

Électrophorèse des protéines urinaires

L'urine primitive est formée par l'ultrafiltration du plasma à travers la paroi capillaire glomérulaire. Chaque jour, 180 l de plasma sont ultrafiltrés, comportant 2 à 3 g de protéines plasmatiques, dont 99 % sont réabsorbés dans le tubule proximal.

La composition de l'urine définitive dépend de plusieurs mécanismes :

- la filtration glomérulaire, conditionnée par les protéines elles-mêmes (poids moléculaire, le seuil de filtration étant d'environ 67 kDa, taille et charge électrique de la protéine), les conditions hémodynamiques rénales (pression de filtration) et l'intégrité des structures glomérulaires ;
- la réabsorption tubulaire qui, pour une protéine, est conditionnée par son T_m ou capacité maximale de réabsorption. Une fois celle-ci atteinte, l'excrétion urinaire augmente parallèlement à la quantité filtrée ;
- la sécrétion par les cellules tubulaires de protéines (glycoprotéine de Thamm-Horsfall, urokinase, IgA sécrétoires).

Bien entendu, ces mécanismes requièrent l'intégrité des structures glomérulaires et tubulaires.

Toute modification de l'un ou de plusieurs de ces paramètres, entraînant l'altération de la fonction rénale, se traduit biologiquement par l'apparition dans l'urine définitive de protéines normalement absentes ou de protéines en concentration anormalement élevée.

La protéinurie physiologique est inférieure à 120 mg/24 h chez l'homme et la femme, de type non sélectif, constituée en majorité de protéines plasmatiques (dont 20 à 55 % d'albumine, associée à de la transferrine, de la RBP et des IgG).

La découverte d'une protéinurie supérieure à 150 mg/24 h doit être suivie d'une identification et d'une quantification des protéines qui la composent.

En effet, les protéinuries sont classées selon la nature des protéines retrouvées.

- Les protéinuries glomérulaires : elles sont les plus fréquentes, et sont associées à une protéinurie élevée (≥ 1 g/l). Selon l'atteinte du glomérule, elles se distinguent en :
 - protéinurie glomérulaire sélective : l'urine contient un composant majeur, l'albumine (> 80 %), associée à de la transferrine (pic β net) et éventuellement à l'orosomucoïde (pic α 1), c'est-à-dire des protéines de faible poids moléculaire. Ce tracé apparaît

dans les stades précoces des néphropathies glomérulaires ;

- protéinurie glomérulaire non sélective : l'aspect électrophorétique est proche de celui du sérum, car il y a un passage de toutes les protéines sériques à l'exception des protéines de haut poids moléculaire (lipoprotéines, IgM, α 2-macroglobuline). L'index de sélectivité peut être calculé par le rapport de la clairance de deux protéines de poids moléculaire différent, par dosages sur un échantillon urinaire et un échantillon sérique. Parmi les index proposés, on peut citer celui de Cameron :

$$\frac{\text{IgG (urine)}/\text{IgG (sérum)}}{\text{Transferrine (urine)}/\text{Transferrine (sérum)}}$$

$$\frac{\text{Transferrine (urine)}}{\text{Transferrine (sérum)}}$$

Cet index permet de définir 4 types de protéinuries (tableau 4).

Tableau 4. Les types de protéinurie

Index de Cameron	Type de protéinurie
$< 0,1$	Protéinurie sélective
0,1 à 0,2	Protéinurie moyennement sélective
0,21 à 0,4	Protéinurie peu sélective
$> 0,4$	Protéinurie non sélective

Parmi les néphropathies glomérulaires, on peut citer le syndrome néphrotique primitif ou secondaire, les glomérulonéphrites aiguës et chroniques, les néphropathies diabétiques, le LED par dépôt d'immuns complexes circulants, le syndrome de Goodpasture et les atteintes glomérulaires d'origine toxique ou médicamenteuse. Enfin, certains cancers s'accompagnent d'une protéinurie par atteinte glomérulaire (cancer viscéraux, maladie de Hodgkin, lymphomes, leucémies).

- Les protéinuries tubulaires : les atteintes tubulaires sont moins fréquentes que les atteintes glomérulaires, et se caractérisent par une protéinurie généralement plus faible : $\leq 1,5$ g/l. Une protéinurie tubulaire apparaît lorsque la fonction glomérulaire est normale, mais que les tubules proximaux ont une capacité réduite à réabsorber et à cataboliser les protéines. Le tracé électrophorétique présente une albumine peu abondante (< 25 % de la protéinurie totale) et des globulines prépondérantes. Les protéines suivantes sont retrouvées dans les atteintes tubulaires : β 2-microglobuline, lysosyme, RBP, chaînes légères libres, α 1-microglobuline, cystatine C. Les protéinuries tubulaires sont principalement d'origine :
 - congénitale : cystinose, syndrome de Toni-Debré-Fanconi, maladie de Wilson ;

- infectieuse : choc endotoxinique des septicémies à bacille à Gram négatif ;
- toxique : métaux lourds (plomb, cadmium, platine), solvants chlorés ;
- médicamenteuse : aminosides, céphalosporines, ciclosporine A, drogues cytostatiques, analgésiques, méthicilline.
- Les protéinuries mixtes : on retrouve des protéines d'origine tubulaire et glomérulaire. Elles résultent d'une atteinte diffuse du parenchyme rénal, comme dans la nécrose tubulaire faisant suite à une glomérulonéphrite chronique, dans la pyélonéphrite et dans la thrombose des veines rénales.
- Les protéinuries de surcharge : elles sont liées à la présence d'une protéine de faible poids moléculaire en quantité importante, dépassant sa capacité de réabsorption T_m, par augmentation de synthèse ou augmentation de libération :
 - chaînes légères libres dans les gammopathies monoclonales ;
 - β 2-microglobuline dans les syndromes lymphoprolifératifs ;
 - lysozyme dans la leucémie myélomonocytaire ;
 - orosomucoïde dans le carcinome bronchique ;
 - myoglobine dans les rhabdomyolyses.

Il existe aussi des protéinuries intermittentes modérées dites fonctionnelles, sans lésion rénale : la protéinurie orthostatique, à l'effort, ou liée à une maladie infectieuse fébrile.

Les protéinuries peuvent être explorées par différentes techniques d'électrophorèse. Il est préférable de recueillir les urines de 24 heures. Un dosage préalable des protéines totales est nécessaire avant de réaliser ces techniques :

- l'électrophorèse classique en gel d'agarose ou d'acétate de cellulose : elle sépare les protéines selon leur charge électrique en 5 zones (albumine, α 1-globulines, α 2-globulines, β-globulines et γ-globulines). Le seuil de sensibilité est de 10 mg/l pour une fraction isolée. Cette méthode est simple et très utilisée en routine car elle fournit un diagnostic biologique d'orientation sur la protéinurie, d'après l'aspect du tracé : elle permet de mettre en évidence une protéinurie glomérulaire sélective ou non, et de rechercher un composant monoclonal. Devant toute bande observée dans la zone γ, mais aussi dans les β ou α 2-globulines, une immunofixation devra être effectuée, afin de caractériser la nature de ces protéines. Il faut cependant souligner que ce type de support est peu adapté au diagnostic d'une protéinurie tubulaire ou mixte. Lorsque la protéinurie est infé-

rieure à 150 mg/24 h, la réalisation de l'électrophorèse est discutable, sauf en cas de notion d'hypogammaglobulinémie sérique ou hémopathie lymphoïde ;

- l'électrophorèse en gel de polyacrylamide-SDS ou d'agarose-SDS : elle sépare les protéines urinaires en fonction de leur poids moléculaire, et permet donc un typage de la protéinurie (glomérulaire, tubulaire, mixte ou de surcharge). En comparaison avec la migration d'un marqueur de poids moléculaire, ce gel permet de repérer les protéines d'origine tubulaire, inférieures à 67 kDa (β 2-microglobuline, lysozyme, RBP, α 1-microglobuline, monomères ou dimères de chaînes légères), l'albumine et les protéines d'origine glomérulaire supérieures à 67 kDa (transferrine, IgA, haptoglobine, IgM). Le seuil de détection est de 15 mg par bande ;
- le profil urinaire par immunofixation : il s'agit d'un profil complet des protéines urinaires avec typage de la protéinurie, destiné aux patients souffrant de néphropathie, avec ou sans gammopathie monoclonale. L'urine non concentrée est séparée par électrophorèse classique sur 9 pistes, puis les protéines sont révélées par un fixateur acide dans la première piste (précipitation non spécifique de toutes les protéines) et différents antisérums déposés dans les autres pistes : anti-protéines glomérulaires (albumine), anti-protéines tubulaires (α 1-microglobuline, RBP, β 2-microglobuline), trivalent anti-GAM, anti-D et E, anti-κ libres et liées, anti-λ libres et liées, et anti-chaînes κ et λ libres. La limite de détection d'une protéine tubulaire est de 6 mg/l et celle d'une protéine glomérulaire de 3 mg/l. Les chaînes légères totales sont détectées à partir de 20 mg/l et les chaînes légères libres à partir de 50 mg/l ;
- l'immunofixation ou recherche de protéinurie de Bence-Jones : c'est une technique qualitative permettant d'identifier les composants monoclonaux (Ig complètes et/ou chaînes légères libres appelées protéines de Bence-Jones). Cette technique combine une séparation des protéines classiques par électrophorèse, et une immunoprécipitation en gel par cinq immunosérums : trivalent anti-GAM, κ libres et liées, λ libres et liées, κ libres et λ libres. Le seuil de détection d'une chaîne légère libre est de 50 mg/l. La détection de chaînes légères libres urinaires est plus sensible que dans le sérum par immunofixation, car l'urine est pauvre en protéines, et toute anomalie est facile à identifier. Pour cette raison, lors de la découverte d'une immunoglobuline monoclonale sérique et du suivi d'un patient, il est habituel de rechercher une protéinurie de Bence-Jones, car les chaînes libres sont un facteur aggravant en raison de leur néphrotoxicité.

Tableau 5. Principaux marqueurs des protéinuries pathologiques


Protéines	MM (kDa)	Valeurs usuelles (mg/l)	Protéinuries pathologiques
β 2-microglobuline	12	< 0,5	Tubulaires (surcharges)
Lysozyme	14	< 0,5	Tubulaires (surcharges)
RBP	21	< 0,5	Tubulaires
Chaînes légères	25	< 10	Tubulaires, surcharges*
α 1-microglobuline	33	< 15	Tubulaires
Albumine	70	< 20	Glomérulaires
Transferrine	80	< 2	Glomérulaires
IgG	150	< 10	Glomérulaires (surcharges*)
α 2-macroglobuline	700	Absente	Postrénales ?
Tamm-Horsfall	7 000	< 40	?


* Le plus souvent monoclonales, mais parfois polyclonales. Entre parenthèses : protéinuries avec augmentation du marqueur biologique, mais moins fréquentes. Les protéinuries mixtes sont caractérisées par une augmentation de l'ensemble de ces protéines, à l'exception de la protéine de Tamm-Horsfall et de l'α 2-macroglobuline. Les valeurs usuelles sont celles des techniques immunonéphélométriques Dade-Behring™, sauf pour la protéine de Tamm-Horsfall (technique IDR, The Binding Site™).
In : Le Bricon T. – Identification et dosage des protéines urinaires au laboratoire d'analyses. – Ann Biol Clin 2002 ; 60/5 : p. 527.

Cependant, cette attitude est actuellement mise en balance avec le dosage des chaînes légères libres sériques : ce dosage est devenu plus fiable et sensible, et permet de détecter un déséquilibre κ/λ libres avant l'apparition de ces chaînes libres dans l'urine, qui suppose que la capacité de réabsorption tubulaire ait été dépassée. De plus, ce dosage sérique évite un recueil d'urines de 24 heures.

Enfin, les protéines urinaires peuvent être dosées par immunoturbidimétrie ou immunonéphélométrie. Citons l'albuminurie (appelée aussi microalbuminurie), dosée dans le dépistage et le suivi de la néphropathie au cours du diabète de type I, la transferrine ou les IgG, comme marqueurs de protéinurie glomérulaire, notamment pour le calcul de l'index de Cameron, et parmi les protéines de faible poids moléculaire, l'α 1-microglobuline qui est stable dans l'urine et représente un marqueur sensible dans les pathologies tubulaires.

Un profil protéique urinaire reposant sur un dosage des protéines totales et des marqueurs glomérulaires (albumine, IgG) et tubulaire (α 1-microglobuline) a été proposé pour classer les protéinuries en types glomérulaires, tubulaires ou mixtes, mais ces dosages ne permettent pas de déceler une protéinurie de surcharge, et ne dispensent donc pas d'une électrophorèse pour caractériser la protéinurie (tableau 5).

 *Chaînes légères, Gammapathies monoclonales, Microalbumine, Microglobuline (α 1-), Microglobuline (β 2-)*

 Le Bricon T.
Identification et dosage des protéines urinaires au laboratoire d'analyses. Ann Biol Clin 2002 ; 60/5 : 525-540.
Szymanowicz A, Neyron MJ, Denis I.
Proposition de textes interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines urinaires. Spectra Biol 2006 ; N° 155 : 41-51.