

ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE LAS PROTEINURIAS

J. M. MORA

La presencia de proteínas en la orina en cantidades mayores a 150 mg en 24 horas siempre tiene significación patológica.

Fue un napolitano (D. Catugno 1770) quien informó sobre la participación de sustancias termocoagulables en la orina, pero no fue sino hasta años más tarde cuando autores ingleses y franceses (Fordyce 1794, Cruickshank 1797, Dupuytren 1880) las describieron nuevamente en la orina de pacientes edematosos. El término "albuminuria" fue utilizado por Martín Solon (1838) y por esa misma época (1827-1848), Richard Bright publicó sus observaciones en las cuales describió la proteinuria como una de las manifestaciones de las enfermedades renales y desde entonces se dio cuenta de que podía anteceder en meses o aun en años, a otros síntomas o signos de falla renal. Desde entonces se ha avanzado mucho en el estudio de las proteinurias: Bence Jones descubrió la proteína que lleva su nombre y se informó de la proteinuria asociada al embarazo, a los cambios posturales, al ejercicio intenso, etc. Beiter (1931) describió el papel del glomérulo en la génesis de la proteinuria y con la práctica de la biopsia renal percutánea (Iversen y Brun 1951) aparecieron nuevas perspectivas al conocerse "in vivo" la estructura del capilar glomerular y de su membrana basal.

Con todo y esto, aún no se ha determinado definitivamente la relación entre la estructura glomerular, la función renal y la presencia de proteínas en diferentes enfermedades renales. En esta década (1980) se desarrolla una investigación muy importante para explicar completamente los mecanismos patogénicos de las proteinurias.

En la forma más simple puede postularse que la cantidad de proteínas excretada en la

orina depende básicamente de dos factores: filtración a través del capilar glomerular y reabsorción tubular.

Las proteínas cuantificadas en la orina de 24 horas de un adulto sano, están constituidas en un 60% por las proteínas plasmáticas y en un 40% por la proteína de Tamm Horsfall que se forma en las células de la rama ascendente del asa de Henle y en las de los túbulos colectores. En las proteínas plasmáticas se incluyen inmunoglobulinas, transferrina, beta 2-microglobulina, ceruloplasmina, haptoglobina, etc., siendo sin embargo la albúmina el mayor componente.

La pared glomerular controla la permeabilidad de las proteínas y está compuesta por tres capas, a saber: 1) la interna endotelial fenestrada, 2) la membrana basal y 3) la externa epitelial con los pedicelos que conforman las hendiduras diafragmáticas. La membrana basal glomerular está compuesta por tres capas: la lámina rara interna (subendotelial), la lámina densa central y la lámina rara externa (subepitelial). La lámina rara interna mediante las fenestraciones formadas por las células endoteliales, mantiene un contacto íntimo con la corriente sanguínea. Los estudios bioquímicos de la membrana basal han demostrado que está compuesta por colágeno tipo IV, tipo V, laminina, heparan sulfato, fibronectina, amiloide P y otras proteínas plasmáticas. Es muy importante tener presente que el heparan sulfato, proteoglicano predominante en la lámina rara interna y externa, tiene una carga eléctrica fuertemente negativa, con la cual contribuye en forma muy importante en las propiedades selectivas de carga de la pared glomerular. La capa epitelial se compone de podocitos y mediante sus pedicelos se mantiene en contacto muy amplio con la lámina rara externa formando las hendiduras de filtración. Las sialo-proteínas cubren toda la superficie contigua a los pedicelos confiriéndoles una poderosa carga eléctrica negativa. Esta conformación

Dr. José María Mora Ramírez: Profesor de Medicina, Escuela Colombiana de Medicina; Profesor Asociado, Universidad Javeriana; Profesor Emérito, Escuela Militar de Medicina, Bogotá, Colombia.

Solicitud de separatas al Dr. Mora.

del capilar glomerular le convierte en una barrera muy eficaz para que según la forma, tamaño y carga eléctrica de las proteínas plasmáticas, controle su paso al filtrado glomerular. La proteinuria glomerular se debe principalmente a las modificaciones de su carga amónica por disminución de las sialoglicoproteínas y proteoglicanos, especialmente el heparan sulfato. Estos cambios de la carga eléctrica son debidos tanto a alteraciones de los diferentes constituyentes de la pared glomerular, como a la disminución de la síntesis de estos compuestos o a la neutralización de la carga molecular que interfiere con la interrelación de los constituyentes de la membrana basal alterando su permeabilidad por mecanismos diferentes a los electrostáticos (1).

El tamaño molecular restringe el paso de sustancias a la orina. Las macromoléculas (peso igual o superior a la albúmina 69.000 daltons) no transitan a través de los poros capilares.

El tamaño de los poros capilares fluctúa entre 35.5 A (tamaño de la albúmina) y 40 a 60 A. El primer valor hace referencia al observado mediante el aclaramiento de proteínas y el segundo al del aclaramiento del dextran o de la polivinilpirrolidona (PVP). La diferencia en la permeabilidad de las moléculas proteicas versus las del dextran o de la PVP permitieron demostrar factores determinantes en la filtración glomerular distintos al del peso molecular.

El aclaramiento renal del dextran y de la PVP es mayor que el de las proteínas de peso molecular equivalente por tratarse de sustancias eléctricamente neutras que no son rechazadas por la barrera aniónica glomerular. Tanto el dextran como la PVP son moléculas de conformación lineal, flexibles, que forman espirales laxas en las soluciones permitiéndoles deformarse según las fuerzas de presión y de flujo del solvente lo cual facilita su paso por sitios por los cuales no pueden hacerlo las proteínas de peso molecular semejante debido a su conformación compacta. Las alteraciones del flujo plasmático glomerular y la diferencia de las presiones hidrostáticas transcapi-lares modifican la rata de filtración glomerular que tiene una relación con el aclaramiento fraccional de las macromoléculas (2).

Se puede concluir que la ultrafiltración depende fundamentalmente de la composición química y estructural de la barrera de filtración glomerular y su consecuente interacción físico-química con las moléculas filtradas, de la naturaleza de las moléculas filtradas, en particular en lo referente al tamaño, forma, flexibilidad y carga eléctrica y de los factores hemodinámicos como el flujo plasmático glomerular y las presiones oncótica e hidrostática.

La identificación de las proteínas urinarias se hace por métodos colorimétricos, de precipitación, químicos e inmunológicos (3). Las cintas comerciales reactivas (métodos colorimétricos) se componen de un amortiguador (ácido cítrico) y un indicador (azul tetrabromofenol). Los cambios de color se valoran así: trazas corresponden a 10-20 mg/dl; 1+ a 30 mg/dl; 2+ a 100 mg/dl; 4+ a 1000 mg/dl. Este método es más específico para la albúmina; las globulinas, mucoproteínas y la hemoglobina suelen dar reacciones muy débiles. No detecta la proteína de Bence Jones. Los métodos de precipitación más usados son los del ácido sulfosalicílico y del ácido acético y sus resultados se valoran según el grado de turbidez así: 1+ 10-50 mg/dl; 2+ 50-100 mg/dl; 3+ 100-250 mg/dl; 4+ más de 250 mg/dl. Identifica proteínas diferentes a la albúmina, incluso la proteína de Bence Jones. Tiene falsos positivos por niveles elevados de betalactámicos, sulfonamidas, tolbutamida, medios de contraste radiológicos y sangre. El informe obtenido con las cintas reactivas y con los métodos de precipitación debe correlacionarse con sus equivalentes en miligramos según el número de cruces y hacer la conversión de miligramos por decilitro a miligramos por litro para que las cifras sean más representativas. No es excepcional que a una proteinuria de 300 mg/dl no se le conceda la misma importancia que a una de 3.000 mg/l no obstante que obviamente representan la misma cantidad.

Mediante los métodos químicos como el de biuret, utilizado en artículo publicado en este mismo número de la doctora de Salazar (4), es posible la cuantificación precisa de la proteinuria. Con la electroforesis en gel de poli-acrilamina y la cromatografía de intercambio iónico se estudia su selectividad. Los métodos

inmunológicos suministran datos cuantitativos, requieren antisueros específicos, siendo indispensables para la identificación de ciertas y determinadas proteínas. Son complejos en su realización y su aplicación se limita a casos que requieren identificación de proteínas específicas como las inmunoglobulinas G,M,A, inmunoglobulinas de cadenas livianas kappa o lambda, beta 2-microglobulina, lisozima, alfa 2-macroglobulina, etc. Son métodos muy sensibles con niveles de sensibilidad que van desde 5.0 mg/l. por el método inmunoturbidimétrico, hasta valores tan pequeños como el del radioinmunoensayo que determina cifras de 6.2 ug/l (3-11).

Hasta hace muy poco tiempo se postulaba que debía practicarse cuantificación de las proteínas en la orina de 24 horas toda vez que la identificación por métodos cualitativos fuera de 1 + o superior.

Es más, en un texto de Medicina Interna tan importante como es el de Harrison, "Principles of Internal Medicine" (5), edición del presente año, textualmente se lee: "ante una proteinuria por cinta reactiva de 1 + o más, debe medirse la excreción de proteína en orina de 24 horas. Si es superior a 150 mg/24 horas deberá practicarse una electroforesis para determinar la proporción de albúmina y otras proteínas".

Con excepción de algunas entidades en las cuales se encuentran fluctuaciones grandes en los niveles de proteinuria, como sucede en los pacientes con diabetes mellitus tipo I, en quienes se observan variaciones hasta de un 50% de un día para otro y en los pacientes con proteinuria ortostática, en quienes la cifra de proteína en la primera micción de la mañana es muy inferior a la de las micciones durante la actividad diaria, la determinación cuantificada en una sola muestra y de preferencia en la de la primera micción matinal, muestra una correlación lineal con la excreción en la orina de 24 horas como lo demuestran estudios recientes entre los que se cuenta el de la doctora de Salazar (4).

La identificación y proporción de la albúmina y de otras proteínas en la orina, para establecer la selectividad de su excreción, tiene, como veremos más adelante, indicaciones y utilidad clínica restringidas y no creemos que

en la actualidad haya justificación para la determinación de la proteinuria en 24 horas, y mucho menos su identificación por electroforesis en toda proteinuria mayor de 150 mg.

Es preciso recordar las causas más comunes de las proteinurias para comprender más lógicamente su significado. La más frecuente es la ocasionada por alteraciones en la permeabilidad glomerular para las proteínas. Otras causas son: 1) lesiones tubulares que interfieren con la reabsorción de las proteínas del plasma que normalmente pasan al filtrado glomerular; 2) formación pre-renal y subsecuente filtración glomerular de paraproteínas u otras proteínas endógenas; 3) liberación de productos tisulares.

La proteinuria glomerular se diferencia de la tubular por el bajo peso molecular de las proteínas excretadas cuando la alteración radica en los túbulos. Esto se explica porque las proteínas de bajo peso molecular se filtran libremente en el glomérulo y las concentraciones en el filtrado son muy superiores a las plasmáticas. Estas proteínas de bajo peso molecular (menor de 20.000 daltons) se reabsorben en un 95% en el túbulo proximal y por lo tanto solamente se encuentran cantidades mínimas en la orina. Cuando predomina la proteinuria por moléculas de bajo peso, indica anomalías en la función tubular y casi nunca es superior a 2 g en 24 horas (6).

El aumento en la concentración plasmática de las proteínas de bajo peso molecular, al saturar la capacidad de reabsorción tubular, permite su aparición en la orina sin que exista patología tubular.

Existen métodos que permiten cuantificar las proteínas según su peso molecular, siendo los más usados el ya nombrado de electroforesis en gel de poliacrilamida, la cromatografía de columna, la inmunoelectroforesis y la ultracentrifugación analítica. La cromatografía de intercambio iónico y alto rendimiento hace posible la separación de las proteínas de acuerdo con la potencia isoelectrica y el pH. Con esta técnica se han identificado las características de 21 proteínas plasmáticas en la orina y trata de establecerse un patrón particular para las proteinurias glomerulares y las tubulares que bien pudiera tener una importante aplicación clínica.

El marcador más fiel de las proteinurias tubulares es la lisozima; sin embargo, por facilidades en la técnica, se investiga más frecuentemente la beta 2-microglobulina que aparece en niveles anormales en las nefritis tubulointersticiales de origen infeccioso, en la necrosis tubular aguda y en la falla renal por medios de contraste radiológico o por aminoglicósidos.

La proteína de Bence Jones en el mieloma, en la amiloidosis y en la macroglobulinemia de Waldenstrom; la mioglobina cuando existe daño tisular y la lisozima en caso de leucemias monocíticas o mielomonocíticas, son tan solo algunos ejemplos de proteínas que pueden encontrarse en múltiples entidades patológicas.

Desde principios de este siglo (7) se observó que la determinación de enzimas urinarias tiene aplicación en el diagnóstico de enfermedades extrarrenales, como sucede con la amilasa y la lipasa en las pancreatitis. Posteriormente se han identificado más de 50 enzimas provenientes del plasma, de los riñones u otros sitios del tracto urogenital. Algunas de estas enzimas se originan tanto en el riñón como en el hígado, músculo estriado, tracto gastrointestinal, etc., lo cual hace poco específica su presencia en la orina.

La identificación y cuantificación de las enzimas urinarias depende de factores tan diversos como su desnaturalización en la orina, inactivación en pH ácidos, inhibición por pirofosfatos y los péptidos I y II (normalmente presentes en la orina), interferencia con enzimas de otras procedencias o con metabolitos de drogas, circunstancias todas, que limiten su uso clínico en el diagnóstico diferencial de las nefropatías. Cuando existe lesión glomerular, aparecen en la orina, además de la albúmina, otras proteínas de alto peso molecular como la inmunoglobulina (PM 160.000 daltons), la alfa 2-macroglobulina (PM 840.000 daltons) y aun algunas tan pesadas como la betalipoproteína (PM 1'300.000 daltons).

La selectividad de la proteinuria hace referencia a la excreción de albúmina y de globulinas de alto peso molecular como las anteriormente nombradas. La proteinuria "altamente selectiva" es aquella en la cual el mayor componente excretado es albúmina. La "débil o pobremente" selectiva se caracteriza por la

excreción de proteínas de alto peso molecular, especialmente la IgG.

Se ha tratado de establecer una correlación entre los hallazgos microscópicos, la evolución clínica y la selectividad de la proteinuria. Los casos de "alta selectividad" corresponderían al síndrome nefrótico de cambios mínimos; los de selectividad "intermedia" a las glomerulonefritis membranoproliferativas y los de selectividad "débil o pobre" a las glomerulopatías membranosas. Se ha comprobado esta relación en la nefrosis de cambios mínimos (8) y no se ha evidenciado en las glomerulopatías membranosas ni en las glomerulonefritis membranoproliferativas.

Aparte de la proteinuria ortostática (presente únicamente cuando el paciente está de pie), en todos los demás casos hay indicación para proseguir un estudio minucioso y en muchos de ellos practicar una biopsia renal para establecer un diagnóstico definitivo. Es obvio que la ausencia de proteinuria no es indicativa de normalidad renal. La glomerulonefritis por IgA (enfermedad de Berger) y el riñón poliquistico son apenas unos ejemplos de nefropatías comúnmente sin ella.

La cuantificación de la proteinuria en una muestra de orina de la primera micción de la mañana (4-9), relacionada con la creatinina en la misma muestra, informa ciertamente de la cantidad excretada en 24 horas, hace innecesaria la recolección durante ese lapso y favorece tanto desde el punto de vista práctico como económico su determinación.

Es excepcional la necesidad de identificar electroforéticamente las proteínas urinarias a no ser que se investigue la presencia de las monoclonales en casos sospechosos o ya diagnosticados de enfermedades con excreción de tales proteínas (10, 11).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- FARQUAR MG, KANWAR YS: Characterization of anionic sites in the glomerular Basement Membranes of Normal Bephtotic Rats, in LEAF A, GIEBISCH G, BOLIS L, GIORINI S. (eds). Renal Pathophysiology-Recent Advances. New York, Raven Press 1980: pp 57-74.
- 2.- GUSMANO R, GHIGGERI GM, GINEVRI F, et al. Molecular basis for idiopathic nephrotic syndrome in children Kidney Int 1986 (abstr); 29: 189A.
- 3.- CHAVERS BM, VERNIER RL. Proteinuria and

- Enzymuria. *Seminars in Nephrology* 1986;6:1371-388.
- 4.- SALAZAR MOLINA DE I, NADER C, RAAD J, URIBE AC et al. Correlación de proteinuria en orina de 24 horas con muestra de orina ocasional. *Acta Med Col* 1987; 12: 323-329
 - 5.- COE FL. Alterations in urinary function, in Branwald, Isselbacher, Petersdorf, Wilson, Martin, Fauci, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, New York: McGraw Hill, Inc 1987: 191-197.
 - 6.- PESCE AJ: Quantitative and qualitative measurement of urinary protein, in MASSRY GLASSOCK (eds) *Nephrology* 1985; 191-197.
 - 7.- MATTENHEIMER H. Enzymes in the urine, *Med Clin North Am* 1971 ; 55:1493-1508.
CARRIE BJ, SALYER WD, MYERS BD. Minimal change nephropathy. *Kidney Int* 1982;22:677-684.
 - 9.- GINSBERG JM, CHANG BS, et al. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N. Engl J Med* 1983; 309: 1543-1546.
 - 10.- FANG LS. Light chain nephropathy. *Kidney Int* 1985; 27: 582-592.
 - 11.- KYLE RA. Análisis de las inmunoglobulinas en la orina. En: DUARTE CG eds. *Pruebas de la función renal*. Salvat Editores, S.A. 1983:281-314.