FACULTÉ DE PHARMACIE D'ALGER
BIOCHIMIE CLINIQUE
4ème Année / 2011

PROTÉINES PLASMATIQUES & DYSPROTÉINÉMIES

Dr Mohamed El hadi Cherifi

INTRODUCTION

Les protéines sont de grosses molécules non dialysables, avec une masse moléculaire supérieure à 10 000 Da. Elles sont constituées d'enchaînements d'acides aminés, unis solidement, dans un ordre dicté par le génome.

Ces enchaînements sont repliés dans l'espace pour former une structure tridimensionnelle dite structure II aire et III aire, réalisant dans la plupart des cas une géométrie globulaire, rarement fibrillaire (ex. fibrinogène). Plus de 300 protéines plasmatiques ont été isolées par électrophorèse en deux dimensions.

Tout milieu vivant contient des protéines, même l'urine normale en renferme de faibles quantités représentant la protéinurie physiologique qui est de l'ordre de 150 mg/24 heures.

Il s'agit de molécules hautement complexes, aux nombreuses fonctions dont les plus importantes et les plus étudiées sont les fonctions enzymatiques.

I. PRINCIPALES FONCTIONS DES PROTEINES PLASMATIQUES

- **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 (figure 1).

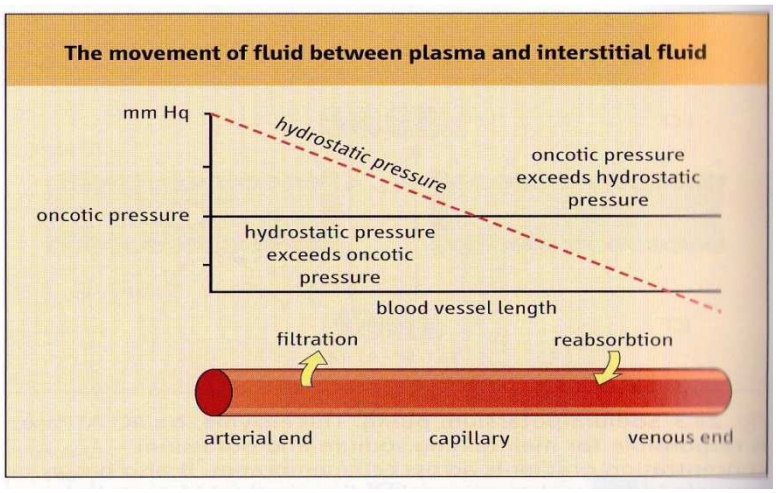

Figure 1. Pression oncotique. Elle est stable au niveau vasculaire à l'inverse de la pression hydrostatique, élevée au niveau du pôle artériel et diminuée au niveau du pôle veineux. Son rôle est de maintenir l'eau dans les vaisseaux.

- **Transport de substances endogènes et exogènes**

  Le transport de diverses substances endogènes et exogènes à l instar de l'albumine qui est un transporteur non spécifique. Elle transporte, entre autres, la bilirubine, les acides gras, le calcium, les hormones et de nombreux médicaments. Certaines protéines sont spécialisées dans le transport spécifique d'un ligand : ex. la transferrine transporte le fer, la céruloplasmine transporte le cuivre.

- **L'inhibition des protéases plasmatiques**
  L'α1 antitrypsine, l'α1 antichymotrypsine et l'α2 macroglobuline s'opposent à l'action de plusieurs protéases libérées lors de la réaction inflammatoire telles que l'élastase et la collagénase limlitant l'action protéolytique sur le tissu conjonctif.

- **La coagulation**

- **L'immunité**

- **Enzymes et cofacteurs d'enzymes**

  L'orosomucoïde est un cofacteur de la LPL. Sa diminution dans le syndrome néphrotique explique l'hyperlipémie observée au cours de cette pathologie.

II. ESQUISSE DU METABOLISME DES PROTEINES PLASMATIQUES

- **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.

- **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.

- **Catabolisme :** il se fait à différents niveaux ; la circulation par des protéases, mais surtout au niveau hépatique et rénal.

Remarque : la disparition des protéines plasmatiques de la circulation sanguine n'est pas, uniquement, le fait du catabolisme ; elles peuvent passer dans les urines comme dans les intestins.

III. 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.

III-1. Dosage des protéines totales

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

Il existe une autre méthode utilisant **des réfractomètres**. Cette dernière est basée sur l'indice de réfraction du sérum clair qui est proportionnel aux taux de protéines plasmatiques. Méthode adaptée aux urgences pour compléter l'ionogramme sanguin.

Figure 2. Réfractomètre.

Les valeurs normales des protéines plasmatiques :

- Adulte : 60 à 80 g/L
- Prématuré : 40 à 60 g/L
- Nouveau né à terme : 50 à 70 g/L

III-2. Fractionnement des différentes classes de PP

Il existe plusieurs méthodes de fractionnement : les méthodes de précipitation sélective utilisant des sels neutres, les méthodes chromatographiques (peu utilisées en chimie clinique) et les méthodes électrophorétiques qui sont très utilisées dans la pratique courante.

- *Electrophorèse des protéines plasmatiques sur acétate de cellulose*

Elle sépare les protéines selon leur charge. 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. Cet examen est indissociable du taux des protéines sériques ; les protéines totales ne sont demandées seules que dans le cadre de l'ionogramme sanguin.
Les plaques d'acétate de cellulose sont imprégnées d'un tampon alcalin pH≈ 9, 8. A la fin de l'électrophorèse les protéines sont séparées en cinq grandes fractions (figure 3 et 4).

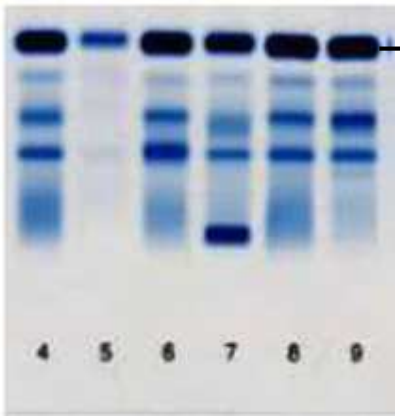

Figure 3. Plaque d'acétate de cellulose.
Plusieurs malades pour chaque plaque.
Le n° 7 montre une gammapathie monoclonale

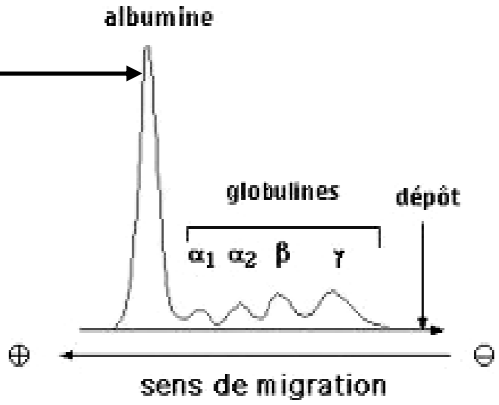

Figure 4. Profil électro phorétique
Avec 5 fractions. L'albumine étant
la fraction la plus rapide.

- *Electrophorèse des protéines plasmatiques en veine liquide (capillarys™)*

C'est une véritable innovation technique dans le domaine de la biologie clinique. Elle permet de traiter plusieurs échantillons en même temps. Le **principe est l'électrophorèse capillaire de zone en veine liquide**. Réalisée à pH 10, sous un voltage élevé 7000 V. la migration se fait dans 8 tubes capillaires de silice fondue (diamètre de 25 micromètres, longueur 18 centimètres). La détection se fait grâce à une lampe au deutérium à 200 nm. La séparation des protéines plasmatiques, par cette technique à haute résolution, donne **6 fractions : albumine, α1, α2, β1, β2, et γ-globulines**. Il est important de signaler que la migration des fractions, sur capillarys, est inversée par rapport aux différents supports solides.

III-3. Les dosages immunochimiques

La présence des antigènes et de leurs anticorps entraîne la formation de combinaisons hautement spécifiques mises à profit pour un dosage quantitatif de chaque protéine.

i. Immunodiffusion radiale (IDR de MANCINI)

Une couche mince de gel d'agarose lâche imprégnée d'un immun sérum mono-spécifique titré, à dilution convenable est coulée sur support inerte : une concentration constante en immun-sérum est assurée en chaque point du gel. On creuse des puits dans lesquels on met le sérum (Ag) et les étalons. La diffusion s'opère et lorsque les deux concentrations Ag-AC deviennent équivalentes, le précipité apparait sous forme d'un cercle concentrique au godet. C'est une méthode simple, peu onéreuse mais longue, la lecture se fait au bout de 48 heures, voire 72 heures (figure 5).

Figure 5. IDR de MANCINI

ii. Immuno-diffusion de LAURELL (rockets)

Même principe que celui de la méthode de Mancini, mais à l'effet de diffusion s'ajoute celui du courant électrique. Sous l'effet du courant, l'antigène migre dans le gel et la précipitation Ag-AC se fait sous forme de fusée ou roquette dont la hauteur est proportionnelle à la concentration de la protéine. Elle est plus sensible et plus rapide que l'IDR mais ne peut pas doser les IgG car leur migration se fait dans le sens inverse à cause du courant d'électro endosmose (figure 6).

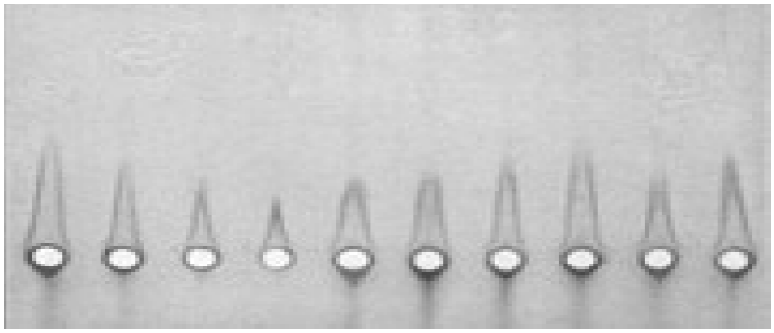

Figure 6. Plaque d'électroimmunodiffusion. La migration se fait sous forme de roquettes dont l'amplitude est proportionnelle à la concentration de l'antigène.

iii. Immuno précipitation en milieu liquide

On mélange le sérum avec l'anticorps spécifique après leur dilution. Il en résulte un précipité très léger, qui reste en suspension pendant un certain temps, provoquant un trouble dont on peut mesurer l'intensité à l'aide d'un appareil appelé néphélémétre : la solution trouble diffracte une partie de la lumière qui la traverse. On mesure alors la quantité de la lumière diffractée. Cette méthode est automatisable, les appareils récents utilisent parfois un rayon laser fournissant ainsi des résultats précis et sensibles.

iv. Autres méthodes de dosages spécifiques

Il existe d'autres méthodes permettant le dosage de très faibles quantités de protéines de l'ordre du pico gramme, ce qui n'est pas possible avec les méthodes précédemment citées.

- Dosages radio immunologiques
- Méthodes immunoenzymatiques (ELISA, MEIA, etc.)
- Elctrochimiluminescence +++

BIBLIOGRAPHIE

Baynes J W; Dominiczak M H. Medical Biochemistry. Éd. Elsevier, Paris 2005, p. 318.

Bhagavan N V; Chung-Eun Ha. Essentials of Medical Biochemistry. Éd. Elsevier, Paris 2011; p. 520.

Borel J ; Caron J. Chanard J et al. Comment prescrire et interpréter un examen en biochimie. Éd. Maloine, Paris 1984. p. 141 – 173.

Marshal WJ ; Bangert SK. Clinical Biochemistry: metabolic and clinical aspects. Éd. Elsevier, Paris 2008, p.29.