

•• Herramientas útiles en la investigación de proteinurias ••

Dra. Ana Eichelmann/ Dpto. de Inmunología

INTRODUCCION

El análisis electroforético de proteínas en laboratorios clínicos se ha visto beneficiado, en los últimos años, por un importante progreso metodológico resultante de desarrollos tecnológicos.

El origen y la magnitud de las proteínas presentes en orina, aportan valiosa información acerca de los desórdenes renales. El análisis proteico cualitativo se basa en dos herramientas fundamentales:

- A: las que separan proteínas de acuerdo a su carga eléctrica (uroproteinograma habitual)
- B: las que separan proteínas de acuerdo a su peso molecular (utilizando SodioDodecilSulfato).

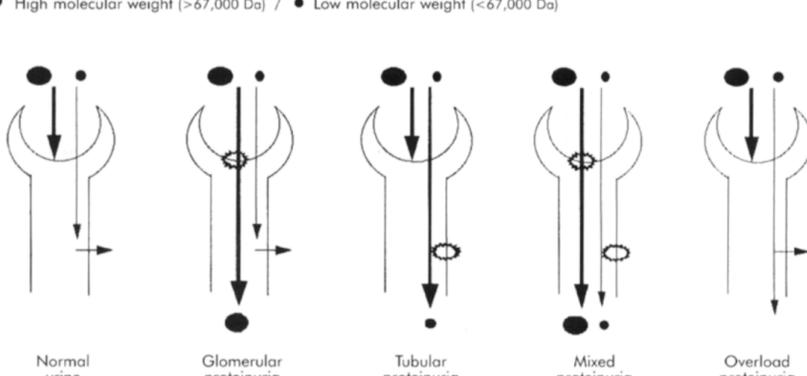
El objetivo de esta presentación es destacar las ventajas que ofrece la utilización del SDS, facilitando la localización del desorden.

UN BREVE REPASO

Sería útil, en primer lugar, recordar algunas definiciones y conceptos, para luego poder evaluar los datos que pueden obtenerse.

1-La nefrona, unidad funcional renal, está constituida por dos estructuras principales: glomérulo y túbulo. En el glomérulo la filtración produce la orina primaria, mientras que la concentración y reabsorción de las proteínas de bajo peso molecular se efectúa en el sistema tubular. Los defectos funcionales y estructurales de una o ambas partes determinan distintos tipos o esquemas de proteinurias.

Fig.1 ● High molecular weight (>67,000 Da) / ● Low molecular weight (<67,000 Da)



2-Se puede definir la proteinuria como el resultado de la filtración glomerular de proteínas, su reabsorción tubular proximal activa, seguida por el catabolismo y secreción tubular. Su valor normal es hasta 0,15 g/24hs. en adultos y hasta 0,14 g/m2 de superficie corporal en niños.

3- Proteinuria - Clasificación Pato-bioquímica

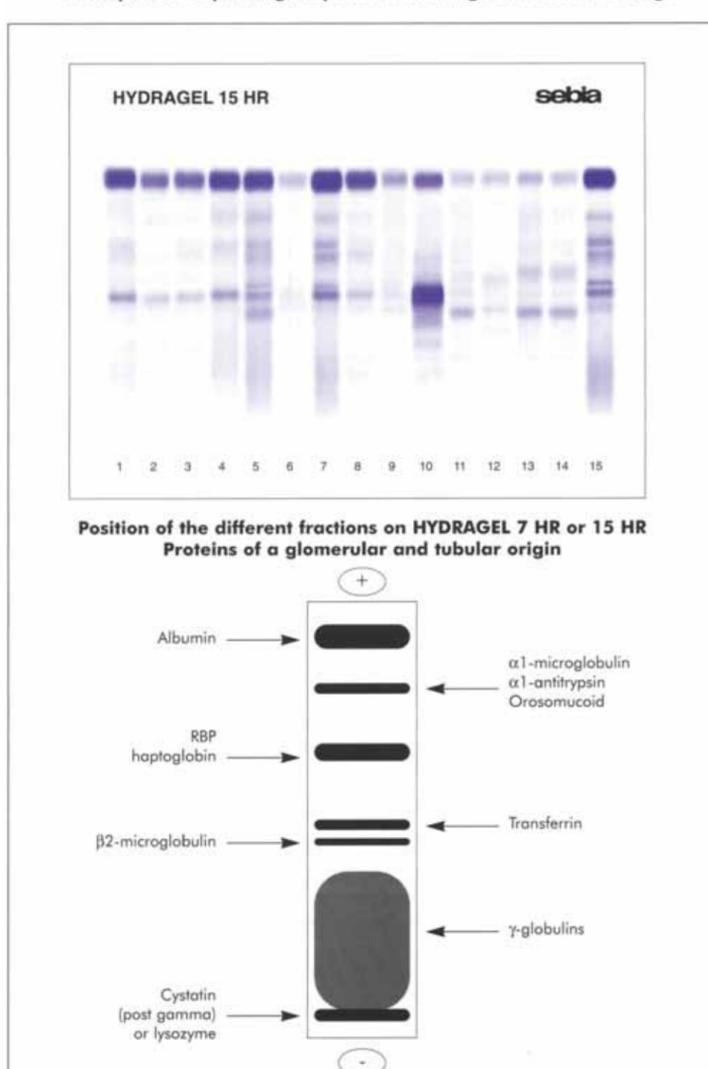
- proteinuria renal**
 - glomerular
 - selectiva
 - moderadamente selectiva
 - no selectiva
 - tubular
 - mixta (glomerular/tubular)
- proteinuria pre-renal**
 - mioglobinuria
 - hemoglobinuria
 - prot. de Bence Jones
 - β-2-microglobulinuria
- proteinuria post-renal**
 - hematuria post-renal
 - infecciones vías urinarias

EVALUACION

-A: Habitualmente los laboratorios de analisis clínicos utilizan la separación electroforética de acuerdo a la carga eléctrica de las proteínas. Si bien esta herramienta permite determinar la existencia y magnitud de la lesión renal, no es posible diferenciar el origen de las fracciones; es decir, no se puede definir el patrón de la clasificación pato-bioquímica previamente mencionada.

La figura 2 muestra una separación electroforética de 15 orinas separadas de acuerdo a su carga eléctrica, donde se observan posiciones compartidas (en las diferentes fracciones) de proteínas de origen tanto glomerular (ej: Haptoglobina) como tubular(ej: RBP Proteína unidora de Retinol).

Fig.2 Electrophoresis separating the proteins according to the electrical charge

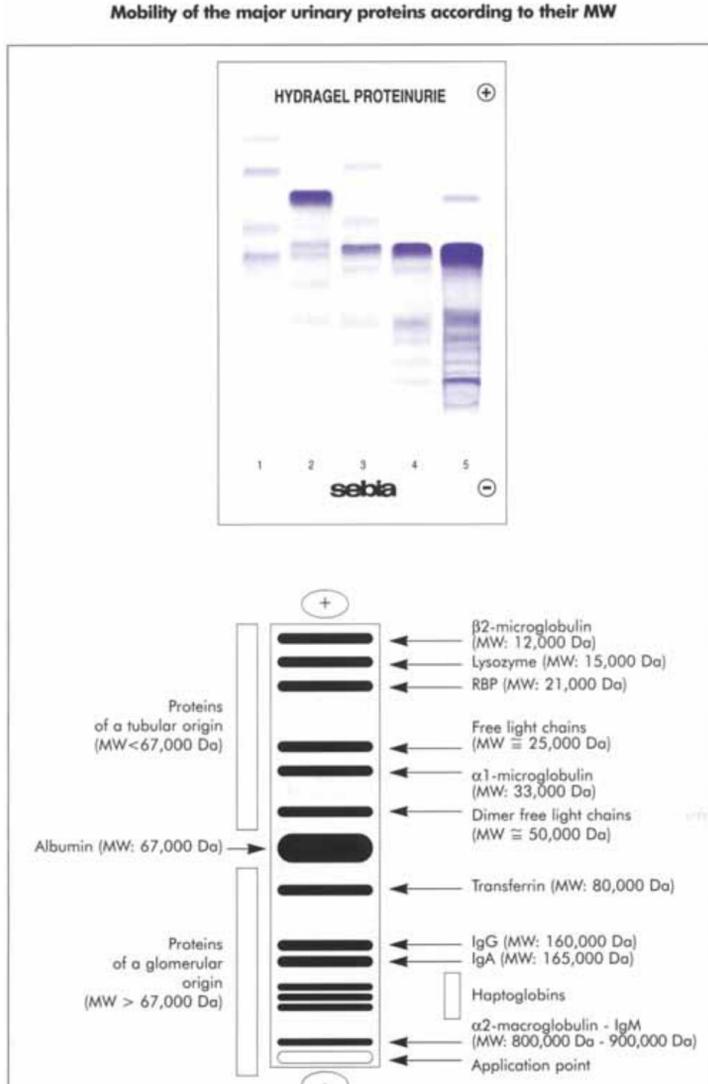


-B: De forma menos frecuente, se separan las proteínas de acuerdo a su P.M. Se utiliza para ello el dodecil sulfato de sodio (SDS), que es un detergente que las desnatura. Al hacerlo, se consigue que éstas, sometidas a una corriente eléctrica, migren de acuerdo a su tamaño, ya que el SDS se une creando una densidad de carga uniforme por unidad de superficie independientemente de la proteína en cuestión.

En consecuencia, al realizar una corrida electroforética tratando la muestra con SDS, que puede estar contenido en el gel, aquellas proteínas de PM menor a 67 Kda.(origen tubular) se desplazan mas allá de la Albúmina y las de PM mayor a 67 Kda. (origen glomerular) lo hacen mas lento que la Albúmina. La movilidad electroforética de las proteínas halladas se compara con la de un patrón de peso molecular conocido, lo que orienta sobre su identidad.

La figura 3 es un ejemplo de un gel con SDS, donde se ensayan 5 orinas de diferentes pacientes.

Fig.3 Mobility of the major urinary proteins according to their MW



COMENTARIOS

Si bien la magnitud de la proteinuria está en parte ligada a la extensión de la lesión renal (porcentaje de nefronas no funcionales), la naturaleza de las proteínas específicas refleja la localización del desorden. El SDS gel es una excelente herramienta que permite indicar en las proteinurias renales, la región o regiones de la unidad funcional que se encuentran afectadas.

BIBLIOGRAFIA

- Urine Protein: Electrooresis e Inmunofijación. Didier Le Carrer, José Boucraut.
- Proteinuria: Changes and mechanisms in Toxic Nephropathies. Toxicology, 1991,21,373-405. Bernard, A.M.
- SDS agarosa gel electrophoresis of Urinary Proteins: Application to Multiple Myeloma. Clin.Chem, 1988,44,vol6, 1191-1197. Le Bricon T., Erlich D., Bengoupa D, Dussaucy, M., Garnier J.P., Bousquet B.
- Meeting: "Las proteínas: desde el laboratorio clínico" X edición. Castrocaro 24 – 26 de octubre 2001.