

# Evaluación del perfil tubular renal mediante electroforesis en gel de poliacrilamida\*

## *Urinary protein profile and SDS-PAGE tubular pattern evaluation*

- María Laura Facio<sup>1</sup>, Leticia Bibiana Madalena<sup>1</sup>, Pablo Diego Bresciani<sup>1</sup>, Marcela Pandolfo<sup>1</sup>, Aldana Kairúz<sup>1</sup>, Mariel Emilce Alejandre<sup>1</sup>, Susana Fraind<sup>1</sup>, Margarita Angerosa<sup>1,2</sup>, Marco Pizzolato<sup>1,2</sup>

- 
1. Bioquímicos.  
2. Doctor en Bioquímica.

\* Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires.

### Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

## Resumen

La electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) es un método de alta resolución para la tipificación de los perfiles proteicos urinarios (PPU), pero no ha sido rutinariamente adoptado en el laboratorio clínico. Se compararon los PPU mediante uroproteinograma electroforético (URO) y SDS-PAGE, ambos coloreados con tinción argéntica y la medición por turbidimetría de las proteínas de bajo peso molecular:  $\alpha_1$ -microglobulina (A1m) y  $\beta_2$ -microglobulina (B2m). El objetivo del estudio fue establecer la sensibilidad de la coloración argéntica en SDS-PAGE para poder utilizarla principalmente en la definición de proteinuria tubular. Se procesaron 105 muestras de orina de 24 h de pacientes adultos que ingresaron al laboratorio con pedido de *clearance* de creatinina. El 28% de los URO fisiológicos fueron redefinidos por SDS-PAGE en glomerular (1), mixto (5) y tubular (8). La relación entre la presencia de dos bandas, una de A1m y otra de menor peso molecular (PM) en SDS-PAGE, con la cuantificación de B2m y A1m por encima del valor normal resultó extremadamente significativa ( $p < 0,0001$ ). Se obtuvo una sensibilidad del 86 y 94%, y una especificidad del 93 y 97%, respectivamente. El SDS-PAGE con coloración argéntica, en orinas sin concentrar, puede ser utilizado como una herramienta útil en la evaluación de daño tubular, proporcionando alta sensibilidad y especificidad.

**Palabras clave:** electroforesis en gel de poliacrilamida - dodecil sulfato de sodio \* alfa-1 microglobulina \* beta-2 microglobulina \* daño tubular \* proteinuria \* uroproteinograma

## Summary

Early studies demonstrated the clinical potential of SDS-PAGE to evaluate the proteinuria profile, although it has not been widely adopted in the routine laboratory. SDS-PAGE and conventional zone electrophoresis (ZE), both stained with the silver stain procedure were compared with the automated immunoturbidimetry results of  $\alpha$ -1microglobulin and  $\beta$ -2microglobulin. One hundred and five unconcentrated 24 hr collection urines sent to our Laboratory for creatinine clearance determination were used. A 72% of the physiologic profile rendered identical interpretations. ZE showed only an albumin band for all samples according to SDS-PAGE in 86.5%, but presented an additional A1m band in 13.5%, whose quantitations were below 12 mg/L. SDS-PAGE classified 14 samples as glomerular, tubular or mixed pattern instead of physiologic (proteinuria values close to 0.2 g/24 hr). The presence of A1m plus another lower MW band in SDS-PAGE correlated with quantitative values upper the normal limit for B2m ( $p < 0.0001$ )-sensitivity 86% (CI 95% = 75-93%) specificity 93% (CI 95% = 81-99%). The comparison between this so well defined SDS-PAGE tubular profile and A1m > 12 mg/L-sensitivity 94% (CI 95% = 86-98%)-specificity 97% (CI 95% = 87-100%) was extremely significant ( $p < 0.0001$ ). Use of SDS-PAGE could potentially enable the assessment of proteinuria and the management of renal patients particularly in tubular damage, with high sensitivity and specificity.

Key words: sodium dodecyl sulphate – polyacrylamide gel electrophoresis \*  $\alpha$ <sub>1</sub>-microglobulin \*  $\beta$ <sub>2</sub>-microglobulin \* tubular damage \* proteinuria \* zone electrophoresis

## Introducción

La evaluación de la proteinuria es de utilidad como marcador de disfunción renal y es considerada, además, como un agente nefrotóxico responsable de la progresión de la falla renal (1-3). Para ello resulta necesario caracterizar la calidad de las proteínas eliminadas, a fin de localizar el compartimento del riñón que está comprometido (4). Las metodologías disponibles para el análisis cualitativo de las proteínas en orina, en el laboratorio clínico, tienen como fundamento la separación de las mismas de acuerdo a la carga o al peso molecular (PM). En primera instancia, el fraccionamiento electroforético en función de la carga se realiza en acetato de celulosa gelatinizado o en soporte de agarosa, denominado uroproteinograma electroforético (URO) y es de utilidad para la clasificación de las proteinurias en glomerulares, tubulares y por sobrecarga. En estas últimas se requiere identificar adicionalmente las proteínas mediante electroinmunofijación (EIF). El método de separación electroforética de las proteínas por PM se efectúa en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). La sensibilidad de estas técnicas, URO y SDS-PAGE fue aumentando con el transcurso del tiempo, desde la utilización de colorantes orgánicos hasta la coloración argéntica y áurica. Trabajos anteriores realizados en este laboratorio muestran las ventajas de la coloración argéntica empleada en el URO y en la EIF (5-7). En los últimos años se incorporó, además, la coloración argéntica rápida para el SDS-PAGE (8). Se

evaluaron los perfiles proteicos obtenidos por URO y por SDS-PAGE, debido a que se encontraban algunas diferencias, y se planteó a su vez la necesidad de compararlos con la cuantificación de microproteínas específicas, para estudiar la sensibilidad de la coloración argéntica en SDS-PAGE. Es sabido que, desde que fue introducida en 1979 por Switzer, *et al.* como un procedimiento novel de coloración 100 veces más sensible que el Coomassie Blue R-250 han sido publicadas más de un centenar de variantes de la metodología original. Además, el grado de afinidad del colorante por las distintas proteínas es muy variable, lo cual condiciona la metodología para la detección de cada una de ellas (9). El objetivo del presente trabajo fue comparar el perfil proteico urinario (PPU) obtenido por SDS-PAGE con el URO en acetato de celulosa, coloreados ambos con tinción argéntica y determinar la sensibilidad del SDS-PAGE para detectar proteínas de bajo peso molecular tales como  $\alpha$ <sub>1</sub>-microglobulina (A1m) y  $\beta$ <sub>2</sub>-microglobulina (B2m) y establecer su relación con la cuantificación específica de las mismas en la evaluación del daño tubular

## Materiales y Métodos

Se procesaron 105 muestras de orina de 24 h de pacientes adultos que ingresaron al laboratorio con pedido de *clearance* de creatinina. Se centrifugaron 10 min a 1.000 g, se midió la proteinuria por el método de Exton (ácido sulfosalicílico al 3%) y se realizó el URO en

acetato de celulosa (Biosystem), 35 min a 200 voltios en *buffer* veronal (pH 8.6; Fi 0,05) y posterior coloración argéntica (5). Se excluyeron las muestras cuyo pH resultó inferior a 5,5 ya que la B2m se hidroliza en tales condiciones (10) y también aquellas que presentaron proteinuria por sobrecarga a expensas de cadenas livianas monoclonales libres.

Las muestras se fraccionaron en alícuotas y se almacenaron a -70 °C después del agregado de azida sódica a una concentración final de 0,1 g/L, hasta el proceso de cuantificación de A1m y B2m por turbidimetría (Tina-quant® Roche. Germany) y corrida electroforética en SDS-PAGE al 12,5% de concentración final y posterior coloración argéntica (8).

Se realizó *immunoblotting* con antisueros específicos anti-A1m y anti-B2m humanos (Dako) y anti-IgG de conejo (Sigma) marcados con peroxidasa como segundo anticuerpo.

Para el estudio estadístico se empleó el *test* de Fisher y se evaluaron las propiedades de sensibilidad y especificidad con el programa estadístico GraphPad InStat (Versión 3.01).

## Resultados

Se efectuó la comparación de las bandas correspondientes a A1m y B2m en el SDS-PAGE con los valores cuantitativos respectivos para establecer el límite de de-

tección en los geles mediante la coloración argéntica. La banda de A1m se detectó en el 100% de los casos con valores superiores a 16 mg/L y en un 31% para valores inferiores (Fig. 1). La sensibilidad y especificidad del SDS-PAGE para A1m, tomando el límite de corte en 16 mg/L fue del 78% (IC 95% = 67-87%) y del 100% (IC 95% = 90-100%), respectivamente. El valor superior normal de A1m por turbidimetría fue de 12 mg/L.

Para B2m se observó que entre valores de 0,3 y 1,3 mg/L, no se detectaba banda en la posición correspondiente a B2m (12 KDa) en el SDS-PAGE, siendo 0,3 mg/L el límite superior normal por turbidimetría. Para valores superiores a 1,3 y menores a 9,2 mg/L se detectó en el 67% de los casos, mientras que para valores superiores a 9,2 mg/L se halló en el 100% de los casos (Fig. 2).

Los perfiles observados en el SDS-PAGE con proteínas de PM inferior a la albúmina (Alb) fueron diversos (Fig. 3). Todos estos tuvieron la particularidad de presentar la banda de A1m de 30 KDa. Se observó, además, que en caso de presentarla conjuntamente con otra banda de menor PM, los valores cuantitativos de A1m y/o de B2m se encontraron sistemáticamente por encima del valor normal. Se graficaron las curvas ROC para ambas variables cuantificables (A1m y B2m) con dicho perfil tubular (banda de 30 KDa con otra de menor PM). Se obtuvieron los valores de corte por proximidad al vértice, encontrándose concordancia con los propuestos en la bibliografía como límites superiores

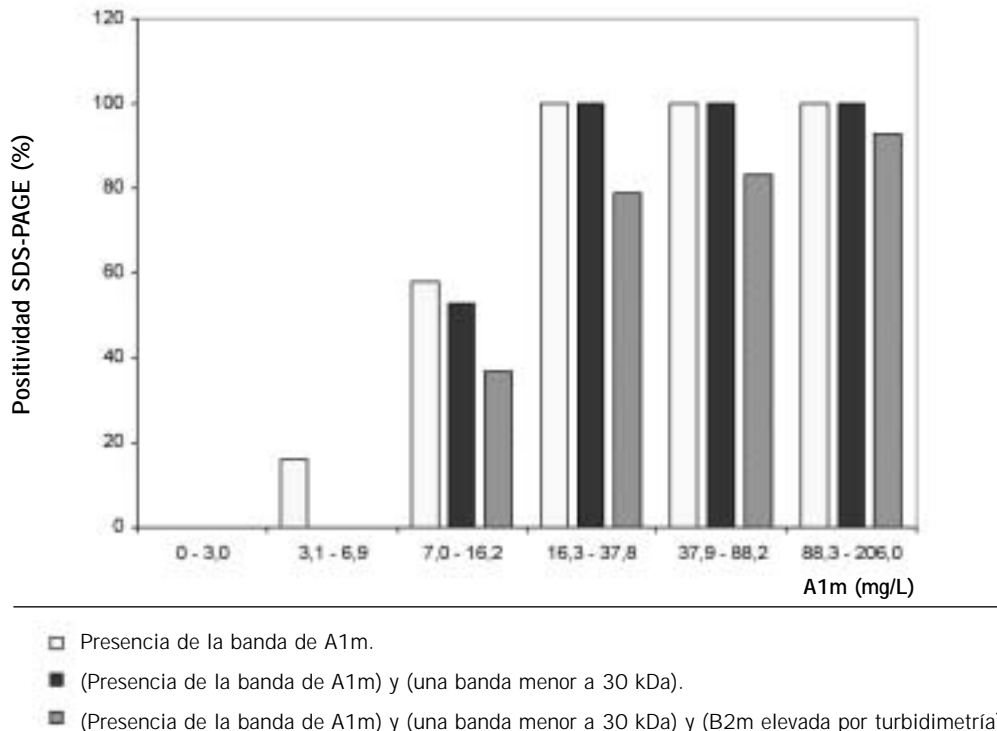


Figura 1. Rangos de valores de A1m obtenidos por turbidimetría en relación con el porcentaje de positividad o presencia de la banda de A1m (30 KDa) en el SDS-PAGE. Las clases de los histogramas se realizaron con intervalos de rangos logarítmicos.

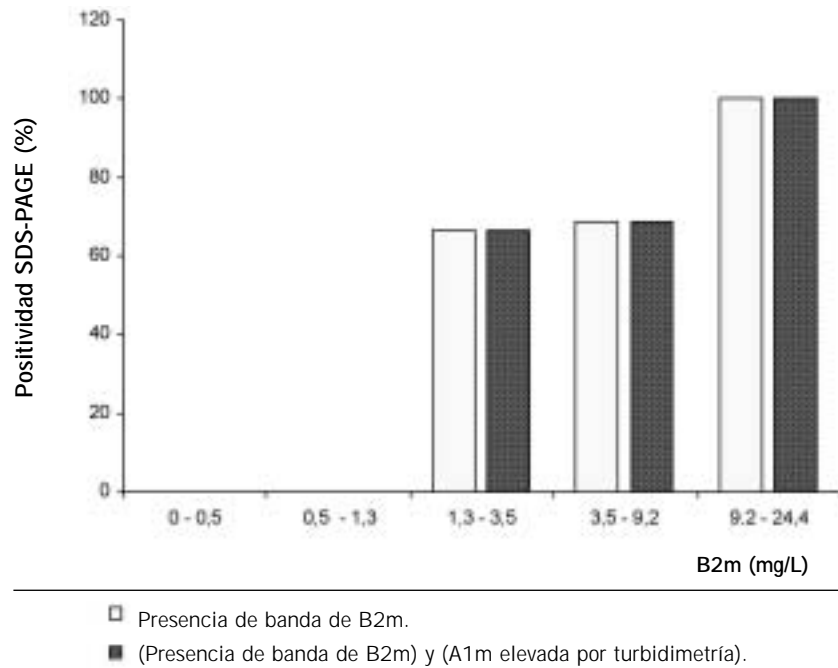


Figura 2. Rangos de valores de B2m obtenidos por turbidimetría en relación con el porcentaje de positividad o presencia de la banda de B2m (12 KDa) en el SDS-PAGE. Las clases de los histogramas se realizaron con intervalos de rangos logarítmicos.

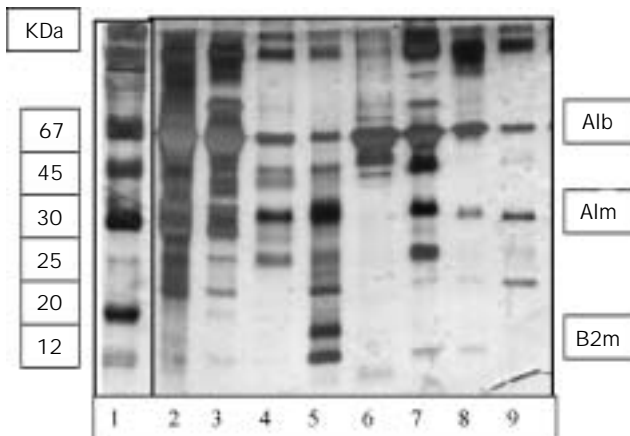


Figura 3. Distintos perfiles uroproteicos observados en el SDS-PAGE. 1: control de PM; 2, 3 y 7: mixto; 4, 5, 8 y 9: distintos perfiles tubulares; 6: glomerular. Alb: Albúmina, A1m: alfa-1 microglobulina, B2m: beta-2 microglobulina.

de referencia en la cuantificación de ambas proteínas (16) (Fig. 4). Las comparaciones entre el perfil tubular y dichos puntos fueron extremadamente significativas ( $p < 0,0001$ ) para valores de corte de B2m ( $> 0,3$  mg/L) y de A1m ( $> 12$  mg/L), siendo respectivamente, las sensibilidades del 86% (IC 95% = 75-93%) y del 94% (IC 95% = 86-98%), y las especificidades del 93% (IC 95% = 81-99%) y del 97% (IC 95% = 87-100%).

Por otro lado, se efectuó la comparación entre los PPU cualitativos obtenidos por URO y por SDS-PAGE.

La evaluación de los mismos se describe en la Tabla I y Figura 5. El perfil proteico fisiológico resultó concordante entre el URO y el SDS-PAGE en el 72% de los casos. En el 100% del URO y en el 86,5% del SDS-PAGE se observó una sola banda de Alb. En el 13,5% restante se observó además de la banda de Alb, una banda tenue de 30 KDa correspondiente a A1m. La misma fue identificada por *immunoblotting* y sus valores cuantitativos se hallaron dentro del rango normal de referencia. Por lo tanto, el perfil fisiológico por SDS-PAGE presentó una única banda de albúmina o dos bandas, una de albúmina y otra muy tenue de A1m.

Las orinas que mostraron un perfil fisiológico por URO y un perfil glomerular, mixto o tubular por SDS-PAGE presentaron proteinurias bajas, entre valores negativos y ligeramente superiores a 0,2 g/24 h.

En las denominadas proteinurias de muy alta selectividad (MAS) se determinaron valores de proteínas en un rango entre 0,10-0,60 g/24 h. La EIF frente a anti-B2m fue negativa; sin embargo, en el 93% se obtuvieron valores elevados de la misma por turbidimetría, en un rango entre 0,19-2,36 mg/L, con un valor medio de 0,87 mg/L. La técnica empleada para EIF detecta la banda de B2m cuando su concentración es superior a 3 mg/L, aproximadamente (7).

El 100% de las proteinurias tubulares por el URO por EIF positiva para B2m presentaron un perfil tubular por SDS-PAGE, pero en el 15% de las mismas se observó un compromiso mixto. Todas ellas tuvieron valores cuantitativos elevados de A1m y B2m.

En todas las proteinurias glomerulares definidas

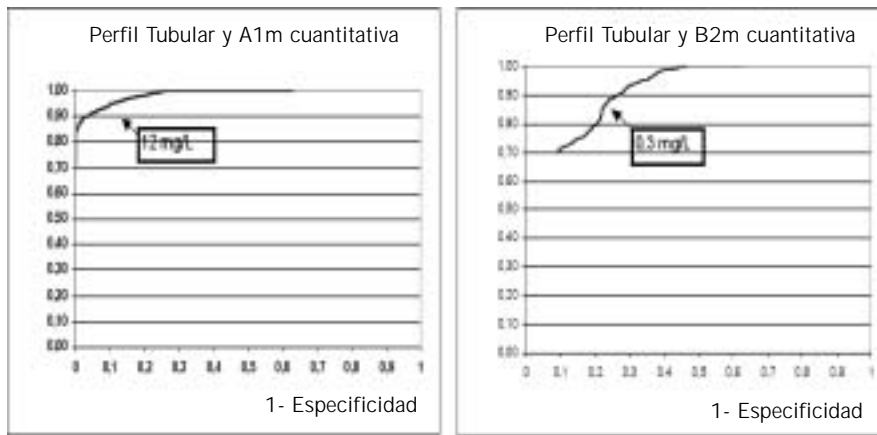


Figura 4. Curvas ROC. Perfil tubular definido para SDS-PAGE (Banda de A1m y otra de menor PM) por comparación con valores aumentados de A1m y B2m por turbidimetría. A1m: alfa-1 microglobulina, B2m: beta-2 microglobulina

por URO se obtuvo un perfil mixto en SDS-PAGE; en el 94% se obtuvieron valores de A1m aumentados y en el 53%, de B2m. Una sola presentó valores normales de ambas con un SDS-PAGE caracterizado por transferrina, Alb, banda en 45 KDa y banda en 30 KDa.

En el caso de las proteinurias mixtas por URO, el 100% fueron coincidentes con el SDS-PAGE y el 100% tenía valores elevados de A1m y B2m.

### Discusión y Conclusiones

Es importante detectar una proteinuria tubular porque puede preceder a la glucosuria, aminoaciduria o a la fosfaturia y a menudo es el primer y único signo de disfunción tubular (11). El daño tubular puede responder a distintas causas y se evidencia por el incremento en la excreción de las proteínas de bajo PM, debido a

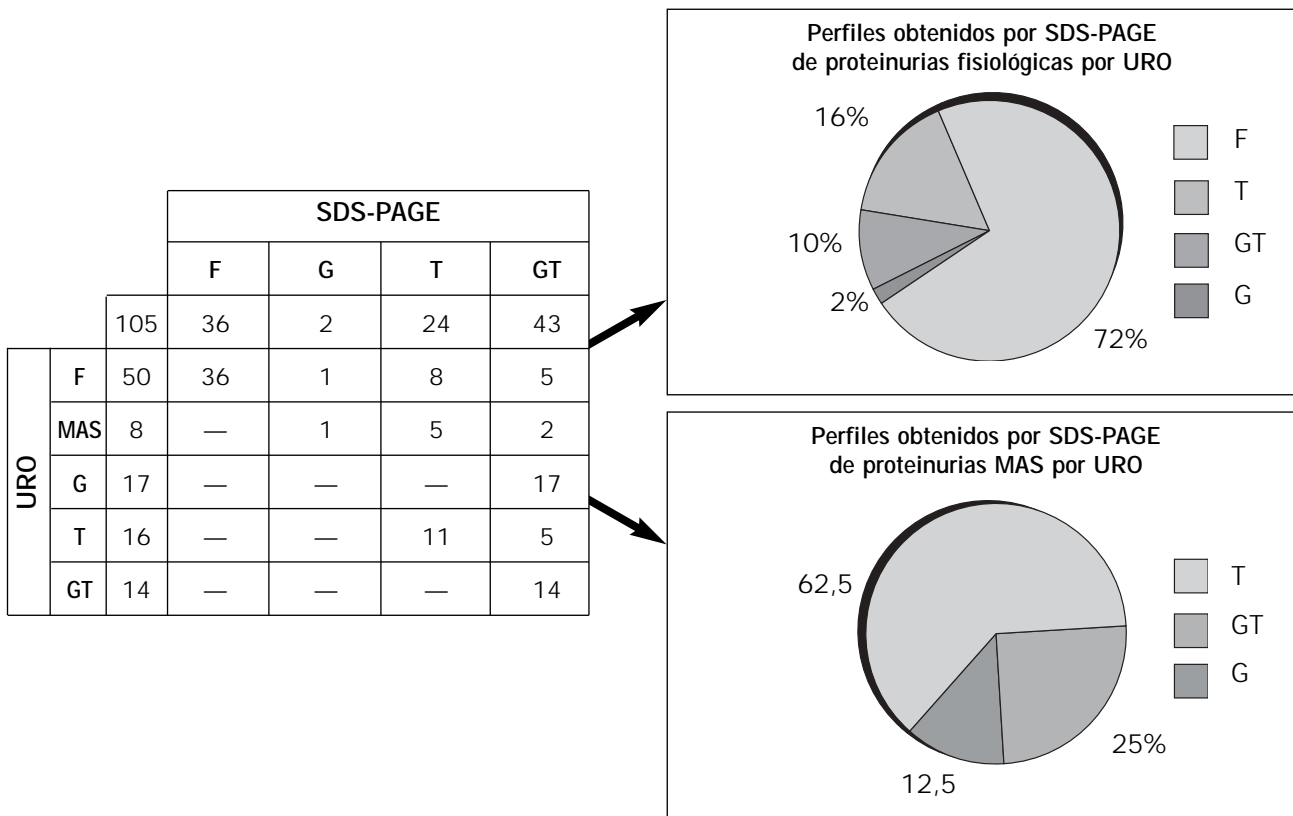


Figura 5. Cuadro comparativo de los perfiles uroprotéicos obtenidos por ambos métodos, Uroproteinograma electroforético (URO) y SDS-PAGE. F: Fisiológico, MAS: Proteinuria de muy alta selectividad, G: Glomerular, T: Tubular, GT: Glomérulo-Tubular.

Tabla I. Evaluación de Perfiles Uroproteicos obtenidos en: Uroproteinograma electroforético (URO) y SDS-PAGE

PERFILES UROPROTEICOS (PPU)	Definidos por URO	Definidos por SDS-PAGE
Fisiológico (F)	Banda tenue de Alb	A- Banda de Alb (67KDa) B- Banda de Alb y banda tenue de A1m (30 KDa)
Proteinuria de muy alta selectividad (MAS)	Banda tenue de: Alb, transferrina y fondo gamma; B2m por fijación: negativo	NO APLICABLE (*)
Glomerular (G)	Banda de: Alb, alfa-1, alfa-2, transferrina y fondo gamma variable.	A- Banda de Alb y transferrina (97 KDa) B- Banda de Alb, transferrina e inmunoglobulinas (150 KDa)
Tubular (T)	Banda tenue de: Alb, post B2 y/o fondo gamma; B2m por fijación: positivo	Banda de Alb, A1m y otra banda de peso molecular menor a 30 KDa
Glomérulo-tubular (GT)	Banda de: Alb, transferrina, post B2 y fondo gamma; B2m por fijación: positivo	Combinación G-T

(\*): El SDS-PAGE define la proteinuria de MAS con mayor especificidad que el URO, la clasifica dentro de otros perfiles.

que la reabsorción de las mismas está impedida. Además, los perfiles de excreción pueden variar, al depender de la patología que los origina o del mecanismo involucrado en el daño renal (12-17). El daño tubular puede observarse también en nefropatías con proteinuria glomerular, debido al efecto adverso de la sobrecarga proteica y a la eventual actividad biológica que las mismas puedan ejercer en su microentorno (18). La proteinuria es un factor de riesgo independiente de la progresión de la enfermedad glomerular crónica y está asociada con la extensión del daño hacia el túbulo-intersticio. La acumulación de proteínas en las células tubulares induce la expresión incrementada de una variedad de citoquinas inflamatorias y fibrogénicas, con el consecuente desarrollo de inflamación intersticial, proliferación de fibroblastos, producción incrementada de matriz extracelular y formación de fibrosis intersticial (3). Por lo tanto, es importante detectar una proteinuria tubular porque puede indicar un signo precoz de daño tubular o la progresión del daño glomerular.

En función de los resultados descriptos, se ha observado que el URO ofrece limitaciones en la tipificación de la proteinuria tubular si se lo compara con el SDS-PAGE; y por otro lado, éste tiene menor sensibilidad que la cuantificación de A1m y B2m. Maachi M, *et al.* refieren que el SDS-PAGE tiene un límite de detección analítica por encima del intervalo de referencia para muchas bandas proteicas (alrededor de 20 mg/L) y proponen alternativamente la cuantificación inmunturbidimétrica o nefelométrica de las proteínas en cuestión (19). Se ha comprobado que la sensibilidad de la coloración argéntica utilizada resulta adecuada para el caso de A1m, mientras que no es así para B2m.

Los perfiles con proteínas de bajo PM son variados, pero todos ellos presentan en común a la A1m. Por lo dicho anteriormente, esta banda de A1m puede estar cuantitativamente dentro de los valores normales o aumentada, pero en caso de presentarse además con otra banda de menor PM, los valores de A1m y/o B2m por turbidimetría se encuentran sistemáticamente aumentados. Es por esto que el cuadro proteico mencionado se ha definido como "perfil tubular por SDS-PAGE", con la ventaja de reducir el número de determinaciones cuantitativas.

Por otro lado, diversos investigadores proponen la utilidad del SDS-PAGE como herramienta para el seguimiento y pronóstico en diversas patologías renales. Bazzi C, *et al.* (18) estudiaron 145 pacientes con glomerulonefritis, por SDS-PAGE y por biopsia, y establecieron dos perfiles de eliminación de proteínas de bajo PM: uno con PM mayor o igual a 23 KDa y el otro con valores mayores o iguales a 10 KDa. Además, en este último hallaron un valor predictivo positivo para la incidencia de falla renal crónica (FRC), atribuido a un posible efecto túbulo-tóxico por la proteinuria persistente. Por lo que concluyeron que la evaluación de los perfiles resultaría una herramienta de utilidad clínica en la identificación de pacientes que desarrollarán FRC con relativa alta tasa de probabilidad, mientras que el dosaje de las proteínas totales urinarias, no distingue entre los pacientes que desarrollarán FRC, de aquellos que mantendrán su función renal normal. Asimismo, los PPU pueden ser predictivos de la respuesta a la terapia.

Lau YK, *et al.* concluyen que el SDS-PAGE es poco utilizado y lo proponen para el manejo de los pacientes renales, por tratarse de una técnica no invasiva, re-

comendable no sólo para el diagnóstico, sino también para el seguimiento y control del grado de respuesta terapéutica, con el fin de reducir en ciertos casos la necesidad de la biopsia renal (20).

En base al presente estudio, el URO con tinción argéntica posee la ventaja de evaluar los PPU sin concentración previa de la orina. Sin embargo, este método tiene sus limitaciones si se lo compara con el SDS-PAGE, también con tinción argéntica y con la cuantificación turbidimétrica de A1m y B2m. El SDS-PAGE por su parte, presenta como principal limitación el no diferenciar las cadenas livianas libres monoclonales de las policlonales (21). Al comparar los tres métodos, se observa que ninguno es excluyente ya que el fundamento y la información que brindan son diferentes (4). Con criterio analítico, se debería realizar el URO como primera aproximación para establecer el perfil proteinúrico. Si se observa un perfil fisiológico, de muy alta selectividad, tubular o glomerular, habría que continuar el estudio con SDS-PAGE, que sería concluyente si muestra un perfil tubular o mixto. En cambio, si el perfil es fisiológico o glomerular y el cuadro clínico lo justifica, se deberían cuantificar la A1m y la B2m. No obstante, de 36 muestras que presentaron un perfil fisiológico por SDS-PAGE, sólo 2 tuvieron valores de A1m en el límite superior normal con valores de B2m normales y una tercera muestra con valores de A1m normal y B2m ligeramente aumentada (0,47 mg/L).

Aunque el SDS-PAGE es el método electroforético de alta resolución más ampliamente usado para evaluar el perfil proteinúrico, no ha sido rutinariamente adoptado aún en el laboratorio clínico.

Se ha validado el perfil tubular definido para el SDS-PAGE mediante la cuantificación de cada proteína específica (A1m y B2m), demostrándose que esta técnica puede ser utilizada como herramienta útil en la evaluación del daño tubular.

Se desea remarcar, por último, la importancia futura que reviste el SDS-PAGE como complemento del URO, por tratarse de una técnica de alta sensibilidad y especificidad en la evaluación de daño tubular para el pronóstico y seguimiento de distintas patologías con compromiso renal

#### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado con el Subsidio de la UBA (B117).

#### CORRESPONDENCIA

DRA. MARÍA LAURA FACIO  
Departamento de Bioquímica Clínica  
Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Junín 956, 1113 - Capital Federal  
CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES. Argentina.  
E-mail: mlfacio@hotmail.com

## Referencias bibliográficas

- Allison A. Role of cellular infiltrates in response to proteinuria. *Am J Kidney Dis* 2001; 37 (1 Suppl 2): S25-9.
- Burton C, Harris D. The rol of proteinuria in the progression of chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 765-75.
- Bazzi C. Composition of proteinuria in primary glomerulonephritides: association with tubulo-interstiale damage, outcome and response to therapy. *G Ital Nefrol* 2003; 20: 346-55.
- Marshall T, Williams K. Clinical analysis of urinary proteins using high resolution electrophoretic methods. *Electrophoresis* 1998; 19: 1752-70.
- García M. Electroforesis de proteínas urinarias sin concentración previa de las muestras. *Rev Asoc Bioquim Argent* 1994; 58: 171-84.
- García M, Madalena L, Bragantini G, Bresciani P, Pizzolato M. Electroinmunofijación de orinas sin concentrar por coloración con metales pesados. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 1996; 3: 215-20.
- Facio M, Madalena L, Bragantini G, Fraind S, Bresciani P, Pizzolato M. Determinación de microproteínas urinarias en orinas sin concentrar. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2000; 36: 285-92.
- Sasse J, Gallagher S. Staining Proteins in gels. En: Ausubel FM, *et al*, editors. *Current Protocols in Molecular Biology*. New York: John Wiley & Sons Inc; 2003. p.10-6.
- Hames BD, Rickwood D, editors. *Gel Electrophoresis of Proteins. A Practical Approach*. 2nd Edition. Oxford: Oxford University Press; 1994. p. 60-6.
- Bernard AM, Moreau D, Lauwerys R. Comparison of retinol-binding protein and  $\beta_2$ -microglobulin determination in urine for the early detection of tubular proteinuria. *Clin Chim Acta* 1982; 126: 1-7.
- Piscator M. Early detection in tubular dysfunction. *Kidney Int* 1991; 40, Suppl 34: S5-S17.
- Bernard A, Thielemans N, Lauwerys R. Urinary protein 1 or Clara cell protein: A new sensitive marker of proximal tubular dysfunction. *Kidney Int* 1994; 46 (Suppl 47): 34-7.
- Holm J, Nielsen N, Hemmingsen L. Retinopathy in Type II diabetes mellitus associated with above-normal urinary excretion of RBP. *Kidney Int* 1994; 46 (Suppl. 47): 105-8.
- Madalena L, Facio M, Bresciani P, Fraind S, Alejandro M, Pandolfo M, *et al*. Excreción de proteínas de bajo peso molecular en pacientes con proteinuria a cadena liviana como marcadoras de disfunción renal. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2004; 38 (1): 17-22.
- Le Bricon T, Erlich D, Djaouida B, Dussaucy M, Garnier J, Bousquet B. Sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis of urinary proteins: Application to multiple myeloma. *Clin Chem* 1998; 44: 1191-7.
- Corso A, Serricchio G, Zappasodi P, Klersy C, Bosoni T, Moratti R, *et al*. Assessment of renal function in patients with multiple myeloma: the rol of urinary proteins. *Ann Hematol* 1999; 78: 371-5.

17. Teppo A, Honkanen E, Ahonen J, Grönhagen-Riska C. Changes of urinary  $\alpha_1$ -microglobulin in the assessment of prognosis in renal transplant recipients. *Transplantation* 2000; 70 (8): 1158-9.
18. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Beltrame A, D'Amico G. Characterization of proteinuria in primary glomerulonephritides. SDS-PAGE Patterns: Clinical significance and prognostic value of low molecular weight ("tubular") proteins. *Am J Kidney Dis* 1997; 29 (1): 27-35.
19. Maachi M, Fellahi S, Regeniter A, Diop M, Capeau J, Rossert J, *et al.* Patterns of Proteinuria: Urinary Sodium Dodecyl Sulfate Electrophoresis Versus Immunonephelometric Protein Marker Measurement Followed by Interpretation with the Knowledge-Based System MDI-LabLink. *Clin Chem* 2004; 50: 1834-7.
20. Lau YK, Woo KT. SDS-PAGE is underutilised as a tool for investigating renal patients. *Nephron* 2002; 90: 227-9.
21. Marshall T, Williams KM. Electrophoretic analysis of Bence Jones proteinuria. *Electrophoresis* 1999; 20: 1307-24.

**Aceptado para su publicación el 18 de agosto de 2006**