



Universidad  
Católica de  
Valencia  
San Vicente Mártir

TFG

**TRABAJO FIN DE GRADO**

---

**GRADO EN  
VETERINARIA**

**USO DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA:  
COMPARATIVA ENTRE LA ESPECIE CANINA Y  
FELINA**

**Alumno:** Martyna Wsol

**Tutor:** Laura Gil Vicente

**Curso académico:** 5º Veterinaria



Facultad de Veterinaria  
y Ciencias Experimentales  
Universidad Católica de Valencia  
San Vicente Mártir

### **Agradecimientos**

En primer lugar, a mis padres, por hacer posible que pudiera estudiar la carrera que siempre he soñado, apoyándome en cada paso que he dado. A mi hermana Kamila, por haber aguantado mis humores y lloros cuando ya no podía más. A mis perros Bruce y Aston, porque siempre me habéis dado el empujón para no dejar la carrera, con vuestro amor diario.

A mi tutora Laura Gil, por su infinita paciencia con el trabajo, por haber confiado en mí para realizar este estudio y por haber sido una inspiración de profesora desde que entré en la universidad.

A Maite del laboratorio del Hospital de la UCV, sin tu ayuda y la del equipo del laboratorio aún estaría descifrando cómo funcionan algunas de las máquinas.

A las personas que conocí a lo largo de la carrera y que siempre han estado en los momentos más duros y también en las etapas más bonitas de mi vida. Gracias, Irene, Vicky, Bárbara, Marina y Mar.

A mis pilares en el día a día, que lleváis conmigo mucho antes de haber comenzado esta carrera. Vosotros sí que tenéis un gran mérito, Yulia, Mireya, Mire, Paula y Alex.

Al equipo veterinario +Cotas, por tratarme como de la familia, por haberme dado todo el apoyo del mundo, haber confiado en mí y haberme enseñado tanto.

Mil gracias a todos, de corazón.

## TABLA DE CONTENIDO

1.	RESUMEN.....	5
2.	INTRODUCCIÓN .....	1
3.	OBJETIVOS .....	4
3.1	<i>OBJETIVO GENERAL</i> .....	4
3.2	<i>OBJETIVOS PARCIALES</i> .....	4
4.	MATERIAL Y MÉTODOS .....	5
4.1	<i>POBLACIÓN DE ESTUDIO</i> .....	5
4.2	<i>FACTORES DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN</i> .....	5
4.3	<i>RECOLECCIÓN Y PROCESADO DE MUESTRAS</i> .....	6
4.4	<i>TÉCNICA ELECTROFORÉTICA URINARIA</i> .....	7
4.5	<i>ESTADÍSTICA</i> .....	10
5.	RESULTADOS.....	11
5.1	<i>POBLACIÓN DE ESTUDIO</i> .....	11
5.2	<i>ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA</i> .....	13
6	DISCUSIÓN .....	25
6.1	<i>ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA COMPARATIVA GATOS Y PERROS SANOS</i> .....	26
6.2	<i>ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA COMPARATIVA SUERO Y ORINA DE GATOS SANOS</i> ....	28
7	CONCLUSIONES .....	29
8	BIBLIOGRAFÍA .....	30

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. COMPARATIVA MEDIANTE ANOVA DE LAS DIFERENTES FRACCIONES DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA ENTRE EL GRUPO DE GATOS SANOS Y PERROS SANOS .....	20
--	----

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACIÓN 1. TUBO DE DIALIZACIÓN CON MUESTRA TRAS CENTRIFUGACIÓN .....	8
ILUSTRACIÓN 2. EQUIPO MINICAP SEBIA UTILIZADO PARA LA REALIZACIÓN DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA.....	9
ILUSTRACIÓN 3. MUESTRAS INTRODUCIDAS PARA REALIZAR LA ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA EN EL EQUIPO MINICAP SEBIA .....	9
ILUSTRACIÓN 4. POBLACIÓN DE GATOS ESTERILIZADOS O NO ESTERILIZADOS.....	11
ILUSTRACIÓN 5. POBLACIÓN DE GATOS SEGÚN LA RAZA.....	11
ILUSTRACIÓN 6. POBLACIÓN DE PERROS ESTERILIZADOS O NO ESTERILIZADOS.....	12
ILUSTRACIÓN 7. POBLACIÓN DE PERROS SEGÚN LA RAZA.....	12
ILUSTRACIÓN 8. SUERO FELINO DILUIDO 1:49 UTILIZADO COMO CONTROL Y MIGRADO EN EL MINICAP (CURVA PATRÓN).....	13
ILUSTRACIÓN 9. SUPERPOSICIÓN DE SUERO FELINO DILUIDO 1:49 (CURVA PATRÓN) CON UNA CURVA ELECTROFORÉTICA URINARIA DE GATO SANO .....	13
ILUSTRACIÓN 10. DIAGRAMA DE CAJAS DE LA POBLACIÓN DE GATOS Y PERROS SANOS PARA LA FRACCIÓN 1 (F1).....	14
ILUSTRACIÓN 11. GRÁFICO DE MEDIAS PARA LA FRACCIÓN 1 (F1) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO COMPARANDO EL GRUPO DE GATOS SANOS CON EL GRUPO DE PERROS SANOS.....	15
ILUSTRACIÓN 12. DIAGRAMA DE CAJAS DE LA POBLACIÓN DE GATOS Y PERROS SANOS PARA LA FRACCIÓN 2 (F2).....	15
ILUSTRACIÓN 13. GRÁFICO DE MEDIAS PARA LA FRACCIÓN 2 (F2) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO COMPARANDO EL GRUPO DE GATOS SANOS CON EL GRUPO DE PERROS SANOS.....	16
ILUSTRACIÓN 14. DIAGRAMA DE CAJAS DE LA POBLACIÓN DE GATOS Y PERROS SANOS PARA LA FRACCIÓN 3 (F3).....	16
ILUSTRACIÓN 15. GRÁFICO DE MEDIAS PARA LA FRACCIÓN 3 (F3) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO COMPARANDO EL GRUPO DE GATOS SANOS CON EL GRUPO DE PERROS SANOS.....	17
ILUSTRACIÓN 16. DIAGRAMA DE CAJAS DE LA POBLACIÓN DE GATOS Y PERROS SANOS PARA LA FRACCIÓN 4 (F4).....	17
ILUSTRACIÓN 17. GRÁFICO DE MEDIAS PARA LA FRACCIÓN 4 (F4) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO COMPARANDO EL GRUPO DE GATOS SANOS CON EL GRUPO DE PERROS SANOS.....	18
ILUSTRACIÓN 18. DIAGRAMA DE CAJAS DE LA POBLACIÓN DE GATOS Y PERROS SANOS PARA LA FRACCIÓN 5 (F5).....	19
ILUSTRACIÓN 19. GRÁFICO DE MEDIAS PARA LA FRACCIÓN 5 (F5) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO COMPARANDO EL GRUPO DE GATOS SANOS CON EL GRUPO DE PERROS SANOS.....	19
ILUSTRACIÓN 20. GRÁFICO DE DISPERSIÓN DE PUNTOS PARA LA FRACCIÓN 1 (F1) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO Y SÉRICO DE GATOS SANOS .....	21
ILUSTRACIÓN 21. GRÁFICO DE DISPERSIÓN DE PUNTOS PARA LA FRACCIÓN 2 (F2) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO Y SÉRICO DE GATOS SANOS .....	22
ILUSTRACIÓN 22. GRÁFICO DE DISPERSIÓN DE PUNTOS PARA LA FRACCIÓN 3 (F3) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO Y SÉRICO DE GATOS SANOS .....	22
ILUSTRACIÓN 23. GRÁFICO DE DISPERSIÓN DE PUNTOS PARA LA FRACCIÓN 4 (F4) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO Y SÉRICO DE GATOS SANOS .....	23
ILUSTRACIÓN 24. GRÁFICO DE DISPERSIÓN DE PUNTOS PARA LA FRACCIÓN 5 (F5) DEL PROTEINOGRAMA URINARIO Y SÉRICO DE GATOS SANOS .....	24

## 1. RESUMEN

El presente trabajo se basa en la comparativa entre la electroforesis capilar urinaria en gatos y perros sanos. Se obtuvieron muestras urinarias de 14 gatos, que se compararon con 123 muestras de perros de un estudio precedente. Se procedió a la realización de la electroforesis capilar urinaria en el equipo Minicap Sebia, el resultado fue la obtención de una curva electroforética. La curva se dividió en cinco fracciones F1 (albúmina), F2 (alfa1-globulinas), F3 (alfa2-globulinas), F4 (beta-globulinas) y F5 (gammaglobulinas). En el análisis estadístico se usó el programa informático R versión 3.4.3. Para comprobar la hipótesis de normalidad se utilizó el test de Anderson-Darling. La comparación de igualdad de varianzas se realizó mediante el test ANOVA, bajo la hipótesis de varianzas iguales o no, siendo los resultados significativos a p-valor inferior a 0.05. En la comparativa de la electroforesis capilar urinaria entre la especie felina y canina se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas para las fracciones F2 y F5 siendo menores en el grupo de los gatos respecto al grupo de los perros, pudiendo asociarse a que los felinos presentan valores de proteinuria más bajos que los caninos. En la F4 hubo diferencias estadísticamente significativas siendo mayor en los gatos respecto a los perros pudiendo asociarse a una mayor excreción de uromodulina en gatos. Además, se realizó una comparativa de las fracciones séricas y urinarias de gatos mediante regresión lineal, donde se observó que no existía ninguna correlación entre un aumento o disminución en las fracciones urinarias y séricas de un mismo individuo.

## ABSTRACT

The present study is based on the comparison between urinary capillary electrophoresis in healthy cats and dogs. Urine samples were obtained from 14 cats, which were compared to 123 dog samples from a previous study. Urinary capillary electrophoresis was performed in the Minicap Sebia equipment, the result was the obtaining of an electrophoretic curve. The curve was divided into five fractions F1 (albumin), F2 (alpha1-globulins), F3 (alpha2-globulins), F4 (beta-globulins) and F5 (gammaglobulins). In the statistical analysis, the software R version 3.4.3 was used. To test the normality hypothesis, the Anderson-Darling test was used. The comparison of equality of variances was performed using the ANOVA test, under the hypothesis of equality of variances or not. Statistically significant results were those with a p value of less than 0.05. Comparing urinary capillary electrophoresis between the feline and canine species, statistically significant differences were found for the F2 and F5 fractions, being lower in the group of cats compared to the group of dogs, which may be associated with the fact that cats present values of proteinuria lower than that of dogs. In F4 there were statistically significant differences, being higher in cats compared to dogs, which could be associated with a higher excretion of uromodulin in cats. In addition, a comparison of the serum and urinary fractions of cats was carried out using linear regression, where it was shown that there is no correlation between an increase or decrease in the urinary and serum fractions of the same individual.

## 2. INTRODUCCIÓN

La electroforesis es una técnica laboratorial que se basa en la separación de biomoléculas según su carga, peso molecular y estructura, cuando se somete a un campo eléctrico, provocándose así una migración del cátodo o ánodo. La primera vez que se empleó la electroforesis como medio de análisis fue en 1937 por Tiselius. Con el paso de los años han ido surgiendo otros tipos de electroforesis, perfeccionándose cada vez más la técnica (García, 2000).

La técnica de la electroforesis se clasifica en la electroforesis de zona y la electroforesis capilar. Estas técnicas se diferencian en que la electroforesis capilar no necesita un soporte líquido, sino que utiliza capilares de sílice fundido para la separación de las biomoléculas. En cambio, la electroforesis de zona sí que usa el soporte sólido en forma de gel poroso que suele ser un polímero (Castagnino, 1997; Osatinsky, 2007).

La electroforesis en zona necesita un soporte sólido como puede ser en geles o papel, y un campo eléctrico para que se produzca la diferencia de potenciales (Counotte, 2010). Dentro de la electroforesis en zona existen diferentes tipos de electroforesis como la electroforesis en papel, electroforesis en acetato de celulosa, electroforesis en gel de agarosa, en gel de poliacrilamida (PAGE), electroforesis en sodio dodecilsulfato-gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) y la electroforesis de alta resolución (García, 2000; Kohn, 1957).

A lo largo del tiempo la electroforesis más usada fue la electroforesis en gel de agarosa, pero esta ha sido poco a poco reemplazada por la electroforesis capilar (Counotte, 2010; Giordano y Paltrinieri, 2010). La electroforesis capilar se basa en la separación de moléculas según la velocidad de migración bajo la acción de un campo eléctrico de compuestos iónicos, sin necesidad de elementos de soporte. La separación se realiza a través de un capilar de sílice fundido de pequeño diámetro (Castagnino, 1997; Osatinsky, 2007).

La electroforesis capilar se basa en la separación de moléculas según la velocidad de migración bajo la acción de un campo eléctrico de compuestos iónicos, sin necesidad de elementos de soporte. La separación se realiza a través de un capilar de sílice fundido de pequeño diámetro (Castagnino, 1997; Osatinsky, 2007).

Las ventajas de la electroforesis capilar frente otras técnicas laboratoriales electroforéticas son su bajo coste, que es una técnica rápida y posee alto rango de diagnóstico, así como una alta sensibilidad. Pero cabe destacar que también presenta desventajas, la que más destaca es el alto coste de la máquina de electroforesis capilar, además el uso de altos voltajes que puede dar lugar a datos erróneos o la presencia de resultados anormales (Counotte, 2010; Doroteo, 2012).

Este tipo de técnica laboratorial se ha usado en medicina humana, para la detección de enfermedades metabólicas, debido a la acumulación de metabolitos en suero y orina detectados mediante electroforesis capilar (Jellum et al., 1996). Siendo también empleada en la detección de enfermedades inflamatorias, infecciosas, inmunomediadas y neoplásicas tanto en medicina humana como veterinaria (Navarro et al., 2021)

Cabe destacar que la electroforesis posee diferentes usos, como puede ser el análisis de proteínas, vacunas o antibióticos (Doroteo, 2012; Voeten et al., 2018). Por lo que, debido a sus diferentes usos, posee un gran interés en la industria farmacéutica, bioquímica y biotecnológica, entre otras áreas (Osatinsky, 2007).

En cuanto a la medicina veterinaria, la electroforesis capilar y sus usos es un campo aún en estudio. Se han realizado diferentes trabajos sobre el uso de la electroforesis en suero y orina, aunque es la electroforesis en gel de agarosa, la técnica más empleada para el estudio de proteinuria en enfermedades renales (Zaragoza et al., 2003; Zini et al., 2004). La técnica de electroforesis urinaria en gel se considera una técnica sensible, en cambio, no posee una alta especificidad para diferenciar entre los diferentes desordenes glomerulares, pero sí es útil para el diagnóstico de una enfermedad tubulointersticial avanzada (Navarro et al., 2021; Zaragoza et al., 2003). En cambio, solo existen dos estudios en veterinaria sobre el uso de electroforesis capilar urinaria. En 2019 Pelander publicó un estudio donde se analizaron los péptidos urinarios para un diagnóstico precoz de la enfermedad renal crónica en perros. En este estudio, se identificó la existencia de 133 péptidos urinarios diferentes en perros sanos respecto a perros con enfermedad renal crónica (Pelander et al., 2019). En el otro estudio, se establecieron los intervalos de referencia de electroforetogramas urinarios de perros sanos y se identificaron diferencias entre los proteinogramas urinarios entre individuos sanos y enfermos por enfermedad renal crónica y enfermedad renal asociada a *Leishmania infantum* (Navarro et al., 2021).

En diversos trabajos se ha estudiado la estabilidad de almacenaje de la orina para su posterior análisis mediante electroforesis capilar. Se ha evaluado como cambian los valores urinarios según el tiempo de almacenamiento de la muestra de orina. La orina frente otros fluidos corporales usados en la técnica de electroforesis capilar, presenta ventajas como su estabilidad en la fracción de proteínas urinarias, además de ser un líquido corporal que se puede extraer en grandes cantidades y con poca dificultad, según la especie animal. Las proteínas urinarias poseen valores estables cuando se almacenan a 4°C durante 3 días o cuando se congelan a -20°C durante un periodo de tiempo máximo de 1 año (Théron et al., 2017; Mischak et al., 2010).

El resultado de la electroforesis capilar urinaria es la obtención de una curva electroforética de la muestra de orina. Esta curva se divide en cinco fracciones que se corresponden a las de albúmina, alfa1-globulina, alfa2-globulina, beta-globulinas y gammaglobulina. Según los parámetros obtenidos y la comparativa con

los rangos de referencia ya establecidos, esta técnica puede servir para identificar patologías de origen infeccioso, tumoral o inflamatorio (Navarro et al., 2021).

Este trabajo experimental de fin de grado se centra en la implementación de la electroforesis capilar urinaria en gatos sanos y la comparativa de foretogramas urinarios de perros y gatos sanos, con el fin de valorar las diferencias entre ambas especies.

### 3. OBJETIVOS

---

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

El objetivo principal de este trabajo de fin de grado es la implementación de la técnica de la electroforesis capilar urinaria en animales de la especie felina como método diagnóstico.

---

#### 3.2 OBJETIVOS PARCIALES

Este objetivo general se desglosa en los siguientes objetivos parciales:

1. Implementación de la técnica de electroforesis urinaria en la especie felina.
2. Comparación de electroforetogramas urinarios felinos y caninos de individuos sanos.
3. Comparación de electroforetogramas séricos y urinarios en felinos sanos.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

La realización de este trabajo de fin de grado se llevó a cabo en las instalaciones del Hospital Veterinario de Referencia UCV, tanto para la evaluación física y clínico patológica de los animales, como para la realización de la electroforesis capilar urinaria posterior.

El estudio fue aprobado por el comité de investigación y ética de la Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir (Valencia, España; UCV 2017-2018-33).

La población de estudio fue de 28 animales de la especie felina de la Comunidad Valenciana, siendo aportados en su mayoría por alumnos o trabajadores de la Universidad. Se recopilaron datos desde finales del año 2019 hasta principios del año 2022, se debió de parar casi un año la fase experimental debido a la situación de pandemia por la COVID. Para realizar la comparativa con perros sanos, se utilizaron muestras de orina de 123 perros clínicamente sanos evaluados en un estudio precedente.

### 4.2 FACTORES DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

#### 4.2.1 FACTORES DE INCLUSIÓN

En los criterios de inclusión se tuvieron en cuenta criterios biológicos como la edad, el sexo (hembra, macho), estado reproductivo (intacto, castrado o esterilizado), la raza y parámetros clínicos, como tener un historial clínico libre de patologías, sin administración de medicaciones en el momento de la evaluación (a excepción de terapias profilácticas de vacunación y desparasitación), la realización de una exploración física normal, con resultados clínico-patológicos de los análisis sanguíneos y urinarios dentro de la normalidad (hematología, bioquímica sérica, análisis de orina completo con urocultivo y ratio de proteínas creatinina en orina (UPC), así como serología para detectar títulos de anticuerpos para Virus de Leucemia e Inmunodeficiencia, en el caso de los gatos, y *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis* y *Rickettsia conorii*, en el caso de los perros).

#### 4.2.2 FACTORES DE EXCLUSIÓN

Los animales se descartaron si padecían algún tipo de enfermedad o estaban recibiendo algún fármaco que pudiera alterar los resultados de la investigación. Además, se descartaron aquellos animales con

anormalidades en los estudios clínico-patológicos previamente mencionados o si las curvas electroforéticas urinarias daban resultados anormales y/o difíciles de fraccionar.

---

### 4.3 RECOLECCIÓN Y PROCESADO DE MUESTRAS

Para la realización de la comparativa de la técnica de electroforesis capilar urinaria entre perros y gatos sanos, se utilizaron los datos de curvas electroforéticas urinarias de 123 perros sanos que fueron analizados en una tesis doctoral precedente.

En los pacientes felinos evaluados se recogieron los datos como el nombre, sexo, edad, peso, raza y la información de la historia clínica. Posteriormente se procedió a la realización de un examen físico completo del animal. Los animales fueron evaluados tras un ayuno de al menos 12 horas y con la vejiga llena, por lo que se pidió a los propietarios que retirasen la bandeja de la orina 6 horas antes de la consulta.

La extracción sanguínea se realizó de la vena yugular, aunque ocasionalmente se empleó la vena cefálica, mediante una jeringuilla de 2 mL (Braun) y una aguja azul de 0.6 mm x 25mm de calibre 23G (BD Microlance), extrayendo como mínimo 2 mL. La sangre se introdujo en un tubo colector de 0.5 mL con anticoagulante EDTA (Aquisel), y en dos tubos de serología (Aquisel) de capacidad máxima de 2mL, para posteriormente ser analizadas por el laboratorio de referencia veterinario CEDIVET (Centro Diagnóstico Veterinario). Las muestras fueron identificadas y se almacenaron en refrigeración a 4º C hasta su posterior análisis. Los parámetros incluidos para su evaluación fueron hematología completa, bioquímica con análisis de urea, creatinina, ALT, proteinograma y serología de FIV y FELV (en el caso de los gatos) y *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis* y *Rickettsia conorii* (en el caso de los perros).

En los perros la recolección de la orina se realizó por micción espontánea por parte del propietario, y se almacenó a 4ºC hasta su posterior evaluación en un bote estéril de 150 mL (Deltalab). La recogida de la orina en los gatos se realizó mediante cistocentesis, con una jeringuilla (Braun) de 5 mL y una aguja 0,7mm x 40 mm calibre 22G (BD Microlance), con la ayuda de un ecógrafo (LOGIQ P9, GE) en las instalaciones del Hospital Veterinario de Referencia UCV. Tras de la recolección de las muestras se procedió a la realización del urianálisis en el laboratorio del Hospital Veterinario de Referencia UCV. La mayoría de las muestras de orina se procesaron en el momento de extracción. Sin embargo, alguna muestra se tuvo que procesar pasadas unas horas, por lo que se refrigeró a 4 ºC, realizando el urianálisis en un tiempo inferior a las 8 horas de la recolección. Para la evaluación fisicoquímica de la orina se realizó una inspección visual y una tira de orina (LabStrip U11 Plus; 77 Elektronika Kft), evaluando la presencia de leucocitos, nitritos, bilirrubina, proteínas, pH, sangre, urobilinógeno, cetonas y ácido ascórbico. Se determinó la densidad urinaria con el uso de un refractómetro (Optika Ponteranica), y se realizó valoración del sedimento urinario en fresco y con tinción panóptica (QCA), valorando ambos portaobjetos (Labbox) con el

microscopio (Microscopio binocular DM500; Leica), para determinar la presencia de celularidad, bacterias o cristales urinarios. También se envió a CEDIVET, 1 mL de orina para la realización de análisis de cultivo urinario y el ratio proteína creatinina urinaria (UPC).

Se procedió al almacenamiento de las muestras urinarias para su posterior realización de la electroforesis capilar urinaria. La orina se introdujo en un tubo estéril con tapado faldón (Deltalab) de 12 mL. Se centrifugó 10 minutos a 3500 rpm (Centrífuga 2650; Nahita), y posteriormente se almacenaron las muestras de cada individuo en cuatro tubos Eppendorf con 1 mL de orina en cada uno de ellos (en el caso de que la muestra fuera escasa, se repartió de tal manera que en cada Eppendorf hubiera un mínimo de 0,6 mL). Se rotuló el nombre del animal en la tapa y en un lateral del tubo y tras ello, se congeló la muestra a -20°C.

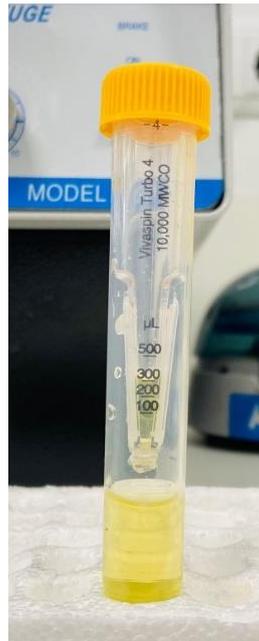
---

#### 4.4 TÉCNICA ELECTROFORÉTICA URINARIA

Tras la recolección de muestras de todos los animales se procedió a la realización de la electroforesis capilar urinaria. La orina se descongeló y se realizó un proceso de dialización y concentración de las proteínas urinarias, y así eliminar artefactos o componentes que pudieran interferir en la electroforesis capilar. Se siguió el protocolo del fabricante que se describe posteriormente.

Tras la descongelación de las muestras se procedió a introducirlas en la centrifugadora (Centrífuga 2650; Nahita), a 2000 rpm durante 10 minutos. Mientras se realizó la centrifugación se sacaron las columnas de dialización (Vivaspin Turbo 4 10000 MWCO, Sartorius) para cada animal, y se rotularon mediante un rotulador permanente para su identificación. Se usan estas columnas de dialización, debido a que contienen una doble membrana donde se retienen las moléculas superiores a 10 kDa, sirviendo para eliminar compuestos que pueden interferir en las curvas electroforéticas y sus resultados.

Cuando finalizaron los 10 minutos de centrifugación, se sacó la muestra de los Eppendorf y se introdujo el sobrenadante en una columna de dialización mediante una pipeta Pasteur. La cantidad de muestra en la columna de dialización debía ser de unos 4 mL. Tras este paso se volvió a centrifugar la columna para concentrar las proteínas urinarias, pero esta vez se realizaron ciclos de 10 minutos a 3500 rpm. La centrifugación se realizó en ciclos de 10 minutos con el objetivo de que en la columna quedara una muestra oscilante entre los 200 y los 500 microlitros (Ilustración 1). Algunas orinas que por poseer una menor concentración de proteínas llegaron antes al rango adecuado, se las apartó y se siguió centrifugando el resto de las muestras hasta los niveles establecidos.



**Ilustración 1. Tubo de dialización con muestra tras centrifugación**

Mientras se realizaba el proceso de centrifugación, se preparó la solución de lavado a partir del tampón de diálisis (Dialysis Buffer, Sebia) y agua destilada. Esta solución de tampón de diálisis se introdujo en un bote estéril de orina, con una jeringuilla de 10 mL (Braun). La cantidad de tampón de diálisis y la de agua destilada fue de 4 mL respectivamente, y posteriormente se procedió a la homogenización de la muestra. Tras la centrifugación se descartó la porción de la muestra acumulada en el fondo de la columna de filtración, utilizando el líquido remanente de la parte superior de la columna. Al remanente se le añadió la solución de lavado, mediante una pipeta Pasteur, hasta alcanzar un volumen de 4 mL. Tras este paso se volvió a centrifugar la columna a 3500 rpm durante 10 minutos, obteniendo un volumen final de muestra en la columna de entre 200 y 500  $\mu\text{L}$ .

Cuando las muestras llegaron a los niveles indicados, se homogeneizó el contenido de la columna con una micropipeta de 20 -200  $\mu\text{L}$ . Esta muestra representaba la orina ya dializada lista para la realización de la electroforesis capilar urinaria, que se introdujo en un nuevo Eppendorf y se identificó en la tapa con el nombre del animal. Para la realización de la electroforesis capilar urinaria se necesitó un mínimo de 100  $\mu\text{L}$  de muestra dializada para su correcta lectura.

La muestra de orina dializada se introdujo en el equipo de Minicap Sebia (Ilustración 2), que debió ser encendido al mismo tiempo que se procesaron las muestras en la centrifugadora, ya que se requiere un tiempo prolongado de encendido. El programa usado fue “Phoresis.exe”, utilizando el modo de trabajo URINE. Cada vez que se utilizó el equipo Minicap Sebia, se realizó un ciclo de limpieza y otro de activación de capilares. Cuando este paso se finalizó, la máquina estaba lista para la introducción de las muestras de orina, mostrando un mensaje de “esperando tubos de muestra”. Una vez realizado este paso, se procedió

a la introducción de las muestras en la posición donde marcaba la interfaz, introduciendo un máximo de 4 muestras por ciclo de lectura para evitar la saturación de los capilares (Ilustración 3). Se anotó la posición de cada una de las muestras y al cerrar la tapa del instrumento, el ciclo de electroforesis capilar se iniciaba de forma automática.



**Ilustración 2. Equipo Minicap Sebia utilizado para la realización de la electroforesis capilar urinaria**



**Ilustración 3. Muestras introducidas para realizar la electroforesis capilar urinaria en el equipo Minicap Sebia**

El procedimiento de la máquina tenía una duración aproximada de 10 minutos. Durante este tiempo los capilares se llenaban con el tampón de separación. Después las muestras se inyectaban por aspiración en el polo anódico del capilar, mediante la aplicación de un alto voltaje para que se produjera la migración a lo largo del capilar. Cuando las muestras alcanzaban el polo catódico, se producía la cuantificación de las fracciones proteicas. Con todo ello se obtenía la curva electroforética de cada animal.

Para poder visualizar las gráficas de la electroforesis capilar, se entró en el programa de la interfaz, donde aparecían las gráficas en el orden en el que se habían introducido las muestras urinarias. Tras ello, se introdujo el nombre del animal correspondiente para identificar cada una de las gráficas. Una vez identificadas las gráficas, se realizaron las líneas de separación de las distintas fracciones del foretograma urinario de cada individuo. La separación de las distintas fracciones se llevó a cabo por el mismo operador, utilizando un suero control de uno de los animales sanos. Con este suero se realizó una dilución 1:49 (10  $\mu$ L de suero y 490  $\mu$ L de solución de dilución), siendo la dilución usada la solución tampón usada previamente en las columnas. La muestra de suero control se puso en un Eppendorf y se resuspendió. La única diferencia con los pasos realizados en la dialización fue que este suero no se centrifugó. Para finalizar, teniendo la muestra de suero preparada y analizada por la máquina de electroforesis capilar, las gráficas de los animales fueron divididas en 5 fracciones. La fracción uno (F1) se correspondió a la albúmina, la fracción dos (F2) correspondió a alfa<sub>1</sub>-globulinas, la fracción 3 (F3) correspondió a la alfa<sub>2</sub>-globulinas, la fracción 4 (F4) correspondió a betaglobulinas, y la fracción 5 (F5) correspondió a gammaglobulinas.

---

#### 4.5 ESTADÍSTICA

El análisis estadístico se realizó usando el programa informático R versión 3.4.3 (R Development Core Team, Viena, Austria) y para ejecutar los contrastes se usaron las librerías gráficas R Commander y los plugin correspondientes a la librería HH Ipsus. Para comprobar la hipótesis de normalidad se utilizó el test de Anderson-Darling. Los resultados se consideraron significativos con p-valores inferiores a 0.05. Los valores de individuos del estudio que no cumplieron la normalidad fueron detectados mediante el gráfico box-plot y eliminados, asumiendo la normalidad de valores biométricos, haciendo hincapié en preservar valores frente a su eliminación.

La comparación de la igualdad de varianzas de los dos grupos, gatos sanos versus perros sanos, se realizó mediante test Barlet. Se comprobó la igualdad de varianzas y el test ANOVA se usó bajo la hipótesis de varianzas iguales o no.

La determinación de si las distintas fracciones séricas y urinarias de un mismo individuo en la población felina presentaba diferencias significativas, se determinó mediante regresión lineal.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

#### Grupo de gatos sanos

De los 28 gatos iniciales que formaron parte de este estudio, se seleccionaron 14 gatos que cumplieron con los requisitos de inclusión.

La edad media de los gatos incluidos en el estudio fue de  $3,75 \pm 2,66$  años. Respecto al sexo se evaluaron 10 hembras (71,43%), de las cuales 9/10 estaban esterilizadas (90%) y 1/10 estaban enteras (10%), así como 4 machos (28,57%), de los cuales 2/4 estaban esterilizados (50%) y 2/4 estaban enteros (50%) (Ilustración 4). La raza predominante en el estudio fue el Común Europeo, 10/14 animales fueron de esta raza (71,42%), mientras que el resto de los gatos 4/14 fueron mestizos (28,57%) (Ilustración 5). No se encontraron anomalías clinicopatológicas significativas en esta población.

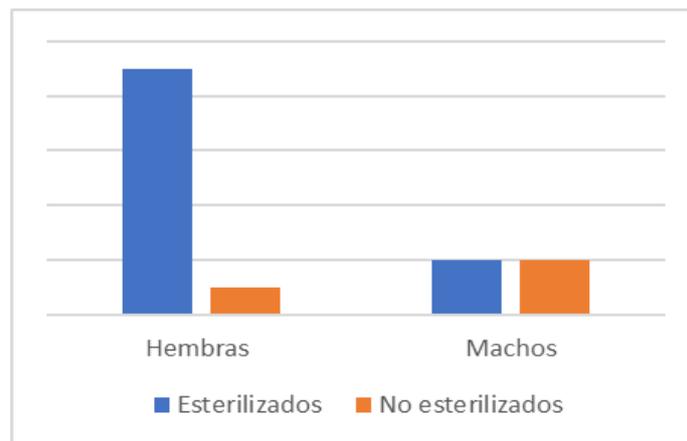


Ilustración 4. Población de gatos esterilizados o no esterilizados



Ilustración 5. Población de gatos según la raza

## Grupo de perros sanos

Los perros incluidos en este trabajo fueron evaluados en un estudio precedente. Se incluyeron 123 perros sanos cuya edad media fue de  $6,64 \pm 3,04$  años. Respecto al sexo, se evaluaron 69 hembras (56,09%), de las cuales 29/69 estaban enteras (23,57%), 30/69 estaban esterilizadas (24,39%) y de las 10/69 restantes (8,13%), su estado reproductivo era desconocido. En cuanto a los machos, se evaluaron 54 individuos (43,90%), de los cuales 22/54 estaban enteros (17,88%), 28/54 estaban castrados (22,76%) y de los 4/54 restantes (3,25%), su estado reproductivo era desconocido (Ilustración 6). La mayoría de las razas que participaron en el estudio fueron perros mestizos 56/123 (45,52%) y los perros de raza bóxer fueron 8/123 siendo los segundos mayoritarios (6,50%), las razas más representadas quedan reflejadas en la ilustración 7. No se encontraron anomalías clinicopatológicas significativas en esta población.

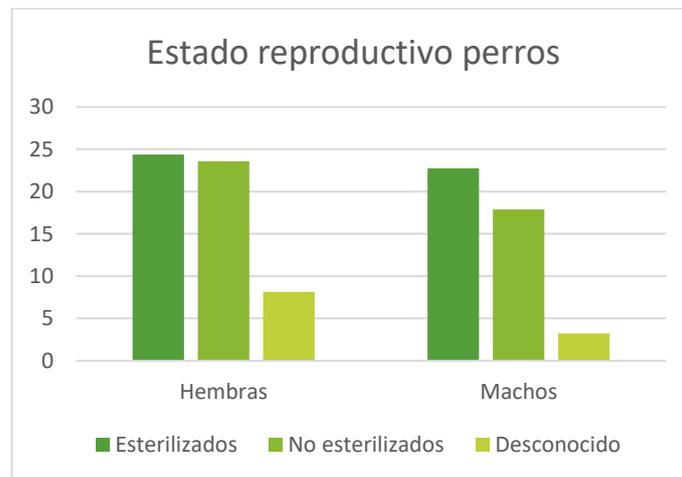


Ilustración 6. Población de perros esterilizados o no esterilizados

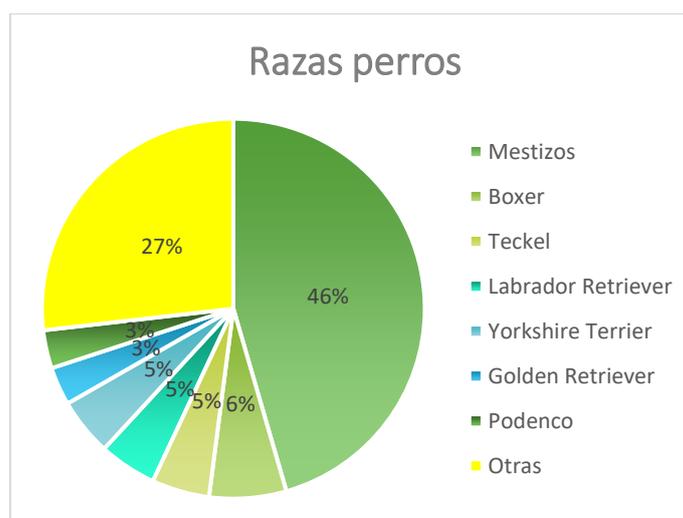


Ilustración 7. Población de perros según la raza

## 5.2 ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA

### 5.1.1 SEPARACIÓN DE LAS FRACCIONES URINARIAS

Se realizó la división de las curvas electroforéticas urinarias en base a la superposición con la curva de suero patrón (Ilustración 8), en ambas especies, para así poder realizar la separación de las diferentes fracciones (Ilustración 9). Las curvas se dividieron en 5 fracciones, fracción 1 (F1) correspondiente a albúmina; fracción 2 (F2) correspondiente a alfa<sub>1</sub>-globulinas; fracción 3 (F3) correspondiente a alfa<sub>2</sub>-globulinas; fracción 4 (F4) correspondiente a beta-globulinas; fracción 5 (F5) correspondiente a gammaglobulinas. Este procedimiento se realizó siempre por el mismo operario.

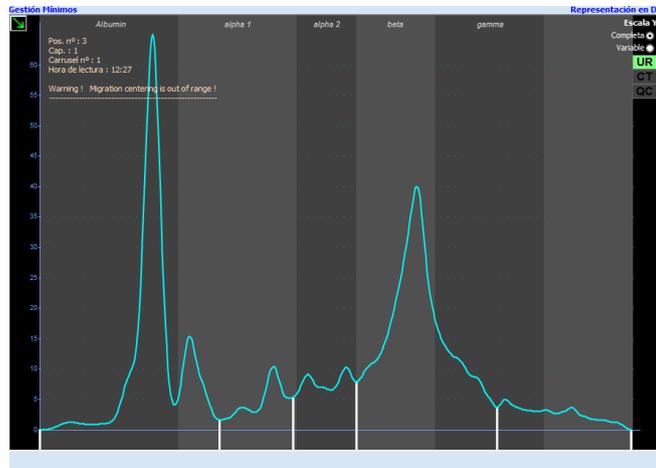


Ilustración 8. Suero felino diluido 1:49 utilizado como control y migrado en el Minicap (curva patrón)

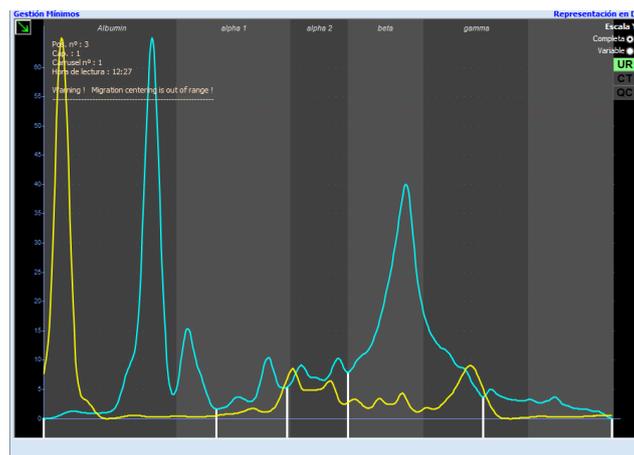


Ilustración 9. Superposición de suero felino diluido 1:49 (curva patrón) con una curva electroforética urinaria de gato sano

## 5.1.2 COMPARACIÓN DE LAS FRACCIONES ELECTROFORÉTICAS URINARIAS DE GATOS Y PERROS SANOS

La comparativa de las diferentes fracciones urinarias entre ambas especies se realizó para valorar si existían diferencias estadísticamente significativas entre sus foretogramas urinarios. Para ello se utilizó un total de 14 gatos sanos y 123 perros sanos.

### Fracción 1 (F1) Albúmina

La normalidad de la F1 se evaluó con el test Anderson-Darling. La población total de gatos sanos no aceptó la normalidad. Se identificó mediante las gráficas box-plot (Ilustración 10) un valor anormal y fue eliminado, considerándolo un valor aberrante. Tras la eliminación de este valor se aceptó la normalidad ( $p=0.58$ ). En el grupo de los perros sanos se aceptó la normalidad ( $p=0.09$ ) sin eliminar ningún valor (Ilustración 11). Una vez cumplió la normalidad, se realizó el test de ANOVA de una vía para comparar entre los dos grupos de estudio.

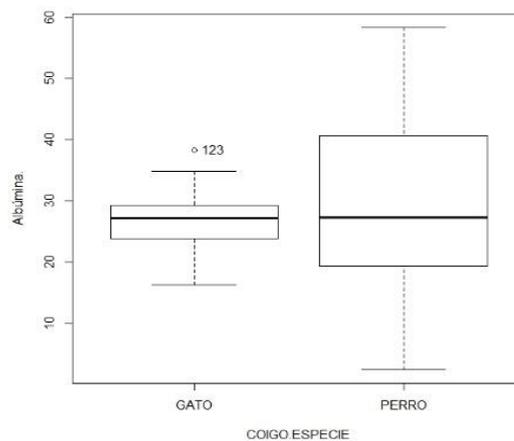
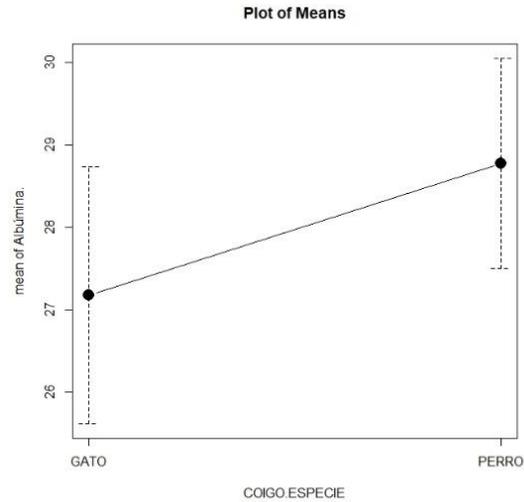


Ilustración 10. Diagrama de cajas de la población de gatos y perros sanos para la fracción 1 (F1)

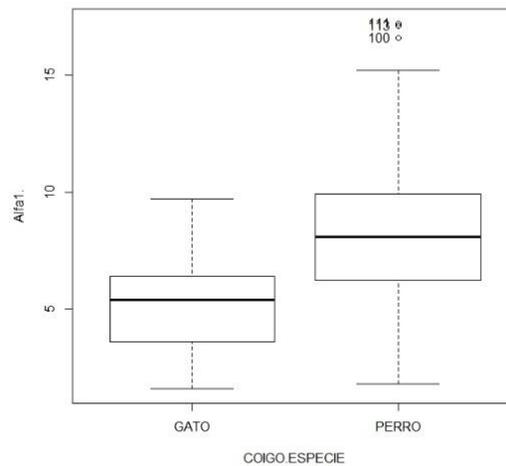
No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F1 entre perros y gatos sanos ( $p$ -valor=0.43), aunque como se observa en la Ilustración 8 la F1 de los gatos era inferior que la de los perros (Ilustración 8).



**Ilustración 11. Gráfico de medias para la fracción 1 (F1) del proteinograma urinario comparando el grupo de gatos sanos con el grupo de perros sanos**

### Fracción 2 (F2) alfa<sub>1</sub>-globulinas

La normalidad de la F2 se evaluó con el test Anderson-Darling. En la población de gatos sanos se aceptó la normalidad ( $p=0.35$ ). En el grupo de los perros sanos no se aceptó la normalidad, eliminándose dos valores al considerarse aberrantes, identificándolos mediante las gráficas box-plot, finalmente se aceptó la normalidad ( $p=0.14$ ) (Ilustración 12). Una vez se cumplió con la normalidad, se realizó el test ANOVA de una vía para comparar entre los dos grupos de estudio.



**Ilustración 12. Diagrama de cajas de la población de gatos y perros sanos para la fracción 2 (F2)**

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F2 entre perros y gatos sanos ( $p$ -valor=0.00), observando que la F2 de los gatos era inferior que la de los perros (Ilustración 13).

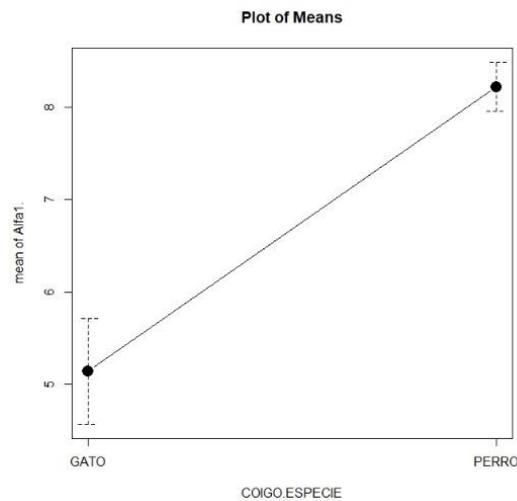


Ilustración 13. Gráfico de medias para la fracción 2 (F2) del proteinograma urinario comparando el grupo de gatos sanos con el grupo de perros sanos

### Fracción 3 (F3) alfa<sub>2</sub>-globulinas

La normalidad de la F3 se evaluó con el test Anderson-Darling. En la población de gatos sanos se aceptó la normalidad ( $p=0.37$ ), en cambio en los perros sanos no se aceptó la normalidad inicialmente, eliminándose dos valores mediante las gráficas box-plot al considerarse aberrantes, finalmente se aceptó la normalidad ( $p=0.09$ ) (Ilustración 14). Una vez se cumplió la normalidad, se realizó el test ANOVA de una vía para comparar ambos grupos de estudio.

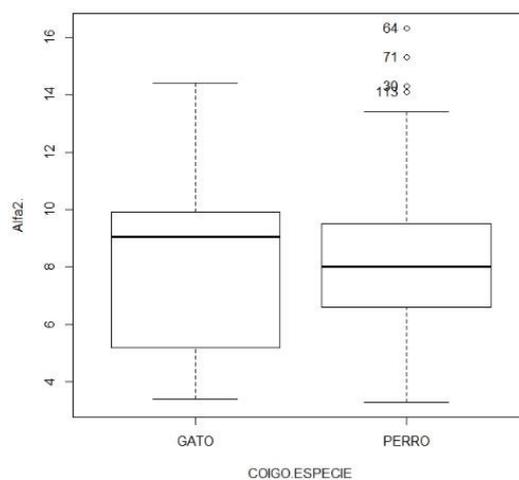
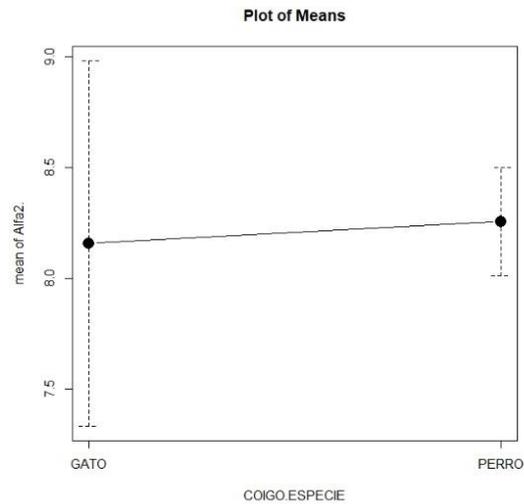


Ilustración 14. Diagrama de cajas de la población de gatos y perros sanos para la fracción 3 (F3)

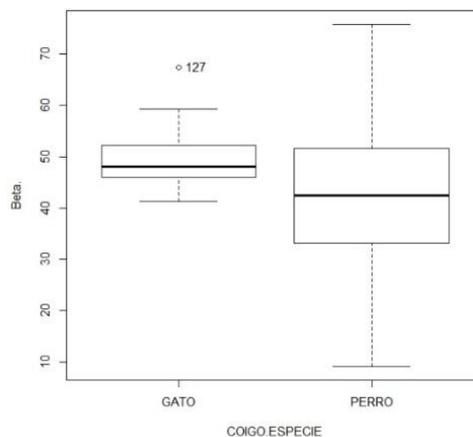
No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F3 entre perros y gatos sanos ( $p$ -valor=0.89), aunque en la ilustración 8 se observa que la F3 de los gatos tiene un rango más amplio que en los perros, siendo su media levemente inferior (Ilustración 15).



**Ilustración 15. Gráfico de medias para la fracción 3 (F3) del proteinograma urinario comparando el grupo de gatos sanos con el grupo de perros sanos**

#### **Fracción 4 (F4) beta-globulinas**

La normalidad de la F4 se evaluó con el test Anderson-Darling. En la población de gatos sanos no se aceptó la normalidad, eliminándose dos valores mediante las gráficas box-plot. Tras eliminar estos valores que se consideraron aberrantes se aceptó la normalidad ( $p=0.12$ ), en cambio en la población de los perros sanos se aceptó la normalidad con el total de la población ( $p=0.79$ ) (Ilustración 16). Una vez se cumplió la normalidad, se realizó el test ANOVA de una vía para comparar ambos grupos de estudio.



**Ilustración 16. Diagrama de cajas de la población de gatos y perros sanos para la fracción 4 (F4)**

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F4 entre perros y gatos sanos ( $p$ -valor=0.01), siendo los valores de la F4 de los gatos era superior que la de los perros (Ilustración 17).

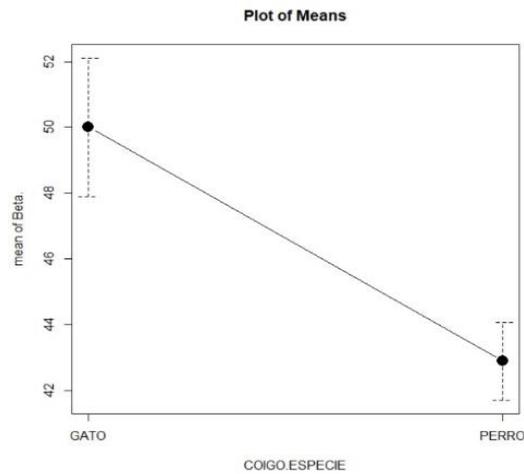
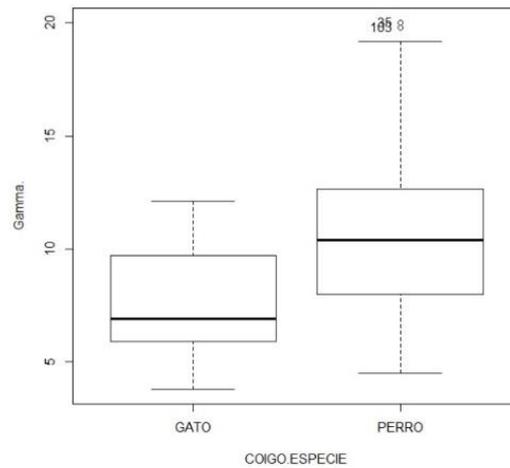


Ilustración 17. Gráfico de medias para la fracción 4 (F4) del proteinograma urinario comparando el grupo de gatos sanos con el grupo de perros sanos

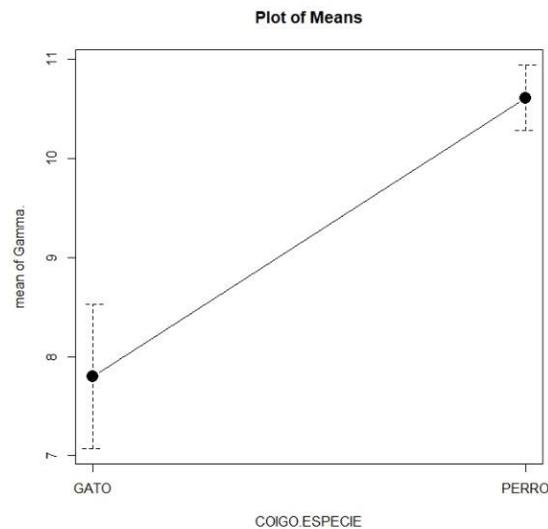
#### Fracción 5 (F5) gammaglobulinas

La normalidad de la F5 se evaluó con el test Anderson-Darling. En la población de gatos sanos se aceptó la normalidad ( $p=0.31$ ), en cambio en los perros sanos no se aceptó la normalidad, eliminándose seis valores mediante las gráficas box-plot, finalmente se aceptó la normalidad tras eliminar estos valores que se consideraron aberrantes ( $p=0.05$ ) (Ilustración 18). Una vez se cumplió la normalidad, se realizó el test ANOVA de una vía.



**Ilustración 18. Diagrama de cajas de la población de gatos y perros sanos para la fracción 5 (F5)**

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F5 entre perros y gatos sanos ( $p$ -valor=0.00), detectando que la F5 de los gatos era inferior que la de los perros (Ilustración 19).



**Ilustración 19. Gráfico de medias para la fracción 5 (F5) del proteinograma urinario comparando el grupo de gatos sanos con el grupo de perros sanos**

Como resumen, tras el análisis de cada una de las fracciones, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas para las fracciones F1 y F3, pero sí para las fracciones F2, F4 y F5. Las

fracciones F2 y F5 fueron menores en el grupo de los gatos respecto a los perros, mientras que la F4 se encontró aumentada en el grupo de los gatos respecto a los perros-(Tabla 1).

**Tabla 1. Comparativa Mediante ANOVA de las diferentes fracciones de la electroforesis capilar urinaria entre el grupo de gatos sanos y perros sanos**

Analito	n	Factor	Media	SD	p-valor
F1	13	Gato	27.18	5.62	0.43
	123	Perro	28.77	14.10	
F2	14	Gato	5.14	2.13	0.00*
	121	Perro	8.22	2.90	
F3	14	Gato	8.16	3.08	0.89
	121	Perro	8.26	2.66	
F4	12	Gato	50.00	7.27	0.01*
	123	Perro	42.89	13.02	
F5	14	Gato	7.80	2.71	0.00*
	117	Perro	10.61	3.55	

SD desviación estándar. \* significancia de p-valor <0.05

### 5.1.3 COMPARACIÓN DE LAS FRACCIONES SÉRICAS Y URINARIAS DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR EN GATOS SANOS

Se realizó una comparación entre las distintas fracciones del foretograma de suero y orina realizados mediante electroforesis capilar de los gatos del estudio anterior (n=12). Para este estudio se descartaron dos animales debido a la pérdida de información de sus foretogramas séricos. Se valoró mediante regresión lineal si existía una correlación entre las diferentes fracciones de ambas muestras biológicas.

### Fracción 1 (F1) Albúmina

La normalidad de la F1 se evaluó con el test Anderson-Darling, se aceptó la normalidad tanto en suero ( $p=0.67$ ) como en orina ( $p=0.68$ ). Tras cumplir la normalidad, se realizó el estudio estadístico de regresión lineal. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F1 entre el suero y la orina de los gatos sanos ( $p$ -valor= 0.28), por lo que no hay relación lineal entre estos parámetros (Ilustración 20).

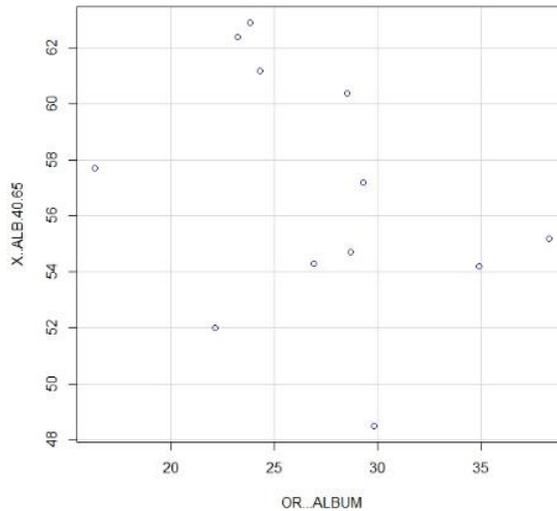


Ilustración 20. Gráfico de dispersión de puntos para la fracción 1 (F1) del proteinograma urinario y sérico de gatos sanos

### Fracción 2 (F2) alfa<sub>1</sub>-globulinas

La normalidad de la F2 se evaluó con el test Anderson-Darling, aceptándose la normalidad tanto en suero ( $p=0.57$ ) como en orina ( $p=0.08$ ). Tras cumplir la normalidad, se realizó el estudio estadístico de regresión lineal. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F2 entre el suero y la orina de los gatos sanos ( $p$ -valor= 0.28), por lo que no hay relación lineal entre estos parámetros (Ilustración 21).

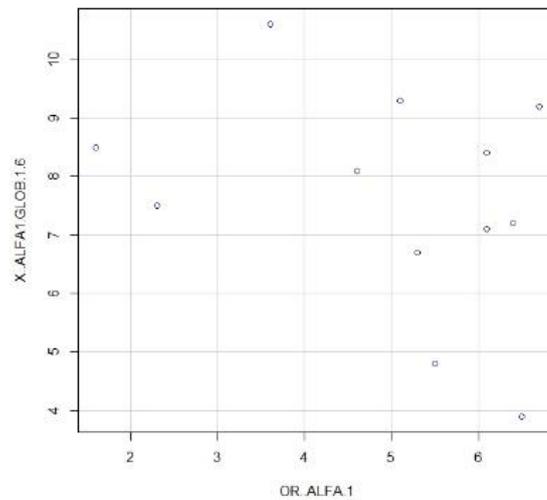


Ilustración 21. Gráfico de dispersión de puntos para la fracción 2 (F2) del proteinograma urinario y sérico de gatos sanos

### Fracción 3 (F3) alfa<sub>2</sub>-globulinas

La normalidad de la F3 se evaluó con el test Anderson-Darling y se aceptó la normalidad, tanto en suero ( $p=0.24$ ) como en orina ( $p=0.42$ ). Tras cumplir la normalidad, se realizó el estudio estadístico de regresión lineal. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F3 entre el suero y la orina de los gatos sanos ( $p$ -valor= 0.45), por lo que no hay relación lineal entre estos parámetros (Ilustración 22).

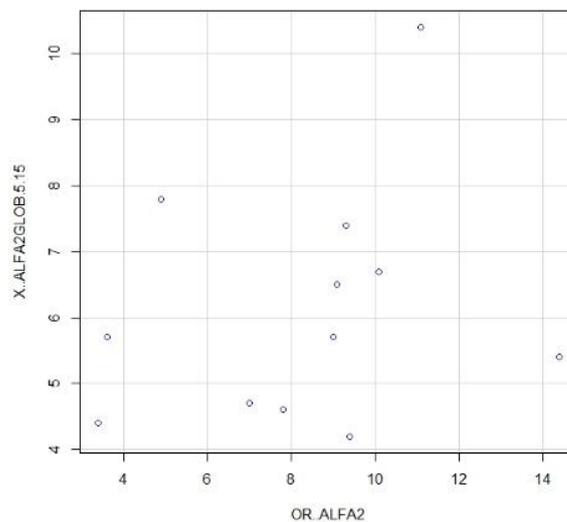


Ilustración 22. Gráfico de dispersión de puntos para la fracción 3 (F3) del proteinograma urinario y sérico de gatos sanos

#### Fracción 4 (F4) betaglobulinas

La normalidad de la F4 se evaluó con el test Chi cuadrado de Pearson y se aceptó la normalidad tanto en suero ( $p=0.08$ ), como en la orina ( $p=0.17$ ).

En el estudio estadístico de regresión lineal, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F4 entre el suero y la orina de los gatos sanos ( $p\text{-valor}= 0.28$ ), por lo que no hay relación lineal (Ilustración 23).

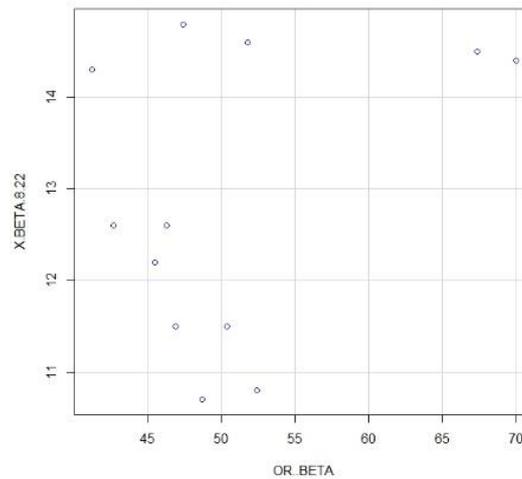
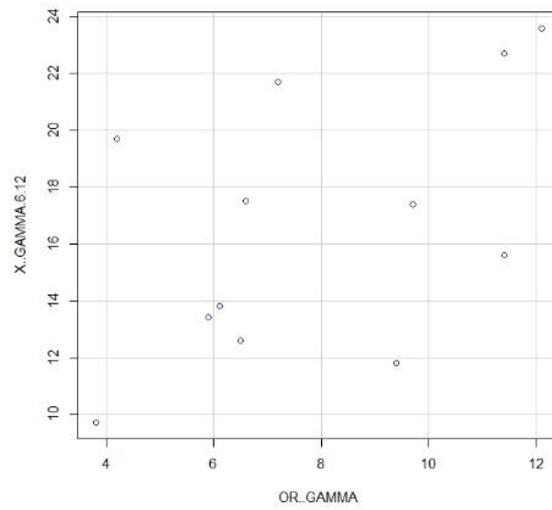


Ilustración 23. Gráfico de dispersión de puntos para la fracción 4 (F4) del proteinograma urinario y sérico de gatos sanos

#### Fracción 5 (F5) gammaglobulinas

La normalidad de la F5 se evaluó con el test Anderson-Darling, se aceptó la normalidad tanto en suero ( $p=0.69$ ) como en orina ( $p=0.30$ ). Tras cumplir con la normalidad, se realizó el estudio estadístico de regresión lineal. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la F5 entre el suero y la orina de los gatos sanos ( $p\text{-valor}= 0.10$ ), por lo que no hay relación lineal entre ambos parámetros (Ilustración 24).



**Ilustración 24. Gráfico de dispersión de puntos para la fracción 5 (F5) del proteinograma urinario y sérico de gatos sanos**

Como resumen, tras el análisis de cada una de las fracciones en suero y orina de gatos sanos, no se detectó correlación en ninguna de las fracciones de los foretogramas de un mismo individuo.

## 6 DISCUSIÓN

La electroforesis es una técnica analítica que está cobrando auge para la valoración de proteínas tanto séricas como urinarias, considerándose en algunos estudios como una herramienta diagnóstica útil para el diagnóstico y monitorización de distintos tipos de patologías, entre ellas patologías de origen renal asociadas a proteinuria. La técnica más usada para el estudio de patologías asociadas a enfermedades renales, tanto en medicina humana como en veterinaria ha sido la electroforesis en agarosa con dodecilsulfato, presentando una alta sensibilidad en el diagnóstico, al detectar proteínas con masa molecular de 9kd a 900kDa (Chacar et al., 2017; Zini et al., 2004).

Se han realizado diversos estudios sobre el uso de la electroforesis para la identificación de los diferentes patrones de migración de proteínas urinarias, como herramientas en el diagnóstico de enfermedad renal crónica en medicina veterinaria. Los métodos electroforéticos usados en estos estudios fueron la electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y la electroforesis de alta resolución. El estudio de Pelander y colaboradores en 2019 sobre la identificación de biomarcadores renales mediante el uso de electroforesis capilar asociada a espectrofotometría de masas, demostró la existencia de 133 péptidos distintos en perros sanos respecto a perros con enfermedad renal crónica. El estudio de Zaragoza y colaboradores en 2003 utilizó la electroforesis en gel SDS-PAGE para la valoración de proteinuria en la leishmaniosis canina, demostrando que los perros que padecían esta enfermedad presentaban bandas en los rangos 40-60 kDa, 80-90 kDa y 110-150 kDa, siendo estas bandas ausentes en el grupo control de individuos sanos (Pelander et al., 2019; Zaragoza et al., 2003). En otros estudios en los que se empleó la electroforesis en gel SDS-PAGE con muestras urinarias, se detectó que en la especie canina, la proteína Tamm-Horsfall estaba disminuida en individuos con azotemia y proteinuria, siendo los resultados estadísticamente significativos y reflejando su relevancia como posible biomarcador urinario (Chacar et al., 2017; Raila et al., 2014). Otro trabajo se centró en el análisis de la proteína de unión a la vitamina D y la proteína de unión al retinol en perros, donde se observó un incremento de estas proteínas en individuos con lesiones en los túbulos renales proximales (Chacar et al., 2017; Zini et al., 2004).

La nefrona de individuos sanos tiene una permeabilidad selectiva en los glomérulos y se produce cierta reabsorción a nivel de los túbulos proximales. La orina de un animal sano no contiene proteínas o contiene muy poca cantidad de ellas, permitiendo solamente el paso de proteínas de bajo peso molecular <40kDa por el glomérulo, mientras que el resto de las proteínas con mayor peso molecular tienen el paso restringido. El ratio de proteína creatinina urinaria (UPC), no permite valorar que parte de la nefrona está afectada, para valorar esto existen otros métodos diagnósticos como la biopsia renal que permiten diferenciar las lesiones tubulares y glomerulares, teniendo como desventaja que es una prueba diagnóstica invasiva y puede producir complicaciones en el paciente. Las complicaciones descritas tras la

realización de esta prueba diagnóstica son el riesgo de infección o hemorragia, además del riesgo de hipotensión y empeoramiento de la función renal derivados de la anestesia, así como su alto coste económico. En el estudio de Hokamp y colaboradores en 2018 evaluaron el origen de la lesión renal y proteinuria asociando técnicas de electroforesis a otras pruebas como la biopsia renal (Hokamp et al., 2018; Schultze y Jensen, 1989).

En cuanto al uso de la electroforesis capilar urinaria en animales, Navarro y colaboradores en 2021, establecieron intervalos de referencia en la orina de perros sanos e identificaron las diferencias existentes entre los proteinogramas urinarios de perros sanos y enfermos renales por causas infecciosas asociadas a *Leishmania infantum* y causas no infecciosas. Con este trabajo se validó el uso de esta técnica como una nueva herramienta diagnóstica, teniendo posibles usos de diagnóstico precoz de enfermedad renal y control de proteinuria en animales con patología renal asociada a proteinuria. En la electroforesis capilar urinaria no se pueden identificar las proteínas existentes en cada fracción del foretograma urinario, como ocurre en la electroforesis en gel o en técnicas como la electroforesis capilar asociada a espectrofotometría de masas (Giordano y Paltrinieri, 2010; Navarro et al., 2021; Pelander et al., 2019).

## 6.1 ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA COMPARATIVA GATOS Y PERROS SANOS

En el presente estudio tras el análisis de cada una de las fracciones del foretograma urinario de gatos y perros, no se han hallado diferencias estadísticamente significativas para las fracciones F1 (albúmina) y F3 (alfa<sub>2</sub>-globulinas), pero sí para las fracciones F2 (alfa<sub>1</sub>-globulinas), F4 (beta-globulinas) y F5 (gammaglobulinas). En las fracciones F2 (alfa<sub>1</sub>-globulinas) y F5 (gammaglobulinas) se evidenció una disminución en el grupo de los gatos respecto a los perros, mientras que, en la F4 (beta-globulinas) se encontró aumentada en el grupo de los gatos respecto a los perros.

La F1 (albúmina), no resultó ser estadísticamente significativa, esto puede deberse a que la población de estudio, en el caso de los felinos era muy pequeña, siendo necesario ampliar el número de individuos de este grupo para valorar si pudiesen existir diferencias significativas. Observando la gráfica de medias se detectó una tendencia a la baja en la fracción de los gatos respecto a los perros. Este resultado puede deberse a que en los gatos se detecta habitualmente valores de proteinuria más bajos que en los perros, aunque se ha de tener en cuenta que en este estudio ambos grupos eran de individuos sanos. En un estudio anterior realizado con electroforesis de alta resolución se detectaron rangos de albúmina urinaria en gatos sanos con concentraciones muy bajas, esto podría explicar los resultados obtenidos en nuestro trabajo (Ferlizza et al., 2017).

La F2 (alfa<sub>1</sub>-globulinas) resultó ser estadísticamente significativa, proporcionando valores menores en gatos que en perros. En otros trabajos se ha detectado que la F2 es una fracción en la que se excretan proteínas de tipo antiinflamatorio y se detectan marcadores de lesión tubular, por lo que el hecho de estar más disminuida en el grupo de los gatos podría indicar que los gatos excretan pocas proteínas antiinflamatorias y/o proteínas asociadas a lesión tubular. En otros estudios se ha vinculado una disminución en esta fracción con el uso de algunos tratamientos que activan el sistema inmunitario provocando una elevación de proteínas séricas, como es el uso de vacunas (Navarro et al., 2021; Pereira et al., 2019).

La F3 (alfa<sub>2</sub>-globulinas) no resultó ser estadísticamente significativa, esto puede deberse a que la población de estudio de los gatos era pequeña, siendo necesario un grupo de estudio más amplio para detectar posibles diferencias estadísticas. Respecto a esta fracción, no existen estudios en felinos que informen de su excreción en orina, en individuos sanos ni enfermos. En cambio, en suero se ha visto que esta fracción aumenta en ciertas enfermedades inflamatorias o en daño renal, y el hecho de estar más disminuida en el grupo de gatos que en los perros en el presente estudio, se podría asociar a que los gatos excretan menor cantidad de proteínas inflamatorias. Del mismo modo, al igual que se ha indicado previamente en la F2 (alfa<sub>1</sub>-globulinas), una disminución en esta fracción puede deberse a la administración de tratamientos médicos preventivos como es el uso de profilaxis vacunal (Navarro et al., 2021; Pereira et al., 2019; Yalcin et al., 2004).

La F4 (beta-globulinas) resultó ser estadísticamente significativa, proporcionando valores aumentados en gatos respecto al grupo de perros. Según estudios preliminares, sobre biomarcadores renales en medicina humana, se observó que la proteína Tamm-Horsfall o uromodulina, se excreta habitualmente en individuos sanos, debido a que posee propiedades de defensa frente infecciones del tracto urinario inferior. Cabe la posibilidad que esta fracción de proteína se excrete en mayor proporción en la especie felina, teniendo un efecto protector, y por eso los gatos tengan menor grado de proteinuria que los perros. En el estudio de Navarro de 2021, donde se compararon foretogramas urinarios de perros sanos y perros con enfermedad renal, se encontró una disminución de la F4 en perros enfermos respecto a los sanos, apoyando la hipótesis de que la F4 esté aumentada cuando los individuos son sanos y no proteinuricos. Además, Ferlizza (2017) mediante la técnica electroforesis de alta resolución, observó que una de las proteínas mayoritarias en la orina de los gatos sanos era la uromodulina (Chacar et al., 2017; Ferlizza et al., 2017; Navarro et al., 2021).

La F5 (gammaglobulinas) resultó ser estadísticamente significativa, proporcionando valores menores en gatos que en perros. La fracción F5 aumenta en suero en procesos inflamatorios crónicos, en la especie felina se ha documentado aumentos en esta fracción asociado a peritonitis infecciosa felina o enfermedades como gingivoestomatitis crónica felina, además puede estar aumentada en estados hipoalbuminémicos. Los valores menores en gatos respecto a perros en esta fracción, puede deberse a

que en los gatos se detectan valores de UPC más bajos que en los perros, a pesar de que en este estudio ambos grupos de individuos fueron sanos. No obstante, existen pocos estudios que indiquen qué proteínas son excretadas a nivel urinario en las distintas fracciones del electroforetograma y en consecuencia no se puede asegurar porque es menor la excreción en gatos sanos frente a perros sanos. Sin embargo, existen diversos estudios que indican que la cantidad total de proteínas excretadas en la especie felina es menor que en la especie canina (Gallego, 2020; López et al., 2021; Navarro et al., 2021).

## 6.2 ELECTROFORESIS CAPILAR URINARIA COMPARATIVA SUERO Y ORINA DE GATOS SANOS

Como última parte del estudio se realizó una comparativa entre las fracciones del proteinograma sérico y urinario en la especie felina. Tras el análisis de cada una de las fracciones no se hallaron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las fracciones estudiadas. Estos resultados señalan que no existe una relación entre un aumento o una disminución de las fracciones en el suero, reflejándose en las correspondientes fracciones urinarias. A pesar de estos resultados, cabe recalcar que la población de individuos felinos analizada era escasa, pero en estudios anteriores, como el de Navarro en 2021, se realizó una comparativa entre el proteinograma sérico y el urinario de la especie canina, donde se vio cierta similitud entre los resultados que se han obtenido en este trabajo con la especie felina. Por lo que, tanto en este estudio comparativo, como en estudios anteriores, las variaciones de las fracciones en el suero no corresponden a las mismas variaciones en orina a nivel individual (Navarro et al., 2021).

## 7 CONCLUSIONES

De la realización de este estudio podemos destacar las siguientes conclusiones:

Se valida de la técnica de electroforesis capilar urinaria en la especie felina como método diagnóstico, y es posible realizarla junto a otras técnicas diagnósticas para poder identificar patrones electroforéticos urinarios.

1. La implementación de la técnica de electroforesis capilar urinaria en la especie felina es posible como un nuevo método diagnóstico, siendo necesarios estudios adicionales para determinar la diferencia de valores entre animales sanos y enfermos de la especie felina.
2. La comparativa de los proteinogramas urinarios entre animales sanos de la especie felina y canina presentan diferencias estadísticamente significativas en las fracciones F2 (alfa<sub>1</sub>-globulinas), F4 (beta-globulinas) y F5 (gammaglobulinas). Encontrándose disminuidas la F2 y F5 en el grupo de gatos respecto a los perros, lo que podría asociarse con que en los gatos se detectan valores de UPC más bajos que en los perros. En cuanto al aumento en la F4 de los gatos frente a los perros, se puede asociar a una mayor excreción de uromodulina en gatos, la cual presenta efecto protector a nivel urinario.
3. Los cambios en el proteinograma sérico de los felinos no tienen relación con un aumento o disminución de un proteinograma urinario del mismo individuo en ninguna de las fracciones del foretograma.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

1. Castagnino, J. M. (1997). Electroforesis capilar. *Bioquímica*, 25 (1), 13-32.
2. Chacar, F., Kogika, M., Sanches, T. R., Caragelasco, D., Martorelli, C., Rodrigues, C., Capcha, J. M. C., Chew, D., & Andrade, L. (2017). Urinary Tamm-Horsfall protein, albumin, vitamin D-binding protein, and retinol-binding protein as early biomarkers of chronic kidney disease in dogs. *Physiological Reports*, 5(11). <https://doi.org/10.14814/phy2.13262>
3. Counotte, G. (2010). Electrophoretic techniques: The old and the new. *Veterinary Clinical Pathology* 39 (4), 399–400. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2010.00279.x>
4. Doroteo, M. C. (2012). Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos. *Investigación En Discapacidad*, 1(2), 86–89.
5. Ferlizza, E., Dondi, F., Andreani, G., Bucci, D., Archer, J., & Isani, G. (2017). Validation of an electrophoretic method to detect albuminuria in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(8), 860–868. <https://doi.org/10.1177/1098612X16664112>
6. Gallego-Jiménez, I. (2020). *Electroforesis, tipos y usos en medicina veterinaria y medicina humana*. [Trabajo de fin de grado]. Universidad Católica de Valencia.
7. García, H. M. (2000). Electroforesis en geles de poliacrilamida : fundamentos , actualidad e importancia. *Univ Diag*, 1(2), 31–41.
8. Giordano, A., & Paltrinieri, S. (2010). Interpretation of capillary zone electrophoresis compared with cellulose acetate and agarose gel electrophoresis: Reference intervals and diagnostic efficiency in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(4), 464–473. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2010.00255.x>
9. Hokamp, J. A., Leidy, S. A., Gaynanova, I., Cianciolo, R. E., & Nabity, M. B. (2018). Correlation of electrophoretic urine protein banding patterns with severity of renal damage in dogs with proteinuric chronic kidney disease. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(3), 425–434. <https://doi.org/10.1111/vcp.12648>
10. Jellum, E., Dollekamp, H., & Blessum, C. (1996). Capillary electrophoresis for clinical problem solving: analysis of urinary diagnostic metabolites and serum proteins. *Journal of Chromatography B: Biomedical Applications*, 683. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(96\)00132-6](https://doi.org/10.1016/0378-4347(96)00132-6)
11. Kohn, J. (1957). A cellulose acetate supporting medium for zone electrophoresis. *Clinica chimica acta; International journal of clinical chemistry*, 2(4), 297–303. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(57\)90005-0](https://doi.org/10.1016/0009-8981(57)90005-0)
12. López, M. C., Aybar, V., Zatelli, A., Vila, A., Vega, J. J., Hernando, E., Jiménez, A., & Roura, X. (2021). Is proteinuria a rare condition in apparently healthy and sick cats? A feline practice experience (2007–2018). *Open Veterinary Journal*, 11(3), 508–516. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2021.v11.i3.24>

13. Mischak, H., Delles, C., Klein, J., & Schanstra, J. P. (2010). Urinary Proteomics Based on Capillary Electrophoresis-Coupled Mass Spectrometry in Kidney Disease: Discovery and Validation of Biomarkers, and Clinical Application. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 17(6), 493–506. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2010.09.004>
14. Navarro, P., Gil, L., Martín, G., & Fernández-Barredo, S. (2021). Reference intervals for electrophoretograms obtained by capillary electrophoresis of dialyzed urine from healthy dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 33(4), 632–639. <https://doi.org/10.1177/10406387211020117>
15. Navarro, P., Gil, L., Fernández-Barredo, S. (2021). Estandarización, Validación y Establecimiento de Valores de Referencia en Electroforesis Capilar Urinaria en Perros Sanos. Comparativa con Enfermos Renales. [Tesis de doctorado]. Universidad Católica de Valencia.
16. Osatinsky, R. (2007). ¿Qué es la electroforesis capilar? *Bioquímica y Patología Clínica*, 71(2), 60–66.
17. Pelander, L., Brunchault, V., Buffin-Meyer, B., Klein, J., Breuil, B., Züribig, P., Magalhães, P., Mullen, W., Elliott, J., Syme, H., Schanstra, J. P., Häggström, J., & Ljungvall, I. (2019). Urinary peptidome analyses for the diagnosis of chronic kidney disease in dogs. *Veterinary Journal*, 249, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.05.010>
18. Pereira, M., Valério-Bolas, A., Saraiva-Marques, C., Alexandre-Pires, G., da Fonseca, I. P., & Santos-Gomes, G. (2019). Development of dog immune system: From in uterus to elderly. *Veterinary Sciences*, 6(4). <https://doi.org/10.3390/vetsci6040083>
19. Raila, J., Schweigert, F. J., & Kohn, B. (2014). Relationship between urinary Tamm-Horsfall protein excretion and renal function in dogs with naturally occurring renal disease. *Veterinary Clinical Pathology*, 43(2), 261–265. <https://doi.org/10.1111/vcp.12143>
20. Schultze, A. E., & Jensen, R. K. (1998). Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis of canine urinary proteins for the analysis and differentiation of tubular and glomerular diseases. *Veterinary clinical pathology*, 18(4), 93–97. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.1989.tb00527.x>
21. Théron, M., Piane, L., Lucarelli, L., Henrion, R., Layssol-Lamour, C., Palanché, F., Concordet, D., Braun, J. D., Trumel, C., & Lavoué, R. (2017). Effects of storage conditions on results for quantitative and qualitative evaluation of proteins in canine urine. *American Journal of Veterinary Research*, 78(8), 990–999. <https://doi.org/10.2460/ajvr.78.8.990>
22. Voeten, R. L. C., Ventouri, I. K., Haselberg, R., & Somsen, G. W. (2018). Capillary Electrophoresis: Trends and Recent Advances. *Analytical Chemistry*, 90(3), 1464–1481 <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00015>
23. Yalçın, A., Çetin, M. and Cetin, M. (2004). Electrophoretic Separation of Urine Proteins of Healthy Dogs and Dogs with Nephropathy and Detection of Some Urine Proteins of Dogs Using Immunoblotting. *Revue Méd. Vét.*, 155(2), 104–112.

24. Zaragoza, C., Barrera, R., Centeno, F., Tapia, J. A., Durán, E., González, M., & Cinta Mañé, M. (2003). SDS-PAGE and Western blot of urinary proteins in dogs with leishmaniasis. *Veterinary Research*, 34(2), 137–151. <https://doi.org/10.1051/vetres:2002061>
25. Zini, E., Bonfanti, U. and Zatelli, A. (2004). Diagnostic relevance of qualitative proteinuria evaluated by use of sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis and comparison with renal histologic findings in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 65(7), 964–971. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.964>

