



XXIV Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-061 (ID: 1417)

Autor: Delgado, María Belén

Título: concentración de proteínas en orina en caninos: resultados preliminares

Director:

Palabras clave: concentración de proteínas, electroforesis, proteinuria, perros

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Iniciación Tipo B

Periodo: 10/03/2017 al 01/03/2020

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (17B002) Enfermedades transmitidas por vectores, gamapatas mono y policlonales, identificación del agente causal en medicina veterinaria.

Resumen:

Procesos como glomerulonefritis alteran las propiedades de selectividad de los capilares glomerulares resultando en proteinuria. La proteinuria glomerular se caracteriza por la presencia de albúmina y proteínas plasmáticas de tamaño molecular superior a la albúmina y la tubular también por albúmina, pero en este caso acompañada por proteínas de tamaño molecular inferior a la misma. Actualmente es relevante determinar la relación proteína/creatinina en la orina (UPC). Por sus características físico químicas diversas, las fracciones de proteínas pueden separarse mediante diferentes técnicas de electroforesis. Cada fracción tiene un significado clínico diferentes. Nuevos datos sustentan la robusta utilidad clínica de la proteinuria como marcador pronóstico de progresión de la ER crónica y también de complicaciones vasculares asociadas a esta. Por ende, la evaluación de la proteinuria se considera un elemento fundamental en la evolución de enfermedades. El objetivo es aplicar una técnica de concentración y dilución de orina en caninos que permita una evaluación de las distintas fracciones del proteinograma. Se trabajó con orinas de 5 caninos la densidad se evaluó mediante refractometría y se realizó un análisis rápido con Tiras de Uroanálisis HEALTH MATE™ VET-11 AC de 11 parámetros (glucosa, bilirrubina, cuerpos cetónicos, densidad, sangre, pH, proteínas, microalbúmina, creatinina, nitritos y leucocitos). Para la determinación cuantitativa de Proteínas/Creatinina en orina (UPC) por método Proti U/LCR Wiener® en mg/dl y la otra fracción fue destinada a la separación de las proteínas mediante electroforesis, para esto la muestra debió ser liofilizada (para la concentración de proteínas) las reconstituciones posteriores fueron realizadas con agua destilada (solvente). La muestra liofilizada fue dividida en dos partes iguales y fueron usadas dos diluciones la primera con 100 microlitros de agua destilada y para la segunda fracción se extrajo 50 microlitros de la primera dilución y se agregó 50 microlitros más de solvente. La corrida electroforética fue realizada en soporte de acetato de celulosa gelificado. Para la tinción se utilizó Azul Brillante de Coomassie G y ácido acético (5% en metanol - agua) y la transparentización se realizó con la solución decolorante de Ácido acético 5% y metanol (1 + 9). De los 5 pacientes evaluados las densidades urinarias se encontraban comprendidas entre 1011 a 1036 con una media de 1025 siendo la capacidad de concentración renal de orina adecuada 2. Solo 3 dieron positivos en al menos una cruz (30 mg/dl) a proteínas en la tira reactiva. Estas fueron evaluadas cuantitativamente (UPC) teniendo valores mínimos de 0,21 y 0,37 máximo, con un valor promedio de 0,30 estos se encontraban dentro de valores normales. En la corrida electroforética de dos de las muestras liofilizadas no se obtuvieron resultados fehacientes, la dilución fue realizada con 100 microlitros de solvente. En cambio en una de ellas se practicó otra dilución, se extrajeron 50 microlitros del material reconstituido anteriormente (100 microlitros totales) al cual se le agregaron 50 microlitros más de solvente, logrando así una dilución adecuada para la migración, esta se produjo en un tiempo de 25 minutos encontrándose dentro del tiempo indicado. La identificación de proteínas aun no se ha realizado ya que se encuentra en desarrollo el método objetivo de identificación de las proteínas urinarias en perros. En general cuando se detectan proteínas en la orina, una mayor investigación debería incluir consideraciones de verificación y de la magnitud de misma a través del cociente proteína y creatinina ya que la medición de la tira reactiva es de tipo semicuantitativo y de, en cuanto a la localización de estas la electroforesis desarrolla un papel fundamental en la identificación de proteínas por su peso molecular, permitiendo la diferenciación de enfermedades glomerulares o tubulares. La evaluación de las proteínas urinarias es útil no solo como método diagnóstico sino como método diagnóstico y progresión del daño renal. Con respecto a la identificación de las proteínas, la limitante actual es el método apropiado para las proteínas urinarias de caninos con la técnica de papel de acetato, puesto que para estas se requiere una mayor concentración de la muestra y la mayoría de las densitometrías realizadas para esta técnica el análisis es de forma subjetiva.