

Électrophorèse des protéines sériques

L'électrophorèse des protéines sériques est une technique permettant la séparation des protéines en fractions de mobilité différente, avec obtention de leurs pourcentages relatifs. Couramment utilisée en pratique clinique, cette analyse reflète l'ensemble des protéines sériques. Accompagnée d'un commentaire d'interprétation, elle apporte de nombreux renseignements en particulier sur l'état inflammatoire, nutritionnel, et permet le dépistage et le suivi d'une immunoglobulinopathie. Elle oriente vers les examens complémentaires nécessaires (immunofixation et/ou dosages spécifiques des protéines, bilan hématologique, exploration rénale ou digestive).

Soumises à un champ électrique sur un support donné (acétate de cellulose, gel d'agarose), les protéines se déplacent à des vitesses différentes, qui résultent de plusieurs facteurs :

- leur mobilité propre, sous l'effet du champ électrique et du tampon ;
- l'électroendosmose du support ;
- le courant d'évaporation ;
- la texture du support.

Les protéines sont ensuite colorées (rouge ponceau, amidoschwarz) et les fractions sont intégrées par lecture densitométrique.

Depuis les années 1990 s'est développée l'électrophorèse capillaire de zone en solution libre (CZE), technique de séparation électrocinétique en capillaires de silice fondue (diamètre interne 20–100 μm), remplis d'électrolyte. Une tension élevée provoque la migration des protéines dans le capillaire. De plus, les protéines sont exposées à un flux d'électroendosmose créé par la différence de potentiel entre les charges positives du tampon et les charges négatives des parois du capillaire, ce qui produit une séparation à haute résolution, les protéines étant ensuite quantifiées par mesure à leur longueur d'onde d'absorption (200 nm). Cette technique présente beaucoup d'avantages : faible consommation d'échantillon, efficacité de séparation, et rapidité d'analyse.

La séparation électrophorétique des protéines sur gel d'agarose met en évidence cinq fractions tandis que l'électrophorèse capillaire en révèle six, car deux fractions β sont séparées. Les pourcentages et concentra-

tions de référence chez l'adulte figurent dans le tableau 2.

Dans l'électrophorèse des protéines sériques, chaque fraction doit être rapportée au taux de protéines sériques (g/l) pour interpréter les anomalies quantitativement.

Chacune des fractions du protéinogramme peut présenter des anomalies.

Modifications de la fraction albumine

— *Bisalbuminémie*

Elle est caractérisée par un dédoublement du pic dont l'étiologie est soit une mutation héréditaire (expression permanente d'un variant de l'albumine sans conséquence pathologique observée à ce jour), soit une anomalie acquise transitoire (traitement par les β -lactamines chez un insuffisant rénal, ou en présence d'une fistule pancréatique avec hydrolyse de l'albumine sous l'action des enzymes pancréatiques au sein de la fistule).

— *Analbuminémie*

C'est une atteinte exceptionnelle caractérisée à l'électrophorèse par la présence d'un très petit pic d'albumine, contrastant avec une augmentation compensatrice de toutes les globulines pour assurer la pression oncotique. Les signes cliniques de l'atteinte se limitent en général à des œdèmes diffus.

— *Hypoalbuminémie*

La synthèse de l'albumine étant strictement hépatique, sa diminution dépend de trois mécanismes :

- une synthèse diminuée par insuffisance hépatocellulaire, malnutrition ou inflammation ;
- une perte accrue par fuite digestive, urinaire (syndrome néphrotique) ou cutanée (brûlures) ;
- un hypercatabolisme dans la thyrotoxicose, le syndrome de Cushing, ou des syndromes tumoraux.

— *Hyperalbuminémie*

Sans conséquence pathologique chez le sujet sain, elle traduit une hémococoncentration, ou bien peut être liée à une perfusion d'albumine.

Modifications de la fraction α 1-globulines

Une diminution est observée dans :

- le déficit congénital en α 1-antitrypsine, composant majeur des α 1-globulines ; on observe une baisse

Tableau 2. Pourcentages et concentrations des fractions et protéines séparées sur gel d'agarose et par électrophorèse capillaire

Fraction	Protéines	Gel d'agarose		Électrophorèse capillaire	
		%	g/l*	%	g/l*
Albumine	Albumine	57-65 %	38-46	56-66 %	39-47
α 1-globulines	α 1-antitrypsine, orosomucoïde	1-4 %	0,8-2,3	3-5 %	2,1-3,5
α 2-globulines	Antithrombine, céruléoplasmine, α 2-macroglobuline, haptoglobine, α-lipoprotéines	6-10 %	5,8-11	7-12 %	5-8,5
β 1-globulines	Hémopexine, transferrine, β-lipoprotéines	8-12 %	6,6-13	5-7 %	3,4-5,2
β 2-globulines	Complément C3, IgA			3-7 %	2,3-4,7
γ-globulines	IgG, IgA, IgM, IgD, IgE	12-19 %	5 - 15	11-19 %	8-13,5

* Pour un taux de protéines sériques de 70 g/l.

modérée en cas de déficits hétérozygotes (phénotype Pi MZ) ou importante en cas de déficits homozygotes (phénotype Pi ZZ) ;

- les déficits aigus (insuffisance hépatocellulaire, syndromes néphrotiques sévères, dénutrition).

Une augmentation des α 1-globulines se rencontre essentiellement dans les syndromes inflammatoires, en association avec une augmentation des α 2-globulines.

Modifications de la fraction α 2-globulines

- Un dédoublement des α 2-globulinémies peut s'observer dans quatre cas :
 - en cas d'hémolyse *in vitro*, le complexe hémoglobine-haptoglobine migre en α 2 ;
 - présence d'haptoglobine de phénotype différent du type Hp1-2 (le plus courant), les variants Hp1-1 ou Hp2-2 ayant une mobilité électrophorétique différente. Ce dédoublement est plus net par technique d'électrophorèse capillaire qu'en agarose ;
 - présence d'une β-lipoprotéine (apo B) de mobilité anormale ;
 - présence de chaînes légères libres d'immunoglobulines.
- La diminution des α 2-globulines s'observe en cas d'insuffisance hépatocellulaire, de fuite protéique digestive ou rénale, de dénutrition, d'hémolyse intravasculaire ;
- L'augmentation des α 2-globulines s'observe dans les syndromes inflammatoires (par augmentation de l'haptoglobine, associée à une hyper-α 1-globulinémie) et dans les syndromes néphrotiques par augmentation de l'α 2-macroglobuline qui ne passe pas la barrière rénale en raison de son poids moléculaire.

Modifications de la fraction β 1-globulines

- La diminution des β 1-globulines s'observe dans les insuffisances hépatocellulaires sévères, la surcharge martiale, les transfusions répétées et les fuites protéiques d'origine digestive ou rénale.
- L'augmentation des β 1-globulines s'observe :
 - dans les hypertransferrinémies des anémies ferriprives ;
 - en présence d'hémoglobine libérée par hémolyse *in vitro* (présence d'un double pic en β 1) ;
 - à taux élevé dans les causes monoclonales (IgA ou IgG monoclonales du myélome, IgM monoclonale de la maladie de Waldenström, chaînes légères libres de type κ ou λ des myélomes à chaînes légères ou des amyloses).

Remarque : certains produits de contraste iodés (Visipaque[®], Omnipaque[®], Xénétix[®], Hécabrix[®], Ioméron[®], Optiject[®]) peuvent provoquer l'apparition par technique d'électrophorèse capillaire d'un pic artefactuel entre les α 2 et β 1, en β 1 ou en β 2, en raison de l'absorption de ces molécules à 200 nm.

Modifications de la fraction des β 2-globulines

Une diminution des β 2-globulines peut traduire une hypocomplémentémie C3 (sérum vieilli, consommation du C3, présence d'un anticorps anti-C3 ou -C3Nef).

Les β 2-globulines peuvent être augmentées :

- à taux modéré sur hypercomplémentémie C3 dans les syndromes inflammatoires massifs ou dans les cholestases biliaires intra- ou extra-hépatiques ;
- à taux élevé, et associées aux γ-globulines (bloc β-γ), dans la cirrhose éthylique.

Un dédoublement ou un épaulement dans la fraction β 2-globulines peut traduire :

- la présence d'une protéine monoclonale (IgA, IgG, chaîne légère libre, voire une IgM) ;
- la présence de fibrinogène, dont les causes peuvent être les suivantes :
 - prélèvement sur tube avec anticoagulant ;
 - centrifugation du tube sec avant coagulation complète du sang ;
 - traitement hypocoagulant chez le patient ;
 - prélèvement par cathéter périphérique ou voie centrale, avec contamination héparinique.

Pour éliminer cette hypothèse, il est recommandé de traiter le prélèvement avec de la thrombine à concentration élevée, ce qui fera disparaître le fibrinogène résiduel.

Modifications de la fraction des γ -globulines

- La diminution des γ -globulines (< 6 g/l) s'observe dans :
 - l'hypogammaglobulinémie du nourrisson (physiologique) ;
 - les déficits immunitaires primitifs isolés ou portant sur les IgA, IgG ou IgM de l'enfant ou de l'adulte ;
 - les déficits secondaires (traitement immunosuppresseur, corticoïdes, chimiothérapie ou radiothérapie) ;
 - le myélome à chaînes légères, caractérisé par une protéinurie de Bence-Jones très importante, et une répression de synthèse des IgG, IgA et IgM.
- L'augmentation des γ -globulines (> 15 g/l) peut être :
 - d'origine polyclonale dans les pathologies infectieuses, autoimmunes ou hépatiques ;

- d'origine monoclonale dans les gammopathies malignes (myélome multiple ou maladie de Kahler, maladie de Waldenström), les gammopathies associées à une leucémie lymphoïde chronique ou à un lymphome, ou les gammopathies sans signification clinique (MGUS ou *monoclonal gammopathy of undetermined significance*) ; dans ce contexte, la quantification de la protéine monoclonale par intégration à l'électrophorèse fait partie du suivi semestriel puis annuel d'une gammopathie.

Les γ -globulines, par leur polyclonalité, ont en temps normal une répartition gaussienne à l'électrophorèse. Une répartition hétérogène, oligoclonale, ou une bande de faible intensité peuvent être rencontrées dans les syndromes infectieux, les pathologies virales (hépatites, virus herpès, VIH), les pathologies autoimmunes, les cancers, l'amylose, et chez les patients greffés.

Il faut souligner qu'un pic monoclonal ou une bande discrète peuvent être observés même sans anomalie quantitative des γ -globulines. Toute anomalie de répartition doit être mentionnée au compte-rendu de l'électrophorèse, et caractérisée par immunofixation si le contexte clinique le nécessite.

Il ne faut pas ignorer qu'une augmentation de la CRP peut conduire à l'observation d'une bande fine discrète de migration gammaglobulinique anodique, qui pourra être associée à une hyper- α 1-globulinémie. La « valeur seuil », à partir de laquelle la migration de la CRP devient visible, est fonction de l'importance de la fraction gammaglobulinique. Des travaux ont estimé que ces valeurs seuils de CRP variaient entre 200 et 100 mg/l en cas d'hypoglobulinémie (tableau 3).

 *Gammopathies monoclonales, IgG, Profils protéiques*

Tableau 3. Cas pathologiques

	Albumine	α 1	α 2	β	γ
Profil inflammatoire – aigu – chronique (maladies infectieuses, néoplasiques, allergiques)	N ou ↘ N ou ↘	↗ ↗	N ou ↘	N N ou ↘	N ↗
Cirrhose	↘	N ou ↘	N ou ↘	Soudure N ou ↗	
Hypoprotidémie – profil exsudatif – malnutrition	↘	N ou ↗	N ou ↗ N ou ↗	N ou ↘ N ou ↗	N ou ↘ N ou ↗
Syndrome néphrotique	↘	N ou ↘	↗	N ou ↗	↘
Hypergammaglobulinémie	↘	N	N	N	↗
Dysglobulinémies monoclonales	↘	N	Présence d'un pic (en zone α 2, β ou γ avec les immunoglobulines polyclonales normales ou diminuées)		

N = normal ; ↗ ou ↘ = augmentation ou diminution relative.



Le Carrer D.

Électrophorèse et immunofixation des protéines sériques. Interprétations illustrées.

Issy-les-Moulineaux : Laboratoires SEBIA, 1994 ; 122 p.

Szymanowicz A, Cartier B, Couaillac JP, Gibaud C, Poulin G, Rivière H, Le Carrer D.

Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques.

Ann Biol Clin 2006 ; 64/4 : 367-380.