absorption des protéines :

La protéolyse digestive est assurée par des enzymes gastriques, pancréatiques et intestinales, grâce à des endo et exopeptidases qui catabolisent les protéines en AA.

- Les endopeptidase, hydrolysent les liaisons peptidiques des protéines à l'intérieur des chaînes, les principales endopeptidase sont :
 - la pepsine gastrique
 - La trypsine
 - La chymotrypsine

- Les exopeptidases on reconnait :
 - l'aminopeptidase qui libère l'acide amine situé en position N terminale
 - la carboxypeptidase qui détache l'AA en position carboxylique

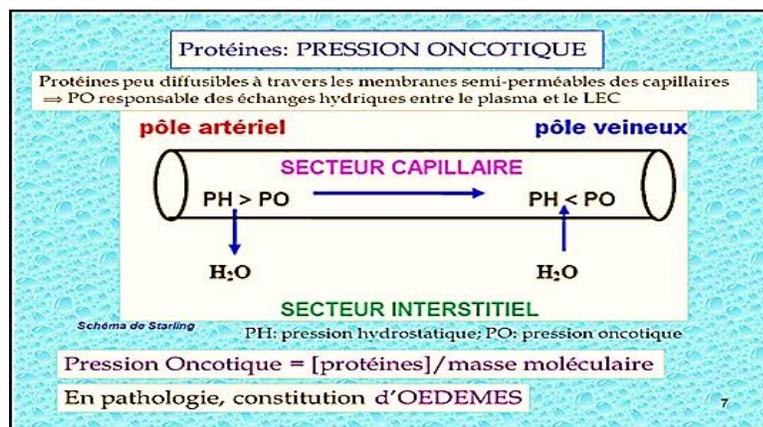
Vitesse de renouvellement ou 1/2 vie des protéines : à partir de la demi-vie d'une protéine, on peut prévoir le temps que cette protéine mettra pour varier quantitativement. La 1/2 vie de l'albumine est de 19 jours, IgG = 18 jours, haptoglobine = 4 jours.

IV-Principales fonctions des protéines plasmatiques

Le plasma contient environ trois cents protéines différentes. Les protéines les plus abondantes sont : Albumine : plus de 50 % ; Anticorps (= Immunoglobulines) : plus de 20 % (essentiellement des IgG) ; Fibrinogène : 5 % ; Alpha 1 antitrypsine : 4 % ; Alpha 2 macroglobuline : 4 % ; Transferrine : 3 % ; Lipoprotéines (HDL et LDL), ces dernières assurent des rôles divers.

1- Maintien de la pression oncotique

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



2- Transport de substances endogènes et exogènes :

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

3- L'inhibition des protéases plasmatiques

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

4- La coagulation : Le fibrinogène constitue la principale protéine de la coagulation ayant un intérêt dans l'exploration des dysprotéinémies

5- L'immunité : Assurée par les immunoglobulines et le système du complément sérique.

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

7- Système tampon : Le système protéines/protéinates : $\text{PH} \leftrightarrow \text{P}^- + \text{H}^+$. Ce système est non négligeable car les protéines sont en forte concentration dans le plasma. En cas d'alcalose, les protéines libèrent des protons. En cas d'acidose, les protéines fixent des protons.

V- Méthodes d'investigation des protéines plasmatiques :

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

1- Dosage des protéines totales :

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

a) Conditions du prélèvement

- prélèvement sanguin se fait après un jeun d'environ 10 à 12h.
- Le prélèvement peut se faire sur tube hépariné (plasma), mais en cas d'électrophorèse.

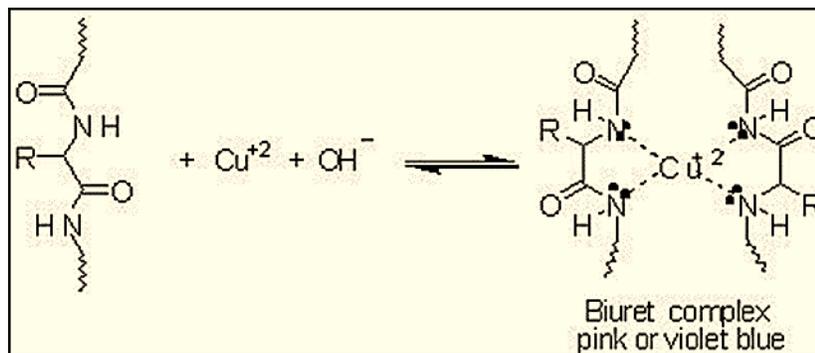
- le prélèvement doit être réalisé sur tube sec (sérum) pour éviter l'interférence du fibrinogène.

b)- Méthode de dosage :

La méthode colorimétrique de biuret est la plus utilisée de toutes les méthodes. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec le sulfate de cuivre en milieu alcalin pour donner une coloration violette dont l'intensité est mesurée à 550 nm, elle est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans l'échantillon. Cette méthode est simple et automatisable

- Principe de la réaction

Les ions cuivriques réagissent en solution alcaline (sulfate de cuivre) avec les liaisons peptidiques des protéines avec formation d'un complexe pourpre caractéristique. Le tartrate de potassium et de sodium empêchent la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'iodure de potassium empêche l'auto réduction du cuivre



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

- Les valeurs normales des protéines plasmatiques :

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

2- Dosage de l'albuminémie :

La méthode de dosage est une méthode colorimétrique au vert de bromocrésol : en milieu tamponné à pH 4,2, le vert de bromocrésol se combine à l'albumine pour former un complexe coloré bleu vert dont l'absorbance mesurée à 583 nm est proportionnelle à la concentration de l'albumine dans l'échantillon.

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

3-Fractionnement des différentes classes des Protéines plasmatiques

➤ L'électrophorèse des protéines ou protéinogramme :

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

Les protéines sont des molécules amphotères avec une charge globale fonction du pH du milieu dans lequel elles vont se retrouver. Elle se réalise à un pH alcalin : les protéines ont donc une charge globale négative et on pourra de cette façon les séparer. On opère toujours en l'absence du fibrinogène (le travail se fait sur sérum). En effet, le fibrinogène contenu dans le plasma provoque des traînées dans toutes les techniques électrophorétiques empêchant leur interprétation. L'électrophorèse se réalise sur :

- support solide= gel d'agarose,
- électrophorèse liquide= électrophorèse capillaire (automatisé).

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

- Groupe des albumines

- Albumine protéine majoritaire du sérum
- Pré-albumine qui n'est pas le précurseur de l'albumine mais qui migre avant elle sur le gel (plus loin qu'elle). La pré-albumine porte également le nom de transthyrétine.

- **Alpha 1 globulines** : α_1 antitrypsine, orosomucoïde

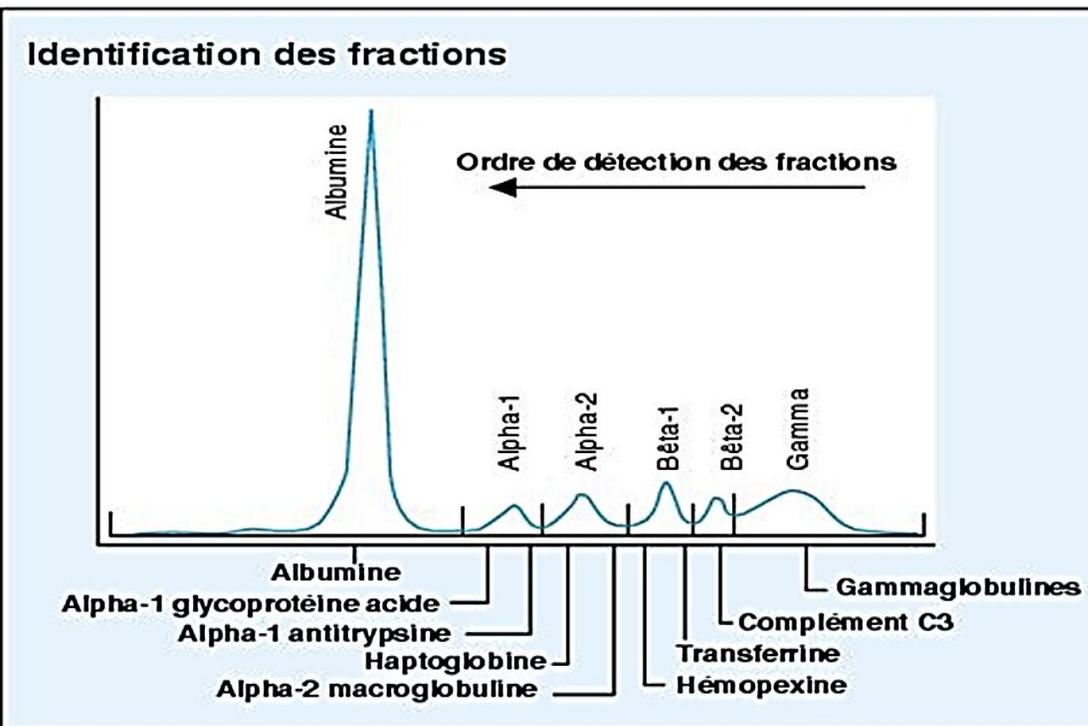
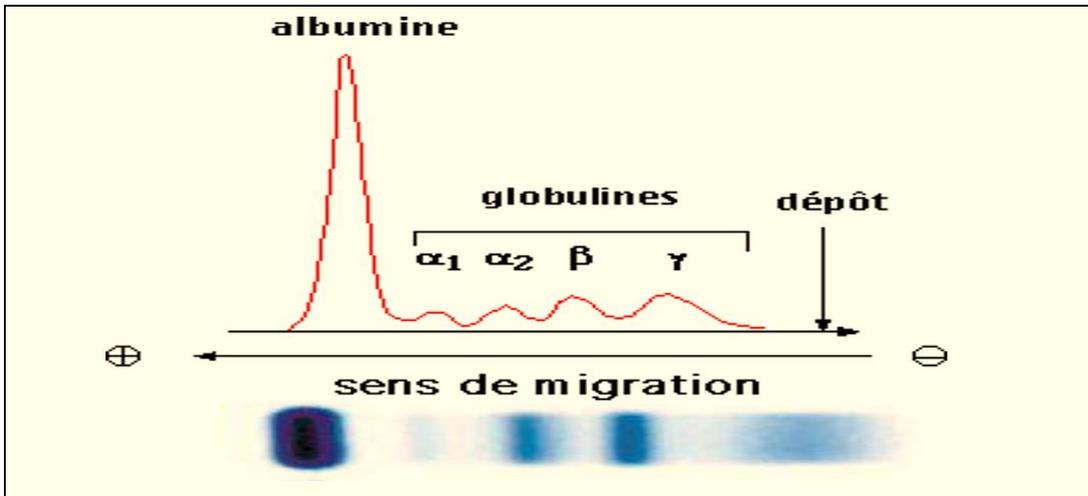
- **Alpha 2 globulines** : Haptoglobine

- **Bêta globulines** : Transferrine, Lipoprotéines de basse densité, Fraction C3 du complément

- **Gamma globulines** : Immunoglobulines : Ig G, A, M, D, E ; et la C-réactive protéine (CRP) qui va être visible uniquement en cas d'augmentation très importante, supérieure à 300 mg/L.

En électrophorèse capillaire : on aura 6 fractions : **albumine, α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , et γ globulines**

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



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

Remarque : Le fibrinogène migre en β (une bande proche du point de dépôt), il peut apparaître sur l'électrophorèse si un anticoagulant est utilisé ou si le tube sec a mal coagulé

En cas d'hémolyse, on peut observer un pic d'hémoglobine migrant en β ou un pic d'hémoglobine liée à l'haptoglobine migrant en α_2

VI-Pathologies des protéines ou dysprotéinémies :

IL peut s'agir:

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

1- Les hypo protéinémies

a)- Les hypo albuminémies : elles sont provoquées par des défauts de synthèse ou par des déperditions d'origine diverses

- **Défaut de synthèse**

- Des carences nutritionnelles :** par défaut d'apport protéique

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

- Des atteintes hépatocellulaires graves :** cirrhoses, ictères graves

- **Déperditions**

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

b) - Les hypogammaglobulinémie : elles peuvent être acquises ou congénitales

-Hypo gamma ou agammaglobulinémies acquises :

Les causes de diminutions sont comme ci-dessus pour l'albumine, les déperditions rénales ou digestives.

Pour les défauts de synthèse il peut s'agir d'hypo gamma iatrogène par radiothérapie ou traitement par les corticoïdes et immunosuppresseurs.

-Hypo gamma ou agammaglobulinémies primitives

Il peut s'agir d'un déficit touchant soit l'immunité cellulaire ou humorale

2- Les hyperprotéinémies : sont définies par des taux > 75 g/L. elles résultent soit :

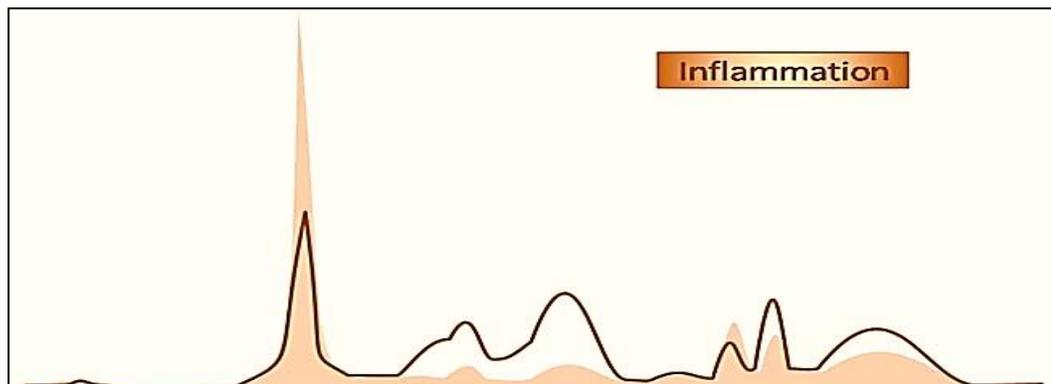
- D'une augmentation en quantité des immunoglobulines par une prolifération polyclonale (stimulation antigénique consécutive à une vaccination, une infection ou une maladie auto-immune) ou par prolifération monoclonale (pathologies malignes).

- D'une hyperfibrinémie qui s'observe surtout au cours d'un syndrome inflammatoire et peut aller jusqu'à 10 g/L (protéinémie ≈ 85 g/L).

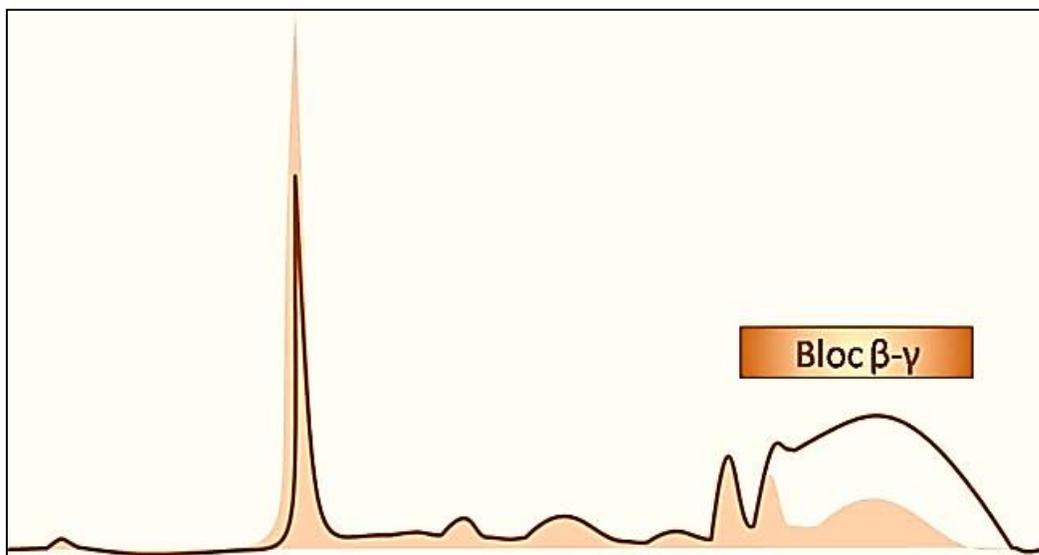
-D'une hémococoncentration liée à une déshydratation (hyper albuminémie).

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

- ✓ **Dans les inflammations aiguës ou chroniques et dans les infestations parasitaires :** on note une élévation concomitante des α_2 et des gamma globulines avec un profil inflammatoire à l'électrophorèse des protéines.



- Inflammation aiguë: augmentation des α_1 (α_1 antitrypsine, orosomucoïde) et α_2 (haptoglobine)
- Inflammation chronique: augmentation des α_2 et γ globulines et diminution de l'albumine qui masque partiellement l'hyperprotidémie réactionnelle (taux des protéines totales normal)
- ✓ **Dans les cirrhoses :** on retrouve le bloc $\beta\gamma$ en dos de chameau très caractéristique. Elle est due à l'augmentation des IgA et IgM qui dépasse celle des IgG et qui se positionne à l'électrophorèse entre les bêta et les gamma globulines, avec diminution de l'albumine des α et β globulines



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

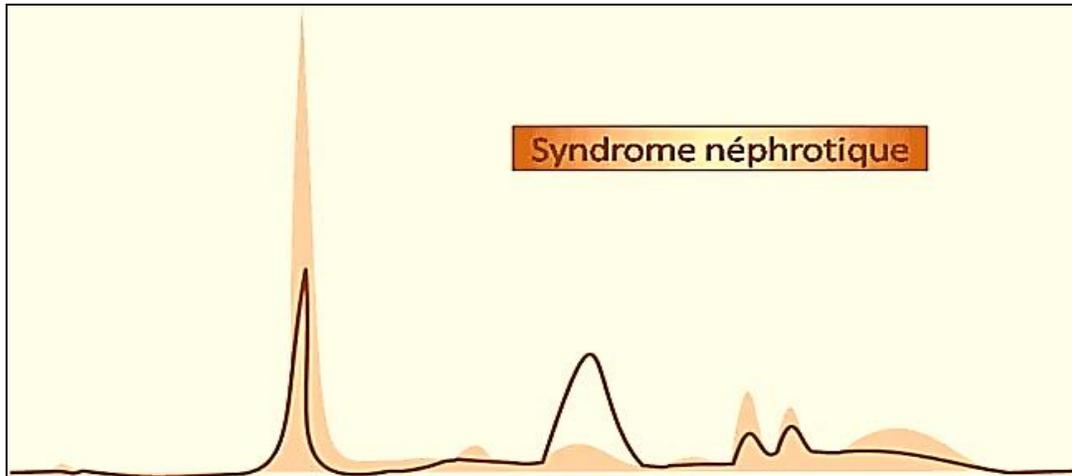
Diminution de certaines fractions par **fuite glomérulaire** des molécules de petite taille :

- ↓ pré albumine
- ↓ albumine
- ↓ α_1 antitrypsine et orosomucoïde migrant en α_1
- ↓ de la transferrine migrant en β

□ ↓ des IGG migrant en γ

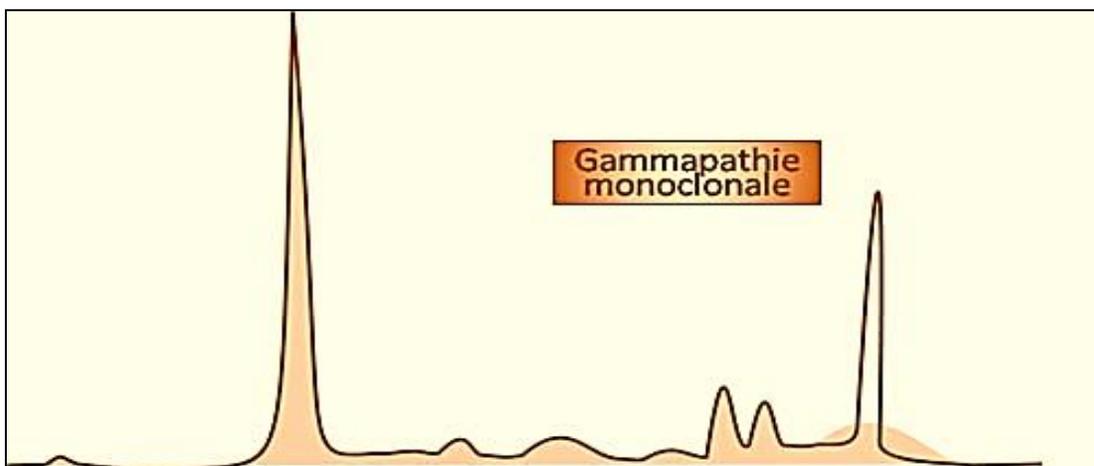
Augmentation de la synthèse hépatique de macro protéines pour limiter la diminution de la pression oncotique et formation œdèmes. □

↑ A2 macroglobulines, haptoglobine, de la synthèse des LDL migrant en α_2 .



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

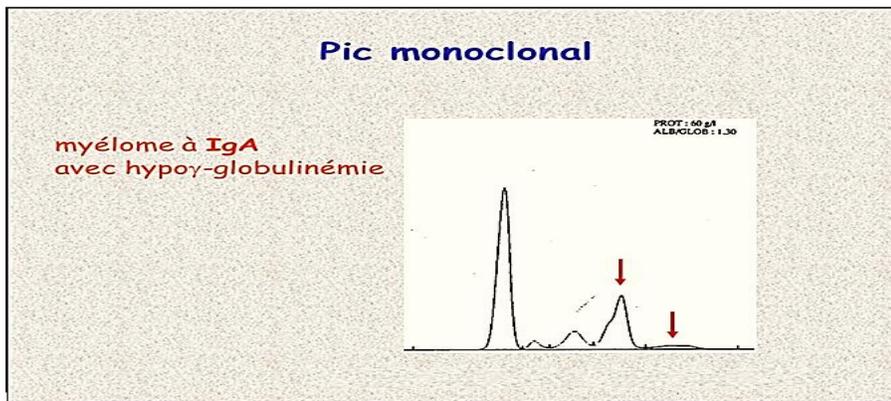
Sur le tracé électrophorétique elle se traduit par une bande mince, étroite et très homogène, se traduisant sur la courbe densitométrique par un pic aigu et étroit, dit **monoclonal**



Plusieurs entités cliniques et biologiques sont définies :

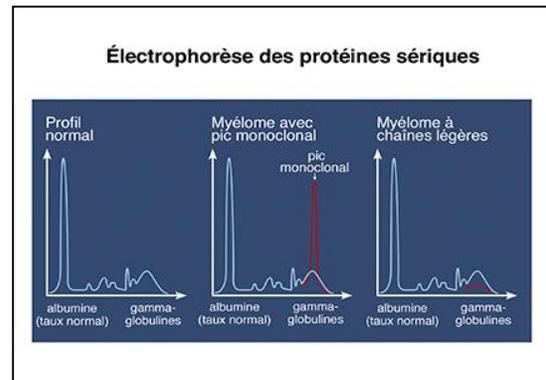
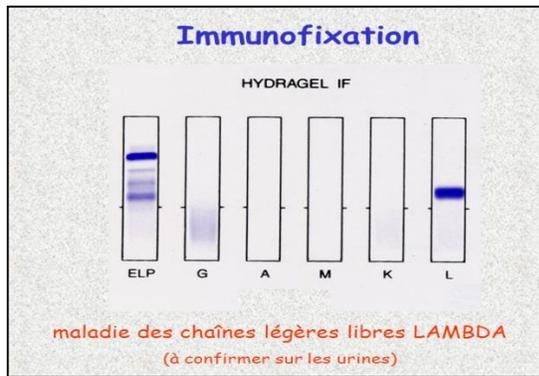
- **Le myélome plasmocytaire ou maladie de Kahler :**

C'est un cancer de la moelle osseuse. Il s'agit d'un plasmocyte médullaire malin, fréquente chez l'adulte de plus de 40 ans, surtout de sexe masculin. Cliniquement des douleurs osseuses, altération de l'état général. Radiologiquement présence de géodes osseuses, déminéralisation osseuse diffuse. Biologiquement une protidémie élevée (100 à 120 g/L), vitesse de sédimentation élevée, calcémie élevée. Par processus d'ostéolyse Le protéinogramme montre un pic monoclonal en zone γ et parfois β . Le typage montre dans la plupart des cas une IGG (parfois IGG A, IGG D, IGG E). Maladie de mauvais pronostic. Une hypogammaglobulinémie polyclonale d'accompagnement portant sur les trois classes G, A, M est constatée dans 30% des cas de myélome.



Environ 15 à 20 p. cent des patients produisent uniquement la portion "chaînes légères" de l'immunoglobuline. On parle alors de chaînes légères libres également connues sous le nom de protéines de Bene-Jones, en l'honneur du médecin et chimiste qui en a fait la découverte dans l'urine des patients atteints d'un myélome. Lorsque des protéines à chaîne légère se retrouvent dans l'urine, elles s'accumulent dans les reins et causent des lésions. Comme ces protéines ne sont pas détectées lors d'une analyse d'urine standard, l'électrophorèse des urines est nécessaire.

Le typage met en évidence les chaînes légères de type lambda (λ) ou kappa (K).



Dans la moelle osseuse, on retrouve des foyers mésenchymateux avec nappe plasmocytaire et cellules jeunes, de type plasmocytoblastes

- **La macroglobulinémie de Waldenström**

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

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

- **Maladies des chaînes lourdes**

Ce sont des dysglobulinémies rares, dans lesquelles les plasmocytes monoclonaux ont perdu la faculté d'associer normalement les chaînes lourdes et légères. Les chaînes lourdes sont alors augmentées dans le sang. Biologiquement, augmentation de la protidémie, l'électrophorèse montre une large bande anormale en zone α_2 ou β liée aux chaînes lourdes. Le typage montre surtout une **IgA**

- **Gammapathie bénignes**

Avec profil du protéinogramme à type de myélome. L'évolution vers la malignité ne montre que 10 à 20% des cas. La surveillance a lieu par un dosage des immunoglobulines tous les trois mois.