

## **VALUTAZIONE QUALITATIVA DELLE PROTEINE URUNARIE MEDIANTE METODICA SDS-AGE**

**Di Ugo Bonfanti & Walter Bertazzolo**

L'elettroforesi delle proteine urinarie su gel di agarosio mediante Sodio-Dodecil-Solfato (SDS-AGE) è una metodica di laboratorio che può avere rilevanza clinica nella classificazione delle patologie renali, in particolare di quelle associate a proteinuria.

Questa tecnica elettroforetica permette di separare le proteine urinarie in base alla massa molecolare, facendole migrare su un gel di agarosio, previo trattamento denaturante con un detergente anionico (Sodio-Dodecil-Solfato - SDS), che le converte in complessi "proteina - SDS". La denaturazione fa assumere alle proteine la medesima carica negativa per unità di massa, per cui la migrazione avviene solamente in base alla massa molecolare e non come nella elettroforesi tradizionale, in base a carica, massa e conformazione. In tal modo la composizione proteica urinaria viene caratterizzata in base alle dimensioni delle molecole escrete. Una volta separate le proteine vengono colorate e visualizzate sul gel, apparendo quindi come bande discrete. Il confronto con un marker di peso molecolare fatto migrare nella stessa sessione, permette di stabilirne la massa, in base alla quale è possibile classificare la proteinuria. Questa valutazione deve essere associata sempre alla determinazione quantitativa della perdita proteica urinaria mediante rapporto proteine/creatinina urinaria (PU/CU).

### Classificazione dei diversi tipi di proteinuria:

La **proteinuria glomerulare** è caratterizzata dalla presenza di proteine urinarie con peso molecolare  $\geq 69$  kDa (es. albumina, transferrina, immunoglobuline), che nel gel sono localizzate tra il punto di applicazione e la frazione albuminica. La presenza di proteinuria glomerulare è indicativa di una aumentata permeabilità del glomerulo.

La proteinuria **tubulo-interstiziale** è caratterizzata dalla presenza di proteine con peso molecolare  $< 69$  kDa [per esempio  $\alpha$ -1 microglobulina, catene leggere libere monoclonali o policlonali,  $\beta$ -2 microglobulina, RBP (retinol binding protein), lisozima], localizzate tra

l'albumina e il lato anodico del gel. Queste sono piccole proteine, dotate quindi di maggiore mobilità elettroforetica. La loro presenza può essere indicativa di una incapacità del tubulo renale di riassorbirle, in quanto esse sono normalmente filtrate dal glomerulo. La presenza di proteine tubulari PM di 25 e/o 50 kDa può essere indicativa di proteinuria di Bence-Jones.

La **proteinuria mista** infine è caratterizzata dalla presenza sia di proteine tubulari che glomerulari.

In genere la presenza di proteinuria persistente nel tempo può avere una notevole rilevanza clinica, in quanto può contribuire alla progressione della malattia renale. Tuttavia esistono forme di **proteinuria fisiologica**, conseguenti ad una modica e transitoria permeabilizzazione glomerulare, e quindi di scarsa rilevanza clinica. Queste sono spesso conseguenti ad esercizio fisico intenso, febbre, stress, ecc.. La proteinuria fisiologica si caratterizza per una banda molto lieve e poco visibile in corrispondenza dell'albumina. In questi casi in PU/CU è molto basso, solitamente inferiore alla soglia che viene considerata patologica (0.5 per il cane e 0.4 per il gatto).

A questo proposito ricordiamo che le più recenti linee-guida di IRIS (International Renal Interest Society) considerano "border-line" una proteinuria compresa tra 0.2 e 0.4 nel gatto e tra 0.2 e 0.5 nel cane. **Si definiscono "non proteinurici" i soggetti di entrambe le specie il cui PU/CU risulti < 0.2**

Ricapitolando, mediante la valutazione della proteinuria con SDS-AGE è possibile prevedere con buona approssimazione la localizzazione del danno renale. Ovviamente tale metodica non prescinde dall'importanza della valutazione istopatologica di una biopsia renale, che spesso aiuta a definire con maggior precisione l'eziologia, la cronicità e l'entità della nefropatia.

Ugo Bonfanti, Walter Bertazzolo

Esempio di tracciato elettroforetico delle proteine urinarie con metodica SDS-AGE.

**Campione n.1: Grave proteinuria mista**

**Campione n.2: Albuminuria probabilmente non rilevante**

**Campione n.3: Proteinuria glomerulare non selettiva**

**Campione n.4: Proteinuria tubulare**

**Campione n.5: Tracciato di controllo peso molecolare**

