

Urinproteinanalyse im Kindesalter mittels quantitativer Einzelproteinbestimmung

Analysis of urinary proteins in infancy and childhood by means of quantitative measurement of specific urinary proteins of different molecular weight

M. Kirschstein, B. Wötzl, R. Schröder, R. Jensen

Klinik für Pädiatrie, Medizinische Universität, Lübeck

Zusammenfassung:

Eine moderne Proteinuriediagnostik sollte eine Aussage über die Lokalisation der Nierenschädigung zulassen. Dies gelingt entweder mit der qualitativen Analyse der Harnproteine mittels Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gradientengelektrophorese (SDS-PAGE) oder durch quantitative Bestimmung von Einzelproteinen im Urin, die zunehmend Bedeutung in der Nephrologie (diabetische Nephropathie, Nierentransplantation, Vesiko-uretero-renaler Reflux, nephrotisches Syndrom, angeborene Hydronephrosen) gewinnt.

Da für das Kindesalter bisher keine ausreichenden Angaben über Referenzwerte von Indikatorproteinen im Urin vorliegen, wurde in einer Studie an 98 gesunden Kindern im Alter von 2 – 16 Jahren Gesamtprotein, Albumin, Immunglobulin G, Transferrin, α -Microglobulin und Retinol-bindendes Protein im zweiten Morgenurin und in fraktioniert gewonnenen Sammelurinproben mit einem immunoluminometrischen Assay (ILMA) bestimmt.

Eine Geschlechtsabhängigkeit ließ sich für keines der Urinproteine nachweisen. Nur für die Werte der IgG-Konzentration und die Retinol-bindendes Protein/Kreatinin-Ratio fand sich eine Altersabhängigkeit. Bei Bezug der Einzelproteinkonzentrationen auf das Urinkreatinin fand sich keine geringere Streuung der Werte.

Schlüsselwörter:

Proteinurie – Albumin – Immunglobulin G – Transferrin – α -Microglobulin – Retinol-bindendes Protein

Summary:

Proteinuria can be assessed by qualitative evaluation with sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gradient gel electrophoresis (SDS-PAGE) or by quantitative measurement of specific urinary proteins of different molecular weight. Reference values for representative indicator proteins in children are lacking. Therefore we determined albumin (Alb), immunoglobulin G (IgG), transferrin (Trf), α -microglobulin (A_M), retinol binding protein (RBP) and total protein (TP) in second morning urine using an immunoluminometric assay (ILMA) in 98 healthy children ranging in age from 2 to 16 years. Concentrations and protein/creatinine ratios of these urinary proteins did not differ in relation to sex and only for urinary concentrations of IgG and RBP/creatinine ratio age-dependence was found.

Keywords:

Proteinuria – Immunoglobulin G – Albumin – Transferrin – A_M-microglobulin – Retinol binding protein

Einleitung

Eine pathologische Proteinurie wird üblicherweise mit dem Teststreifen nachgewiesen und durch eine Gesamtproteinbestimmung quantifiziert. Im Sinne einer klinisch relevanten und diagnostisch möglichst differenzierten Analyse der Proteinurie genügt es nicht, nur die Gesamtmenge der mit dem Harn ausgeschiedenen Proteine zu erfassen. Eine moderne Proteinuriediagnostik sollte vielmehr zwischen Proteinurieformen glomerulärer und tubulärer Genese unterscheiden (1).

Mit der Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gradientengelektrophorese (SDS-PAGE) steht eine hervorragende Methode zur qualitativen Analyse von Proteinurien zur Verfügung (2). Ihre Nachteile liegen in der fehlenden Proteinquantifizierung und Standardisierung der Färbe Methoden. Zudem erfordert die Auswertung große Erfahrung des Untersuchers (3, 4). Als Alternative bietet sich die Bestimmung einzelner Markerproteine im Urin an (4, 5, 6). Bei Diabetikern und Hypertonikern hat sich Albumin als ein besonders empfindlicher Parameter einer frühen Nephropathieentwicklung erwiesen (7, 8). Neben Albumin (Alb) eignen sich Transferrin (Trf) und

NICHOLS INSTITUTE Diagnostika GmbH

Dieselstrasse 18 D-61231 Bad Nauheim

Tel. 06032-9106-0 Fax: 06032-910621

MEDICA 1994
Halle 3, Stand E 38

aktives RENIN IRMA

- Sensitivität 1,4 mU/L (0,9 pg/ml)
- Niedrigster Standard 8 mU/L (5 pg/ml)
- Auch zur Bestimmung von Prorenin -
Die Renin-Inhibitor-Aktivierung er-
übriglt die kritischen Schritte der
Trypsinaktivierung.



Institute
ka GmbH

Washer und Dispenser

Wascher und Dispenser
in einem Gerät ist der Skan-Wash 300: 96 Kavitäten der Mikrotiterplatte werden gleichzeitig, schnell und gründlich gewaschen bzw. präzise gefüllt.

Der SkanWash 300 ist vielseitig einsetzbar als Mikrotiterplatten-Waschgerät für ELISA, als Coombs-Wascher, Wascher für Magnetantikörpertests oder auch als schneller Dispenser zum Befüllen oder Beschichten von Mikrotiterplatten.

10 Programmspeicher für Anwenderprogramme sind frei belegbar. Absaugzeit, Waschdauer und Einweichzeit und das Waschvolumen (100 bis 1000 µl) sind frei wählbar. Die Programmierung ist einfach, alle notwendigen Programmeingaben werden am Display abgefragt. Für den Routinebetrieb genügt ein einfacher Knopfdruck.

Der aktive Plattenauflug sorgt für eine präzise Positionierung der Kanülen beim Befüllen und Absaugen. Der Plattenauflug führt die Platte gemäß dem Flüssigkeitsspiegel nach, sodaß immer von der Flüssigkeitsoberfläche abgesaugt wird. Das garantiert ein hervorragendes Waschergebnis und verhindert Kontamination durch Überlaufen.

Durch Ankuppeln des SkanStackers wird der SkanWash 300 zu einem voll-automatischen Wascher oder Dispenser, der selbsttätig 10 oder 25 Platten abarbeitet.

**ZINSSER
ANALYTIC**

**Eschborner Landstraße 135
60489 Frankfurt am Main
Telefon (069) 789106-0
Telefax (069) 789106-80**

Erfahrung,die man kaufen kann.Erfahrung,die man kaufen kann.Erfahrung,die man kaufen kann.Erfahrung,die man kaufen kann.

REAGENZIEN SYSTEME SERVICE

Qualität von SERONO

Neu

LABOTECH

**Die wirtschaftliche Alternative:
Mikrotiterplatten-Analysensystem
mit SEROZYME -M**

Mehr als

60

Immunoassays

MAIA, MAIA CLONE, BRIDGE, SERIA und SEROZYME

für über 40 Analyte

Mehr als

20

OSR1

Das vollautomatische EIA-Testsystem

Neu

System 9100

Das modulare Hämatologie-System

Jetzt neu:

SRI Freies Österreich

Serono
BASIC SCIENCE

Erfahrung
schafft
Fortschritt®

SERONO Diagnostika GmbH
Merzhauser Straße 134, D-79100 Freiburg
Tel. 0761/45 81-0, Fax 0761/45 81-190
A BIOCHEM IMMUNOSYSTEMS COMPANY

Immunglobulin G (IgG) für die Charakterisierung einer glomerulären Proteinurie, während mit der Bestimmung von α_1 -Microglobulin (A,M) und Retinol-bindendem Protein (RBP) tubuläre Proteinurien erfaßt werden (5, 9). Die gleichzeitige Bestimmung verschiedener Einzelproteine wird zunehmend zur Verlaufskontrolle bei unterschiedlichen Erkrankungen wie Nierentransplantation (IgG, A,M), vesico-ureteralem Reflux (A,M, RBP), angeborenen Harnwegsobstruktion (A,M, RBP), nephrotischem Syndrom (RBP), Diabetes mellitus (Alb, A,M, RBP) und zur Beurteilung der Nephrotoxizität von Pharmaka (A,M, RBP) eingesetzt (10 – 16).

Da auch zunehmend in der Pädiatrie die Bestimmung von Einzelproteinen im Urin an Bedeutung gewinnt, war es Ziel dieser Studie, für die wichtigsten Markerproteine Alb, IgG, Trf, A,M, RBP sowie das Gesamtprotein (TP) im Urin Referenzwerte unter Berücksichtigung des Alters und Geschlechts für das Kindesalter zu ermitteln. Zusätzlich sollte geprüft werden, ob zirkadiane Unterschiede der Einzelproteinausscheidung bestehen und der Bezug der Proteinausscheidung auf das Urinkreatinin von Vorteil ist.

Material und Methoden

Von 98 gesunden Kindern im Alter von 2 bis 16 (Median 8 Jahre) wurden Proben des zweiten Morgenurins sowie von 26 Kindern fraktionierte (Tag- und Nacht) Sammelurine gewonnen. Aufnahmekriterien für die Studie waren: normale Nierenfunktion, kein arterieller Hypertonus, keine Medikamenteneinnahme zum Zeitpunkt der Urinabnahme und keine Nierenerkrankungen in der Anamnese.

Die Urinproben wurden nach Erhalt per Teststreifen (Multistix 10 SG, Bayer Diagnostic, München) untersucht, anschließend über zehn Minuten bei 300 U/min zentrifugiert und nach Zugabe von 30 μl einer 10% (w/v) Natriumazidlösung bis zur Analyse bei -20°C eingefroren. Eine Portion der Urinprobe wurde im Kühlschrank bei $+4^\circ\text{C}$ aufbewahrt zur Bestimmung von IgG innerhalb von sieben Tagen, da dieses Eiweiß im Gegensatz zu den anderen einen Gefrierverlust aufweist (17).

Die Kreatininbestimmung im Urin erfolgte nach einer modifizierten Jaffé-Reaktion mit einem Kone-Progress (Kone OY, Norderstedt) in einer Verdünnung von 1:20. Das Uringesamtprotein wurde nephelometrisch mit der Streulichtmethode an einem ICS-Analyzer II (Beckman, Fullerton, Ca, USA) durch Ausfällung mit Trichloressigsäure bestimmt (18).

Sämtliche Urinproben wurden zusätzlich mit SDS-PAGE untersucht (Methodenbeschreibung 19, 20) und für die Referenzwertermittlung der Einzelproteine nur Harne mit physiologischem Urinproteinmuster verwandt.

Die Messung der Harnproteine (IgG, Trf, Alb, A,M und RBP) wurde mit einem immunoluminometrischen Assay (ILMA) durchgeführt. Es handelt sich dabei um einen Immunoassay in Sandwichtechnik, bestehend aus einem festphasengekoppelten Antikörper und einem Antikörper, der mit einer luminogenen Substanz markiert wurde, die bei oxidativer Umwandlung mittels Katalase Licht emittiert. Durch Messung der Lichtquanten in einem Photomultipler (Luminometer Berthold LB 925 T/16, Berthold, Mannheim) wird gegen eine Standardverdünn-

nungsreihe die Menge des gebundenen Proteins gemessen (21). Als untere Nachweisgrenzen für die gemessenen Einzelproteine wurden ermittelt: IgG 0,22 mg/l, Trf 60 $\mu\text{g/l}$, Alb 0,33 mg/l, A,M 55 $\mu\text{g/l}$ und RBP 35 $\mu\text{g/l}$. In jedem Assay wurden drei Kontrollen mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen mitgeführt. Der Interassay-Variationskoeffizient (von Tag zu Tag) lag bei 10%, der Intraassay-Variationskoeffizient bei 8%.

Die Zahlenwerte der Proteinkonzentrationen und Kreatinin-Ratios im Urin waren nicht normal verteilt. Für die Erstellung von Referenzbereichen wurden daher Transformationen der Werte mittels dekadischem oder natürlichem Logarithmus durchgeführt. Die statistischen Berechnungen erfolgten mittels t-Test, einfaktorieller Varianz-Analyse (Anova), Mann-Whitney-Test, Kruskal-Wallis-Test, Friedman-Test und Wilcoxon-Test mit dem Programm SSPS-PC+ Version 3.0. Es wurde ein Signifikanzniveau von $p = 0,05$ gewählt.

Ergebnisse

Spontanurine

Von 98 Spontanurinproben wiesen drei eine Leukozyturie auf, so daß 95 Proben zur Auswertung kamen. Die unteren und oberen Grenzwerte sowie der Mittelwert der fünf Einzelprotein-Kreatinin-Ratios sowie des Gesamtproteins sind in Tabelle 1 aufgeführt. Eine Geschlechtsabhängigkeit fand sich bei keinem der untersuchten Proteine. Lediglich für die IgG-Konzentrationen sowie für die RBP-Kreatinin/Ratiowerte wurden signifikante Differenzen zwischen den Altersklassen gefunden (Tab. 2). 11 (12,2%) bzw. 12 (13,3%) der Spontanurine wiesen Konzentrationen der Proteine Trf und RBP unterhalb der Nachweisgrenze von 60 $\mu\text{g/l}$ bzw. 35 $\mu\text{g/l}$ auf.

Sammelurine

Da die Konzentrationen der Einzelproteine und die Einzelprotein/Kreatinin-Ratios in den Urinproben während der Tagesstunden keine signifikanten Unterschiede aufwiesen, wurde aus sämtlichen Werten eine gemeinsame

Tab. 1: Grenzwerte (10. und 90. Perzentile) und Mittelwerte der Konzentrationen und Protein/Kreatinin-Ratios von fünf Einzelproteinen und des Gesamtproteins in Spontanurinen von 95 gesunden Kindern

		unterer Grenzwert	Mittelwert*	oberer Grenzwert
TP	(mg/l)	5,21	21,51	88,64
TP/Krea	(mg/mmol)	0,45	2,35	12,32
Alb	(mb/l)	1,28	7,66	45,98
Alb	(mg/mmol)	0,14	0,20	5,18
IgG/Krea	(mg/mmol)	0,029	0,153	0,797
Trf	($\mu\text{g/l}$)	–,**	224,20	2150
Trf/Krea	($\mu\text{g/mmol}$)	–,**	29,80	309,8
A,M	(mg/l)	0,001	2,13	8,33
A,M/Krea	(mg/mmol)	0,001	0,23	0,84
RBP	($\mu\text{g/l}$)	–,**	127,80	445,8

* Mittelwert der in eine Normalverteilung transformierten Werte

** Unterhalb der Nachweisgrenze

Tagfraktion errechnet und mit der Nachtfraktion verglichen. Tabelle 3 zeigt die Einzelproteinkonzentrationen und die Protein/Kreatinin-Ratios der Tag- und Nachturine im Vergleich. Proteinkonzentrationen sowie die Protein/Kreatinin-Ratios der tubulären Markerproteine A₁M und RBP zeigten keine signifikanten Unterschiede, während mit Ausnahme der Trf-Konzentrationen für die anderen

Tab. 2: Median und oberer Grenzwert der IgG-Konzentrationen und der RBP/Kreatinin-Ratios von Spontanurinen in drei Altersklassen von 95 gesunden Kindern.

	Altersklasse < 6 Jahre	Altersklasse 6 - < 11 Jahre	Altersklasse > 11 Jahre
IgG (mg/l)			
Median	0,931	1,813	2,046
obere Grenze	4,957	6,272	8,400
RBP/Krea (µg/mmol)			
Median	19,5	16,5	10,5
obere Grenze	114,9	39,6	39,5

glomerulären Markerproteine Alb und IgG sowohl die Konzentrationen als auch die Protein-Kreatinin-Ratios signifikante Unterschiede aufwiesen.

Im intra-individuellen und inter-individuellen Vergleich war die Streuung der auf das Urinkreatinin bezogenen Werte nicht kleiner als die Streuung der entsprechenden einfachen Proteinkonzentrationen. Dies galt sowohl für die Sammelurinfraktionen wie auch für die Spontanurine.

Diskussion

Die Proteinurie ist ein häufiges Symptom renaler und extrarenaler Erkrankungen. Als Screening-Verfahren haben sich Teststreifen bewährt, leider erfaßt diese Methode nicht alle im Harn auftretenden Proteinspezies (1, 5, 22, 23). Eine moderne Proteinuriediagnostik sollte eine Aussage über die Lokalisation der Nierenschädigung zulassen und zwischen verschiedenen Proteinurieformen differenzieren. Daher sollte eine pathologische Proteinurie mittels SDS-PAGE oder anhand eines Einzelproteinprofils näher analysiert werden.

Tab. 3: Vergleich zwischen Einzelproteinkonzentrationen und Einzelproteinkonzentration/Kreatinin-Ratios zwischen Tag- und Nachturinfractionen

	Tag		P	Nacht	
	Median	90. Perc.		Median	90. Perc.
TP (mg/l)	24,6	86,70	0,053	21,2	59,40
IgG (mg/l)	2,22	9,46	0,03	1,48	4,36
Trf (µg/l)	921,00	2273	ns	584	1561
Alb (mg/l)	11,87	44,09	0,03	8,08	17,13
A ₁ M (mg/l)	1,68	7,20	ns	2,10	6,82
RBP (µg/l)	133,50	435,50	ns	170,70	446,70
TP/Krea (mg/mmol)	2,41	8,87	<0,01	1,84	4,65
IgG/Krea (mg/mmol)	0,21	1,01	<0,01	0,11	0,33
Trf/Krea (µg/mmol)	78,30	251,90	0,03	33,90	109,00
Alb/Krea (mg/mmol)	1,04	4,13	<0,001	0,70	1,53
A ₁ M/Krea (mg/mmol)	0,20	0,59	ns	0,20	0,53
RBP/Krea (µg/mmol)	14,60	41,87	ns	13,40	40,89

In der vorliegenden Arbeit wurden für fünf Einzelproteine im Urin Referenzbereiche für das Kindesalter unter Verwendung eines in unserer Klinik entwickelten immuno-luminometrischen Assays erstellt.

Aus technischen Gründen wurden die Urinproben mit Ausnahme für die IgG-Bestimmung (Aufbewahrung max. 7 Tage bei + 4°C) bis zu 20 Tagen bei - 20°C gelagert. In Vorversuchen konnte gezeigt werden, daß die von uns untersuchten Proteine Alb, Trf, A₁M, RBP bei diesen Lagerungsbedingungen stabil blieben. Lediglich IgG wies einen Gefrierverlust von bis zu 45% auf (17). Unsere Erfahrungen stimmen hervorragend mit den von Hofmann und Guder veröffentlichten Resultaten ihrer Lagerungsversuche überein (24, 25), so daß ein Gefrierverlust der für diese Studie untersuchten Proteine nicht zu erwarten ist.

Normwerte für die Einzelproteinausscheidung bei Kindern liegen bisher in größerer Zahl lediglich für Alb vor (26 - 32). Für IgG und Trf wurden bisher keine Referenzwerte veröffentlicht, für RBP (33, 34) und A₁M (34, 35, 36) jeweils zwei bzw. drei Studien mit zum Teil geringen Patientenzahlen. Soweit Normwerte für die Einzelprotein-ausscheidung im Urin für das Kindesalter vorlagen, stimmen die von uns gemessenen Konzentrationen gut mit den Ergebnissen anderer Untersucher überein.

Wie andere Untersucher konnten wir für keines der untersuchten Einzelproteine eine Geschlechtsabhängigkeit nachweisen. Eine Altersabhängigkeit wurde lediglich für die IgG-Konzentration und den RBP/Kreatinin-Quotienten gefunden. Die in der vorliegenden Studie erstmals ermittelten Normwerte für die IgG-Ausscheidung im Urin bei Kindern wiesen eine Obergrenze von 4,597; 6,272 und 8,4 mg/l in den drei Altersklassen auf. Bei gesunden Erwachsenen wurden die oberen Referenzbereiche für IgG-Konzentrationen im Spontanurin von Hofmann (25) bei 0,97 mg/µmol Kreatinin und von Wood (17) bei 11,6 mg/l festgelegt, für 24-h-Sammelurine von Ellis (29) und Schmitt (30) 12 mg/24 h bzw. 18 mg/24 h. Somit bestätigen die bei Erwachsenen nachgewiesenen höheren IgG-Ausscheidungen unsere Befunde einer mit dem Lebensalter zunehmenden Urinkonzentration dieses Proteins.

In der bisher einzige vorliegenden Untersuchung über die Urinausscheidung von RBP bei gesunden Kindern konnten Tomlinson et al. keine altersabhängigen Unterschiede nachweisen (34). Die von ihnen angegebenen Referenzbereiche für Spontanurinproben (< 1 bis 24,5 µg/mmol Kreatinin) und Nachturin 1,0 - 14,4 µg/mmol Kreatinin) lagen deutlich unterhalb der von uns für drei Altersklassen ermittelten Werte. Dagegen fanden Smith et al. (33) in einer kürzlich veröffentlichten Studie eine Abnahme der RBP-Ausscheidung mit zunehmendem Lebensalter und die von ihnen ermittelten Werte für Kinder der Altersstufen 2 - 5 Jahre von 26 µg/mmol Kreatinin (Bereich 4,5 - 89), 5 - 10 Jahre 14 µg/mmol Kreatinin (5 - 41) und 10 - 16 Jahre 11 µg/mmol Kreatinin (3,9 - 32) sind mit unseren Ergebnissen fast identisch.

Quantitative Bestimmungen von Urinproben sollten möglichst auf das in 24 h ausgeschiedene Harnvolumen bezogen werden. Da eine 24-h-Urinsammlung im Kindesalter nur selten vollständig gelingt und häufig ein Organisationsproblem darstellt, werden in der Pädiatrie zunehmend Spontanurinproben als Untersuchungsmaterial verwandt (39). Verschiedene Untersucher propagieren, daß eine verbesserte Standardisierung der Meß-

ergebnisse von Spontanurinproben sowie eine niedrige interindividuelle Variabilität der Werte durch Bezug der Protein- auf die Urinkreatinin-Konzentration erreichbar ist (24, 28, 29, 40). Die Ergebnisse dieser Studie gesunder Kinder konnten dies nicht bestätigen. Wie Howy (41) bei Erwachsenen fanden auch wir keine geringere interindividuelle Variabilität bei Bezug der Proteinkonzentrationen auf das Harnkreatinin.

Sowohl für Sammelurinfractionen wie auch für Spontanurinproben war im intra- und interindividuellen Vergleich die Streuung der Kreatinin bezogenen Werte nicht kleiner als die der entsprechenden einfachen Konzentrationen. Somit erscheint in der Urinproteinagnostik im Kindesalter die Bestimmung des Urinkreatinins nicht immer notwendig, insbesondere bei normaler Trinkmenge und Diurese. Obwohl sich signifikante Unterschiede sowohl der Einzelproteininkonzentrationen wie auch der Einzelprotein/Kreatinin-Ratios insbesondere für die großmolekularen Proteine IgG, Trf und Alb zwischen Tag- und Nachturinfractionen ergaben, halten wir die Verwendung von Spontanurinproben aufgrund unserer Ergebnisse auch im Kindesalter zur Erhebung quantitativer Daten aufgrund der oben aufgeführten Gründe für ausreichend.

Literatur:

- Ehrich, J.H.H.; Kirschstein, M.; Kehring, N.; Wurster, U.; Volkmann, A.; Külpman, W.R. (1993): Proteinurie und Enzymurie als Leitsymptom renaler und extrarenaler Erkrankungen. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 141: 59-69
- Brocklebank, T.; Cooper, E.H.; Richmond, K. (1991): SDA-PAGE: patterns of proteinuria in various renal diseases of childhood. *Pediatr. Nephrol.* 5: 371-375
- Ehrich, J.H.H.; Wurster, U. (1991): Differentiation of proteinurias with electrophoresis. *Pediatr. Nephrol.* 5: 376-378
- Boege, F.; Liebermann, F.; Luther, A.; Gilge, U.; Heidland, A. (1990): Quantifizierung und Differenzierung der Proteinurie durch automatisierte nephelometrische Messung von Alpha-, Mikroglobulin, Albumin und IgG: Vergleich mit SDS-PAGE-Analyse. *Lab. Med.* 14: 243-249
- Schiwara, H.-H. (1987): Harndiagnostik bei Verdacht auf Nierenkrankheiten. *Lab. Med.* 11: 244-250
- Tomlinson, P.A. (1992): Low molecular weight proteins in children with renal diseases. *Pediatr. Nephrol.* 6: 565-571
- Viberti, G.C.; Jarret, R.J.; Mahmud, U.; Hill, R.D.; Argyropoulos, A.; Keen, H. (1982): Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1430-1432
- Mogensen, C.E.; Christensen, C.K. (1984): Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N. Eng. J. Med.* 311: 89-93
- Weber, M.H. (1990): Proteinurie und Hämaturie: Nichtinvasive Diagnostik renaler Leitsymptome. *Deutsches Ärzteblatt* 87: 2386-2396
- Steinhoff, J.; Feddersen, A.; Wood, W.G.; Hoyer, J.; Bein, G.; Wiedemann, G.; Fricke, I.; Sack, K. (1992): β_2 -microglobulin as an early sign of cytomegalovirus infection following renal transplantation. *Transplant. Int.* 5 (Suppl. 1): S300-S302
- Steinhoff, J.; Feddersen, A.; Wood, W.G.; Hoyer, J.; Sack, K. (1991): Glomerular proteinuria as an early sign of renal-transplant rejection. *Clin. Nephrol.* 35: 255-262
- Ginevri, F.; Mutti, A.; Ghiggeri, G.M.; Alinovi, R.; Ciardi, M.R.; Bergamaschi, E.; Verrina, E.; Gusmano, R. (1992): Urinary excretion of brush border antigens and other proteins in children with vesico-urteric reflux. *Pediatr. Nephrol.* 6: 30-32
- Kordonouri, O.; Jorres, A.; Muller, C.; Enders, I.; Gahl, G.M.; Weber, B. (1992): Quantitative assessment of urinary protein and enzyme excretion - a diagnostic programme for the detection of renal involvement in type I diabetes mellitus. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 52: 781-790
- Sesso, R.; Santos, A.P.; Nishida, S.K.; Klag, M.J.; Carvalhaes, J.T.; Ajzen, H.; Ramos, O.L.; Pereira, A.B. (1992): Prediction of steroid responsiveness in the idiopathic nephrotic syndrome using urinary retinol-binding protein and beta-2-microglobulin. *Annals of Internal Medicine* 116: 905-909
- Rossi, R.; Rath, B.; Ullrich, K.; Ehrich, J.H.H. (1993): Ifosfamid-induzierte Nephrotoxizität. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 141: 594-601
- Piqueras, A.; Shah, V.; Hulton, S.A.; Barratt, T.M.; Dillon, M.J. (1993): Tubular proteinuria in steroid sensitive multi-relapsing nephrotic syndrome. *Clin. Nephrol.* 40: 26-30
- Wood, W.G.; Herhahn, D.; Steinhoff, J.; Feddersen, A.; Schulz, E.; Sack, K. (1990): The diagnostic relevance of specific urinary proteins after renal transplantation. *Arztesches Laboratorium* 36: 260-267
- Kirchherr, H.; Schiwara, H.W. (1985): Quantitative Proteinbestimmung im Harn mit einer empfindlichen Streulichtmethode. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 23: 57-62
- Schiwara, H.W.; Hebell, T.; Kirchherr, H.; Postel, W.; Weser, J.; Görg, A. (1986): Ultrathinlayer sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gradient gel electrophoresis and silver stainin of urinary proteins. *Electrophoresis* 7: 496-505
- Kirschstein, M.; Jensen, R.; Schröder, R.; Sack, K. (1991): Proteinuria after renal transplantation: diagnosis with highly sensitive silver stain in sodium dodecylsulphate-polyacrylamide gradient gel electrophoresis. *Klin. Wochenschr.* 69: 847-852
- Wood, W.G. (1985): Luminescence immunoassay in theory and practice - the state of the art. In: Pal, S.B. (ed.) *Immunoassay technology*, Vol. 1, de Gruyter, Berlin - New York, pp 105-150
- Hofmann, W.; Guder, W.G. (1989): Moderne Methoden zur Proteindifferenzierung im Urin. *lab. Med.* 13: 336-344
- Ritz, E. (1993): Proteinurie. *Dtsch. med. Wschr.* 118: 1853-1854
- Hofmann, W.; Guder, W.G. (1989): A diagnostic programme for quantitative analysis of proteinuria. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 27: 589-600
- Hofmann, W.; Guder, W.G. (1989): Präanalytische und analytische Faktoren bei der Bestimmung von IgG, Albumin, Alpha-1-Microglobulin und Retinol-bindendem Protein im Urin mit dem Behring Nephelometer System (BNS). *Laboratoriumsmedizin* 13: 470-478
- Elises, J.S.; Griffiths, P.D.; Hocking, M.D.; Taylor, C.M.; White, R.H.R. (1988): Simplified quantification of urinary protein excretion in children. *Clin. Nephrol.* 30: 225-229
- Kodama, K.; Tomioka, M.; Otani, T.; Shimizu, S.; Uchigata, Y.; Hirata, Y. (1990): The range of albumin concentration in the single-void first morning urine of 1090 healthy young children. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 9: 55-58
- Houser, M.T. (1986): Characterization of proteinuria using random urine samples. *The International Journal of Pediatric Nephrology* 7: 197-202
- Davis, A.G.; Postlethwaite, R.J.; Price, D.A.; Burn, J.L.; Houlton, C.A.; Fielding, B.A. (1984): Urinary albumin excretion in school children. *Arch. Dis. Child.* 59: 625-630
- Rowe, D.J.F.; Hayward, M.; Bagga, H.; Betts, P. (1984): Effect of glycaemic control and duration of disease on overnight albumin excretion in diabetic children. *BMJ* 289: 957-959
- Walton, C.; Brodansky, H.J.; Wales, J.K.; Forbes, M.A.; Cooper, E.H. (1988): Tubular dysfunction and microalbuminuria in insulin dependent diabetes. *Arch. Dis. Child.* 63: 244-249
- Gibb, D.M.; Tomlinson, P.A.; Dalton, N.R.; Turner, C.; Shah, V.; Barratt, T.M. (1989): Renal tubular proteinuria and microalbuminuria in diabetic patients. *Arch. Dis. Child.* 64: 129-134
- Smith, G.C.; Winterborn, M.H.; Taylor, C.M. (1992): Urinary excretion of retinol binding protein in normal children. *Pediatr. Nephrol.* 6: C 107
- Tomlinson, P.A.; Dalton, N.R.; Turner, C.; Chantler, C. (1990): Measurement of β_2 -microglobulin, retinol-binding protein, alpha₁-microglobulin and protein 1 in healthy children using enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Chim. Acta* 192: 99-106
- Martin, P.; Walton, C.; Chapman, C.; Bodansky, H.J.; Stickland, M.H. (1990): Increased urinary excretion of transferrin in children with type 1 diabetes mellitus. *Diabetec Med.* 7: 35-40
- Itoh, Y.; Nishino, H.; Enomoto, H.; Kawai, T. (1986): A double antibody radio-immunoassay for human alpha-(1)-microglobulin. *Clin. Chim. Acta* 155: 221-226
- Ellis, D.; Buffone, G.J. (1977): New approach to evaluation of proteinuric states. *Clin. Chem.* 23: 666-670
- Schmitt, Y.; Schneider, H. (1988): Die Ausscheidung der Plasmaproteine Albumin, Transferrin, Immunglobulin G (IgG) und retinolbindendes Protein (RBP) im Urin gesunder Testpersonen zur Ermittlung von Referenzwerten. *Nieren- und Hochdruckkrankheiten* 17: 512-516
- Houser, M.T. (1984): Assessment of proteinuria using random urine samples. *J. Pediatr.* 104: 845-848
- Marshall, S.M.; Hackett, A.; Court, S.; Parkin, M.; Alberti K.G.M.M. (1986): Albumin excretion in children and adolescents with insulin-dependent diabetes. *Diabetes Res.* 3: 345-348
- Howey, E.A.J.; Browning, M.C.K.; Fraser, C.G. (1987): Selecting the optimum specimen for assessing slight albuminuria, and a strategy for clinical investigation: novel uses of data on biological variation. *Clin. Chem.* 33: 2034-2038

Anschrift für die Verfasser:

Dr. Martin Kirschstein
Klinik für Pädiatrie, Medizinische Universität Lübeck
Kahlhorststraße 31-35
23558 Lübeck