

Importanza diagnostica e limiti della valutazione della beta 2-microglobulin urinaria

S. David

Reparto emodialisi, USL 4 - Ospedali Riuniti di Parma

La beta 2-microglobulina (B2-m) è una proteina del peso di 11.800 daltons, costituita da una sequenza di 100 aminoacidi, isolata per la prima volta da Berggard e Bearn nel 1986. Presenta un'analogia strutturale con le immunoglobuline, ed in particolare con una porzione delle IgG definita regione costante. Si trova nel siero degli individui normali e, in concentrazioni variabili, in tutti i liquidi biologici, ma la quota maggiore è localizzata sulla superficie cellulare. Tutte le cellule nucleate e le piastrine presentano sulla superficie esterna della membrana citoplasmatica molecole di B2-m, quali costituenti di strutture antigeniche più complesse, corrispondenti agli antigeni di classe I del sistema maggiore di istocompatibilità. Tali antigeni, coinvolti nella regolazione della risposta immunitaria, sono

formati da una catena pesante detta alfa, situata in parte all'interno del citoplasma ed in parte all'esterno, e da una catena beta, esterna al citoplasma, che si identifica con la B2-m (Fig. 1). Nel normale turnover metabolico del complesso antigenico di cui essa fa parte, viene liberata dalle superfici cellulari ("shedding") e passa nei fluidi extracellulari e nel plasma, ove è possibile dosarla. La produzione giornaliera di B2-m è relativamente costante nell'individuo sano e corrisponde a 1.5 - 4 mg/kg di peso corporeo. Il catabolismo della proteina avviene quasi esclusivamente nel parenchima renale, e solo per l'1% in sedi diverse (1) Per le sue dimensioni relativamente piccole, la B2-m viene filtrata attraverso la membrana glomerulare, a differenza di altre proteine più voluminose come l'albumina (peso molecolare

69.000) che attraversano la membrana solo in minima parte. La concentrazione di B2-m nella preurina è infatti molto simile a quella plasmatica, essendo il rapporto concentrazione nella preurina/concentrazione plasmatica ("sieving coefficient") vicino all'unità, più precisamente 0.75 nell'uomo e 0.87 nel ratto (2, 3). Tuttavia nell'urina definitiva la concentrazione di B2-m è molto bassa, poiché la quota filtrata viene riassorbita per il 99.9% dal tubulo prossimale. Il riassorbimento avviene in seguito ad un legame di natura elettrostatica con un recettore situato sulla superficie della cellula tubulare (2). La proteina viene quindi inglobata nel citoplasma con un processo di endocitosi e completamente scissa in aminoacidi a livello lisosomiale. Sembra inoltre che una piccola quota di B2-m possa essere diretta-

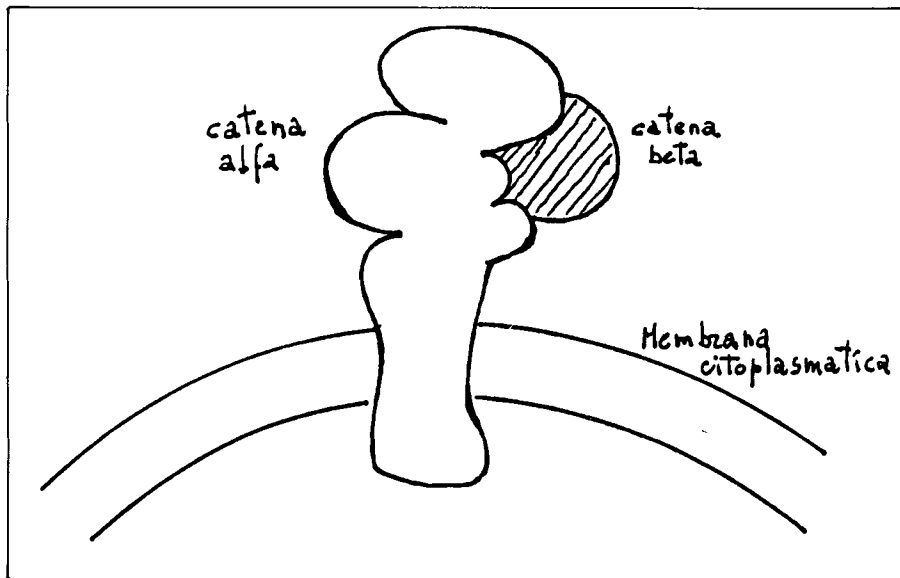


Fig. 1 - La B2-m si identifica con la catena beta degli antigeni di classe I del sistema maggiore di istocompatibilità.

mente assorbita dal sangue che scorre nei capillari tubulari e sia poi sottoposta allo stesso processo catabolico.

La B2-m nel plasma

Le concentrazioni plasmatiche di B2-m sono abbastanza stabili nell'individuo normale, in quanto risultano dall'equilibrio tra produzione cellulare e catabolismo renale, ed oscillano tra 1.6 e 3 mg/L (1). Sono più elevate alla nascita, diminuiscono progressivamente fino all'età adulta, dove raggiungono i valori minimi, ed aumentano ancora nell'anziano, nell'ambito dei limiti indicati. Un aumento delle concentrazioni plasmatiche al di sopra dei limiti della norma è determinato da condizioni patologiche che causano un'aumentata produzione o un ridotto catabolismo della proteina. La sintesi di B2-m è aumentata in tutte le condizioni di elevato turn-over cellulare, ed in

particolare nelle malattie linfoproliferative, come la leucosi linfatica cronica, il mieloma multiplo, ecc., dove i livelli plasmatici possono raggiungere i 10 mg/L. Nelle neoplasie solide è solo moderatamente aumentata. Si ritiene pertanto che l'incremento di produzione non sia solo l'espressione di un elevato turnover cellulare, ma anche della proliferazione cellulare associata alla reazione immunitaria secondaria al processo neoplastico, ed in particolare alla proliferazione delle cellule linfoidi (1). Concentrazioni elevate per aumentata sintesi si riscontrano anche in alcune malattie infiammatorie croniche quali il LES, l'artrite reumatoide, la sindrome di Sjögren, l'epatite cronica attiva, ed in altre patologie quali la cirrosi, le sindromi da immunodeficienza, le infezioni virali epatiche e le setticemie (1, 4). La seconda causa di aumento delle concentrazioni plasmatiche è rappresentata dal ridotto catabolismo renale. Questo si verifica in tutte le nefropatie che

determinano una compromissione della filtrazione glomerulare. La B2-m aumenta nel plasma in relazione inversa alla riduzione del volume del filtrato glomerulare, e poiché questa relazione è lineare, la proteina può essere correttamente considerata come marker per la valutazione indiretta del filtrato glomerulare. Rispetto alla creatinemia, più usata nella pratica clinica, la B2-m è un indice più affidabile, in quanto più specifico e sensibile (1). Infatti, la creatinemia varia in base al sesso e allo sviluppo delle masse muscolari e subisce variazioni nell'arco delle 24 ore, soprattutto in relazione al carico di proteine assunte col pasto. La creatinina è inoltre eliminata dal rene non solo per filtrazione glomerulare, ma anche per secrezione tubulare, per cui le concentrazioni plasmatiche non riflettono esattamente l'entità della variazione del filtrato glomerulare, specie quando questo è notevolmente ridotto. La B2-m è anche più sensibile della creatinina, in quanto aumenta in seguito ad iniziali compromissioni del filtrato glomerulare, che non determinano ancora un aumento della creatinemia.

La B2-m nelle urine

Benché quasi tutta la B2-m contenuta nel plasma venga filtrata dal glomerulo, le concentrazioni urinarie normali non superano i 370 µg/die (0.37 mg), a causa del riassorbimento tubulare pressoché completo (5). Concentrazioni urinarie più elevate si riscontrano in condizioni patologiche caratterizzate da un insufficiente catabolismo tubulare della quota di B2-m filtrata. Di conseguenza il dosaggio della B2-m urinaria può fornire utili indicazioni per la diagnosi di al-

cune nefropatie. Le urine normali contengono piccole quantità di proteine, non evidenziate dai comuni esami di laboratorio, di cui l'albumina è il costituente principale. Questa proteina, per il suo elevato peso molecolare, viene trattenuta dalla membrana glomerulare e solo in minima percentuale è ultrafiltrata dal glomerulo, per di più una parte della quota filtrata viene riassorbita dalle cellule tubulari. Nonostante tutto ciò la quota ultrafiltrata, pur percentualmente molto bassa, è in valore assoluto, più elevata di quella di altre proteine, poiché l'albumina è la proteina plasmatica più abbondante (la concentrazione plasmatica è circa 3.000 volte maggiore di quella della B2-m). Nel corso di molte nefropatie può comparire una proteinuria patologica, non solo in termini quantitativi, ma in certi casi anche qualitativi, cioè con alterazione dei normali rapporti tra le varie proteine escrete. Il rapporto tra l'albumina e la B2-m è di circa 50 nelle urine normali (6). Quando questo rapporto si riduce per la presenza nelle urine di una quota elevata di B2-m con albuminuria pressoché normale, si configura il quadro di proteinuria "tubulare" (1, 6). Questo termine indica che è aumentata soprattutto la concentrazione urinaria di proteine a basso peso molecolare, di cui la B2-m è un marker. Poiché queste proteine vengono liberamente filtrate dal glomerulo normale e riassorbite dal tubulo, il loro aumento nelle urine è espressione di un danno tubulare, che impedisce il riassorbimento di proteine normalmente filtrate. Quando invece la proteinuria patologica è caratterizzata da un aumento prevalente di albumina (e/o di proteine di peso molecolare ancora maggiore), questa è espressione di una

alterazione della permeabilità della membrana glomerulare, dal momento che l'albumina è ultrafiltrata in minime quantità dai glomeruli normali e solo un aumento della quota filtrata può giustificare un incremento della sua concentrazione urinaria. Questo tipo di proteinuria viene definito "glomerulare" (Fig. 2).

Il dosaggio della B2-m urinaria rappresenta quindi un importante test per la valutazione di un danno tubulare renale. La disponibilità di metodiche precise ed affidabili, quali i test Elisa o Ria, già forniti in kit, rendono questo dosaggio alla portata di tutti i laboratori.

Una ricca letteratura riporta valori elevati di escrezione urinaria di B2-m in numerose nefropatie caratterizzate da prevalente danno tubulare, ed in particolare del tubulo prossimale, sede in cui la B2-m viene catabolizzata: sindrome di Fanconi, nefropatia dei Balcani, nefropatie tubulo-interstiziali da farmaci, quali aminoglicosidi ed analgesici, nefropatie da intossicazioni da metalli quali il cadmio (il dosaggio della B2-m viene eseguito in medicina preventiva nei lavoratori esposti) (1, 4).

Nelle nefropatie di questo tipo si possono riscontrare concentrazioni urinarie superiori ai 100 mg/L, mentre in altre nefropatie con prevalente compromissione glomerulare non si superano i 9.4 mg/L (4). È interessante osservare che un'escrezione patologica di B2-m può essere riscontrata anche in urine con proteinuria quantitativamente non dosabile con i comuni esami di laboratorio (< 150 mg/die), dal momento che l'escrezione di B2-m è già espressione di un danno tubulare a valori di pochi mg/die, che incidono in modo irrilevante sulla proteinuria totale.

La B2-m urinaria in alcune patologie particolari

A parte l'intossicazione da metalli (cadmio), in cui l'aumento di escrezione della B2-m può indicare un iniziale tossicità renale, il dosaggio della B2-m nelle urine è stato proposto per identificare un coinvolgimento nefro-parenchimale ("pielonefrite") nel corso di infezioni del tratto urinario. Il test, pur essendo valido in termini epidemiologici, non sembra rivestire un particolare significato diagnostico nel caso singolo, per la notevole variabilità dei risultati (7). Nel paziente diabetico l'escrezione di B2-m è normale, anche quando compare microalbuminuria. Aumenta quando si riduce il filtrato glomerulare e può quindi identificare una condizione di irreversibilità del danno renale, non più sensibile al ripristino di un adeguato controllo glicemico (8). Nei pazienti sottoposti a trapianto renale, un aumento della concentrazione urinaria di B2-m si manifesta già nelle fasi iniziali di rigetto acuto e può precedere l'aumento della creatinemia (1). Tuttavia l'utilità del dosaggio urinario estemporaneo sarebbe limitata, in quanto più che i valori assoluti sembrano rivestire importanza clinica gli incrementi di concentrazione. Infatti nei pazienti trapiantati, specie se trattati con ciclosporina, le concentrazioni urinarie possono essere di base elevate (9).

Raccolta dei campioni urinari

Il dosaggio della B2-m può essere eseguito su un campione delle 24 ore o su un campione urinario di un periodo più limitato. L'opportunità di limitare il periodo di raccolta delle urine corrisponde a precise

Fig 2 - MECCANISMI DELLA PROTEINURIA

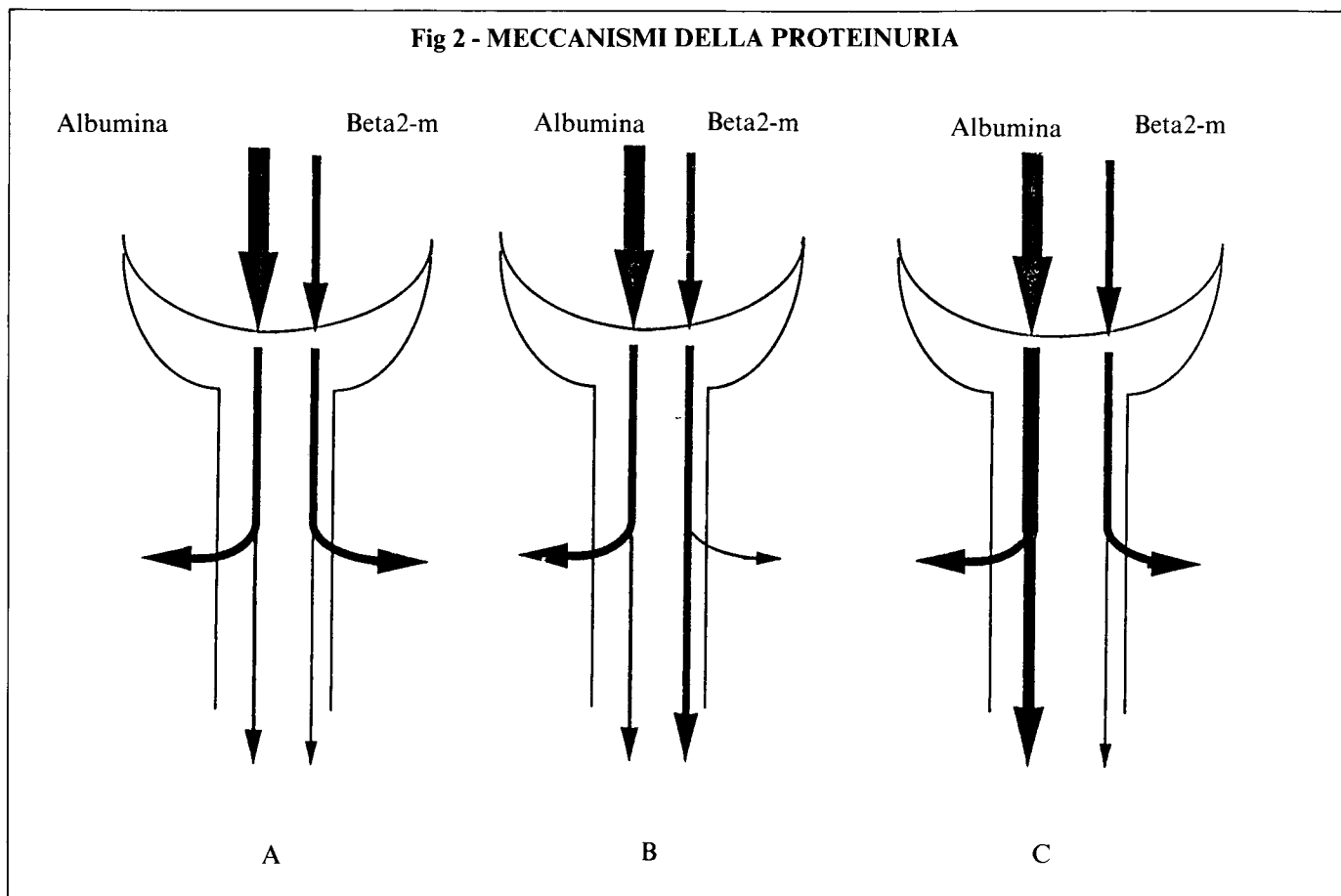


Fig 2 - Meccanismi della proteinuria.

A - Proteinuria fisiologica.

Nel glomerulo vengono ultrafiltrate solo piccole quantità di albumina, in quanto la proteina non attraversa facilmente la membrana glomerulare a causa del suo elevato peso molecolare. La quota ultrafiltrata è in parte riassorbita dal tubulo prossimale, e pertanto nelle urine se ne riscontrano solo minime concentrazioni. La B2-m è ultrafiltrata quasi totalmente attraverso la membrana glomerulare, perché il suo peso molecolare è molto più basso di quello dell'albumina. La quota ultrafiltrata è riassorbita dal tubulo e le concentrazioni urinarie residue sono molto basse.

B - Proteinuria tubulare.

Poiché la membrana glomerulare è integra, la quantità di albumina che la attraversa è, come nel normale, molto limitata. A causa di un'alterazione selettiva del tubulo, il riassorbimento della B2-m che viene normalmente filtrata dal glomerulo, è compromesso, e le concentrazioni urinarie di questa proteina saranno elevate, rispetto alla normalità. Anche l'albuminuria può essere di poco aumentata, ma solo relativamente alla piccola quota che viene riassorbita dal tubulo. In ogni caso il rapporto B2-m/albumina è sempre aumentato.

C - Proteinuria glomerulare.

A causa dell'alterata permeabilità della membrana glomerulare l'albumina non è più trattenuta ed attraversa la membrana in elevate quantità, così come avviene per la B2-m. Poiché il meccanismo di riassorbimento tubulare dell'albumina è già saturato dalla quota eliminata in condizioni fisiologiche, la proteina comparirà nelle urine in elevate concentrazioni. Il trasporto tubulare di B2-m non è significativamente alterato rispetto al normale.

esigenze pratiche, soprattutto in corso di screening periodici. Poiché l'escrezione urinaria di B2-m non varia quantitativamente con il variare del volume urinario, non sembrerebbe scorretto raccogliere le u-

rine per un periodo limitato ed estrapolare dai dati ottenuti la eliminazione giornaliera della proteina. Occorre tuttavia segnalare che mentre le concentrazioni plasmatiche di B2-m sono costanti nella

giornata, l'escrezione urinaria varia secondo un ritmo circadiano, che determina un picco di concentrazione diurno, con valori minimi durante la notte e che è diverso da quello di altre proteine, come l'al-

bumina (5). Non è nemmeno possibile correggere le concentrazioni urinarie ricorrendo alla valutazione del rapporto creatininuria/B2-m urinaria, in quanto anche l'escrezione di creatinina segue un ritmo circadiano, che non è sincronizzato con quello della B2-m. Nel caso di raccolta limitata delle urine occorre quindi tener presente l'oscillazione dei valori normali di escrezione nel corso della giornata.

Fattori che interferiscono sul dosaggio urinario

Le concentrazioni urinarie di B2-m si riducono nelle urine acide, in quanto la B2-m escreta viene degradata per processi enzimatici temperatura-dipendenti. La degradazione è elevata quando il pH è inferiore a 5.5 (10). Per ovviare a questo inconveniente si ricorre all'aggiunta di alcalinizzanti nelle urine, ma questo rimedio non è del tutto efficace, in quanto la proteina può essere degradata anche in vescica, se le urine sono acide. È preferibile, anche se più indaginoso, somministrare direttamente al paziente bicarbonato di sodio durante il periodo di raccolta delle urine, iniziando almeno 8 ore prima della raccolta stessa. Poiché anche il pH urinario non è costante nel corso della giornata, ma si modifica secondo ritmi ben precisi, raggiungendo nel corso della notte i valori minimi, il periodo di raccolta delle urine e l'eventuale somministrazione di bicarbonato devono essere opportunamente valutati. Altra importante causa di alterazione di concentrazione urinaria di B2-m è la riduzione della funzionalità renale. Quando il volume del filtrato glomerulare si riduce, le concentrazioni plasmatiche di B2-m aumen-

tano. A concentrazioni superiori a 4.5 mg/L anche l'escrezione urinaria di B2-m aumenta, in quanto il processo di riassorbimento tubulare è un meccanismo saturabile (2). Infatti la riduzione del volume del filtrato glomerulare comporta un aumento del carico filtrato dai nefroni residui. L'aumento di concentrazione di B2-m nel filtrato glomerulare può superare le capacità di riassorbimento tubulare, determinando così la comparsa di concentrazioni patologiche urinarie di B2-m anche in assenza di un danno tubulare selettivo. Poiché i recettori tubulari ai quali si lega la B2-m prima di essere riassorbita non sono specifici, può verificarsi a loro livello un antagonismo tra proteine diverse o, più generalmente, con soluti policationici (inibizione competitiva da farmaci). Anche nella sindrome nefrosica la concentrazione urinaria di B2-m può aumentare perché aumenta il carico di proteine filtrate dal singolo glomerulo, pur in assenza di un danno tubulare specifico ed analogamente l'iperfiltrazione glomerulare conseguente ad un elevato carico proteico alimentare potrebbe condizionare il riassorbimento tubulare di B2-m. Così nel mieloma multiplo con proteinuria di Bence-Jones, l'escrezione di B2-m è più elevata rispetto ai casi in cui l'escrezione della proteina anomala è scarsa o assente, indipendentemente dalla concentrazione plasmatica di B2-m, per un processo di antagonismo recettoriale (11). L'escrezione urinaria aumenta anche dopo sforzi fisici intensi (12), sia per saturazione tubulare da parte di altre proteine di cui aumenta la filtrazione glomerulare, sia per danni iposici tubulari reversibili, conseguenti alla redistribuzione del flusso ematico renale. Un aumento transi-

torio della B2-m urinaria è stato osservato in seguito a traumi occasionali o chirurgici di entità rilevante, nelle ustioni estese e nella pancreatite acuta. Si ritiene che anche in queste condizioni l'aumento dell'escrezione urinaria sia causato da una saturazione tubulare operata da soluti di cui è aumentata l'escrezione urinaria, quali aminoacidi o altre sostanze di piccolo peso molecolare, liberate dai tessuti danneggiati, con l'eventuale contributo di un danno ischemico tubulare, su base emodinamica.

Considerazioni conclusive

Il dosaggio della B2-m urinaria costituisce ancora un test importante e relativamente semplice di funzionalità tubulare. Per la sua sensibilità è in grado di evidenziare lesioni tubulari renali precoci, ed è pertanto un utile ausilio anche nel campo della medicina preventiva. Infatti la riduzione dello 0.1% della capacità di riassorbimento dei tubuli comporta già un aumento dell'escrezione urinaria di B2-m del 300% ed una riduzione dell'1% determina un aumento di 20 volte della quantità escreta. Associato al dosaggio dell'albuminuria è utile nella diagnosi differenziale della proteinuria patologica. La facile degradazione della B2-m nelle urine può interferire sui risultati del dosaggio, determinando false negatività e rende necessario il ricorso a contromisure che possono risultare complesse e fastidiose per il paziente, specie nei dosaggi ripetuti. A questo proposito il dosaggio di altre proteine urinarie, il cui significato è analogo a quello della B2-m, può risultare più vantaggioso: la RBP (Retinol Binding Protein) che ha lo stesso catabolismo

renale della B2-m, è un indice altrettanto valido di funzionalità tubulare, ma non è sensibile al pH urinario.

L' escrezione patologica di B2-m non può essere correttamente interpretata se non vengono considerati tutti gli elementi che, indipendentemente da una lesione tubulare, possono essere responsabili di un aumento della sua concentrazione urinaria, dando luogo a false positività.

Bibliografia

1. Karlsson FA, Wibell L, Evrin PE. Beta 2 microglobulin in clinical medicine. *Scand J Clin Lab Invest* 1980; 40 (s 154): 27-37.
2. Simonnet-Nguiyen H, Gauthier C, Vincent C, Revillard JP. Renal brush border membrane binding of B2 microglobulin is rapid, saturable and inhibited by albumin. *Contr Nephrol* 1988; 68: 26-31.
3. Bianchi C, Bocci V, Carone FA, Rabbik R. Measurement of the glomerular sieving coefficient of endogenous protein in man. *Contr Nephrol* 1990; 83: 47-52.
4. Vincent C, Revillard JP. Beta 2 microglobulin and HLA related glycoproteins in human urine and serum. *Contr Nephrol* 1981; 26: 66-88.
5. Koopman MG, Krediet RT, Zuyderhoudt FMJ, De Moor EAM, Arisz L. Circadian rhythm of urinary beta 2 microglobulin excretion in patients with a nephrotic syndrome. *Nephron* 1987; 45: 140-6.
6. Piscator M. Markers of tubular dysfunction *Toxicology Letters* 1989; 46: 197-204.
7. Sandberg T, Bergmark J, Hultberg B, Jagenburg R, Trolfors B. Diagnostic potential of urinary enzymes and beta 2 microglobulin in acute urinary tract infection. *Acta Med Scand* 1986; 219 (5): 489-95.
8. Wiseman MJ, Viberti G: Genesis and evolution of proteinuria in diabetes mellitus. *La Ricerca. Clin Lab* 1985; 15: 9-15.
9. Odland B, Backman U, Forbes MA, Cooper EH. Proteinuria after renal transplantation. *Contr Nephrol* 1988; 68: 149-56.
10. Davey PG, Gosling P. Beta 2 microglobulin instability in pathological urine. *Clin. Chem* 1982; 28/6: 1330-3.
11. Scarpioni L, Balocchi S, Bergonzi G, Cecchetti M et al. Glomerular and tubular proteinuria in myeloma. Relationship with Bence-Jones proteinuria. *Contr Nephrol* 1981; 26: 89-102.
12. Hidaka S, Kakuta S, Okada H, Chimata M, Nagase M. Exercise-induced proteinuria in diseases with metabolic disorders. *Contr Nephrol* 1990; 83: 136-43.