

Mikroalbuminüri ve Klinik Önemi

Dr.Ahmet KURAL*

Dr.A.Mithat BOZDAYI*

Uzm.Ecz.Nalan KANTAROĞLU*

İdrar analizi ikibin yıldan beri tıpta önemli bir tanı aracı olarak kullanılmaktadır. İdrarda protein görülmesinin bir hastalık belirtisi olduğu birkaç yüzyıldan beri bilinmekle beraber, proteinüri ondokuzuncu yüzyılın ilk yarısından beri böbrek bozukluğunun bir belirleyicisi olarak kabul edilmiştir (1). Bugün ise idrar proteinlerinin kalitatif ve kantitatif analizleri birçok renal hastalığın seyri ve ağırlığı konusunda bilgi veren önemli tanı araçları olarak kullanılmaktadır. Son yirmi yılda, rutin laboratuvar teknikleri ile kolayca ölçülemeyen, ancak normalin üzerinde idrara çıkan protein miktarı (subklinik proteinüri, mikroalbuminüri) hakkında gittikçe artan bir ilgi söz konusudur (2).

Proteinürinin Mekanizmaları

Glomeruler hasarın ne yolla proteinüriye sebep olduğunu anlamak için, ileri derecede özelleşmiş bu kapillerlerin filtrasyon karakteristiklerini gözden geçirmek gerekir.

Molekül ağırlığı inulin kadar (M.VV.-5000 Dalton) veya daha küçük olan maddeler, kapiller duvarı suya benzer şekilde serbest olarak geçerler. Plazma proteinlerinin molekül ağırlığı arttıkça, glomeruler membrandan geçişleri giderek azalır. Normalde IgM (CM.VV.900000) gibi yüksek molekül ağırlıklı maddeler glomerular filtratta sadece eser miktarlarda bulunurlar. Albumin (M.W. 60000) gibi relatif olarak daha küçük molekül ağırlıklı maddeler yüksek plazma konsantrasyonları nedeni ile biraz daha fazla miktarda idrara geçerler. Molekül ağırlıkları 15000-40000 arasında olan proteinler glomerulden daha kolay geçebilmelerine rağmen, plazmada daha düşük konsantrasyonlarda buldukları için idrara da daha az oranda çıkarlar. Ayrıca, ultrafiltrata geçen albumin, tubulus hücreleri tarafından hemen hiç emilmediği halde, düşük molekül ağırlıklı proteinler proksimal tubullerde aktif olarak geri emilirler ve katabolize edilirler (3).

Micropuncture teknikleri ile elde edilen glomeruler ultrafiltrat örneklerindeki albumin konsantrasyonu 1 mg/dl'ye yaklaşır. Plazma albumin konsantrasyonu ise

3-4 g/dl arasındadır. İnulin veya ondan daha küçük moleküllerin ise plazma ve glomerular ultrafiltratta benzer konsantrasyonda bulunduğu görülmüştür. Bu çalışmalarda elde edilen bilgiler ışığında yapılan teorik hesaplamalar, normal glomerul kapiller duvarının 50-55 A çapında delikler içeren izopor bir filtre gibi davrandığını göstermektedir. Yine aynı teknikle yapılan araştırmalarda, benzer molekül büyüklüğündeki anyonik (izoelektrik nokta < 7.4) veya katyonik (izoelektrik nokta > 7.4) proteinlerden, anyonik olanlara karşı glomerul kapiller membranında daha büyük bir engelleme olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu glomerul kapiller duvarında elektrostatik bir bariyerin varlığının bir delilidir (4).

Ayrıca hemodinamik bazı kuvvetler de albumin gibi makromoleküllerin glomerul kapiller duvarından geçişini etkiler. Tablo 1'de glomerul bariyerinde etkili faktörler özetlenmiştir.

Normal idrarın protein bileşimi yaklaşık %40-60 albumin, %40 Tamm-Horsfall proteini (uromucoid), %15 immunoproteinler (IgG, IgA) ve %5-10 düşük molekül ağırlıklı proteinlerden [ρ_2 -mikroglobulin (M.W. 11800), lizozim (M.W. 14500), retinol-binding protein (M.W. 21000) α_1 -mikroglobulin (M.W. 27000), α_1 -asit glikoprotein (M.W. 40000) ve bir çok polipeptid yapıda hormon ve enzimler] oluşmaktadır (3,5).

Proteinüri genellikle orijinine göre glomeruler ve tubuler olarak sınıflandırılır. Glomerular proteinüride, filtrasyon bariyerindeki defektlere sekonder olarak glomerul kapiller duvar geçirgenliği değişmiş ve makromole-

Tablo 1. Glomerul kapiller duvarından geçişi etkileyen faktörler

- * Büyük seçici bariyer
- * Elektriksel yük seçici bariyer
- * Hemodinamik kuvvetler
 - Afferent arterioler plazma akım oranı
 - Transkapiller hidrolik basınç gradyanı
 - Plazma onkotik basıncı
 - Ultrafiltrasyon katsayısı

* Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, ANKARA

küllerin glomerular filtrata geçişi artmıştır. Böyle bir durumda albumin idrara çıkan en belirgin proteindir. Bu sebeple de proteinüri ve albuminüri terimleri birbirlerinin yerine kullanılabilir. Albuminle birlikte İmmunglobulin G ve A'lar da anormal miktarda idrara çıkarlar. Tubuler proteinüri ise proteinlerin normal tübüler reabsorbsiyonundaki hasar sonucu, glomerular filtratın değiştirilememesi ile karakterizedir. Bu durumda normal olarak filtre edilen ve tekrar absorbe edilen daha küçük makromoleküllerin (Örneğin; pVMikroglobulin) idrara çıkışı artar.

Bu iki ana gruba ek olarak, proteinüriye sebep olan başka mekanizmalar da vardır. Normalde tubulusten reabsorbe edilen proteinlerin bazı hastalıklarda (Plazma hücre diskrazileri) plazmada yüksek konsantrasyonlara ulaşması sonucu filtrasyon yükünün artması ve reabsorbsiyon kapasitesinin aşılması ile bunların idrara çıkışı artmıştır (overflow) ya da üriner sistemdeki bir enfeksiyon nedeniyle IgA sekresyonu aitmiş ve postrenal (sekretuar) proteinüri ortaya çıkmıştır (3). Tablo 2'de proteinürinin oluşum mekanizmasına göre tipleri özetlenmiştir.

Tablo 2. Proteinürinin mekanizmaları

Proteinürinin tipi	Mekanizması	Örnek
Glomeruler	↑ permeabilite	Albumin, IgG
Tubuler	↓ reabsorbsiyon	β ₂ -mikroglobulin
Overflow	↑ plazma konsant. ↓ reabsorbsiyon	Ig hafif zinciri
Postrenal	Enfeksiyon	IgA

Mikroalbuminürinin Tanımı

1963 yılında, idrarda düşük konsantrasyonlarda albumini belirleyebilen ilk RIA yöntemi geliştirilmiş, "Mikroalbuminüri" terimi de yine ilk kez 1982 yılında "Guy's Hospital, Londra" da, bu yöntemi geliştiren grup tarafından ortaya atılmıştır (2,6). Standart laboratuvar teknikleri ile belirlenebilen miktar olan 200 mg/l'nin altında, fakat normal atılım miktarının üzerinde (>30 mg/l) albuminin idrara çıkması mikroalbuminüri olarak tarif edilmektedir (2,5).

Biyokimyada, "micro"™ ve "macro" ön-ekleri (prefix) bir molekülün büyüklüğünü ya da hacmini tanımlamak üzere kullanılmaktadır. "Mikroalbuminüri" teriminin idrarda bulunan bir cins proteini tanımladığı şeklinde yanlış bir algılamaya sebep olduğu, bunun yerine bir maddenin çok küçük miktarını ya da düşük konsantrasyonlarını belirtmek üzere kullanılan latince "pauci" ön-eki (pauci albuminuria) (7) veya ingilizce (slight albuminuria), (5) terimleri önerilmiştir.

Mikroalbuminürinin Klinik Önemi

Proteinüri tipinin belirlenebilmesi ve bazı hastalıklarda daha sonra ortaya çıkabilecek nefropatinin er-

ken tanısı ve takibi, bu sayede de nefropatinin önlenmesi için mikroalbuminüri tayini önem taşımaktadır.

İlk kez 1982 yılında Viberti ve ark. tarafından mikroalbuminürinin klinik diyabetik nefropatinin erken belirleyicisi (predictor) olduğu bildirilmiştir. Bu grup 1966-67 yılları arasında idrar albumin miktarını ölçtükleri 87 tip 1 diyabetik hastadan 63'ünü 14 yıl sonra yeniden değerlendirdiğinde, bunlarda klinik diyabetik nefropati (Albus-tix-pozitif proteinüri) gelişimi ile. 1966-67 yılları idrarla albumin atılım oranları arasında yakın bir ilişki bulunmuştur (8). Daha sonra Mogensen ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmalarla da tip 1 diyabetiklerde, mikroalbuminürinin diyabetik nefropati gelişimini önceden tanımayaya olanak verdiği bildirilmiştir (9).

Yine Mogensen tarafından 1987 yılında, diyabetik nefropatinin gelişim aşamalarını tanımlamak üzere beş basamaktan oluşan bir evreleme sistemi önerilmiştir. Buna göre her bir evrenin ana karakteristikleri özetle necek olursa. Evre-1'de; böbrek büyüklüğünde artışla birlikte glomerul hipertrofisi ve hiperfonksiyonu vardır. Bu durum tip 1 diyabetin teşhisi esnasında mevcuttur; insülin tedavisi ve glisemik kontrol ile düzeltilebilir. Evre-2 "sessiz dönem"dir; özellikle glomerulde olmak üzere renal ieyonların geliştiği, fakat idrarla albumin atılımının normal olduğu dönemdir. Evre-3; mikroalbuminüri ile karakterize, başlangıç halinde nefropati safhası olarak değerlendirilmiş ve bu safhanın belirgin nefropatinin gelişimi için büyük bir riskin varlığını gösterdiği bildirilmiştir. Evre-4; belirgin (klinik) nefropati dönemidir. Proteinüri, hipertansiyon ve glomeruler filtrasyon oranında düşükle birlikte. Evre 5 ise son safha böbrek yetmezliğine uyar Gelişebilecek nefropatiyi önlemede veya geciktirmede en büyük faydanın mikroalbuminürik safhada (Evre-3) sağlanabileceği bildirilmiştir (2).

Mikroalbuminürinin, tip 1 diyabetiklerde olduğu gibi, tip 2 diyabetiklerde de daha sonra ortaya çıkabilecek klinik proteinürinin ve yüksek mortalitenin erken belirleyicisi olduğu gösterilmiştir (10).

Glycosylated hemoglobin değerleri kullanılarak normal albuminüri ve mikroalbuminüri tip 1 diyabetik hasta grupları karşılaştırılmış ve mikroalbuminüri hastalarda glisemi kontrolünün de bozuk olduğu ortaya çıkartılmıştır (11).

Bu iki bilginin ışığında, mikroalbuminürisi olan tip 1 diyabetiklerde iyi bir glisemi kontrolü ile, daha sonra ortaya çıkabilecek nefropatinin önlenebilirliği Rasmussen ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmada başlangıçta klinik nefropatisi olmayan (Albus-tix negatif) mikroalbuminüri 36 tip 1 diyabetik hasta iki yıl boyunca takip edilmiş, hastalardan bir gruba klasik insülin tedavisi uygulanırken, diğerlerine sürekli subkutan insülin infüzyon pompası uygulanarak iyi bir glisemi kontrolü sağlanmıştır, iki yıl sonunda yapılan istatistiksel değerlendirmede sıkı metabolik kontrolün mikroalbuminüri üzerine olumlu etkisi olduğu, iyi kontrol edilen gruptan hiç bir hastada klinik proteinüri gelişmediği halde klasik

tedavi uygulanan gruptan boş hastada belirgin proteinin görülmüştür (12). Benzeri bir çalışmada tip 1 diyabetiklerde yapılmış ve iyi bir diyabet kontrolünün üzerine

Mikroalbuminüri ile ilgili e yönelik çalışmaların hemen hepsinde diyabetik hastalar seçilmiştir. Mikroalbuminürinin erken diyabetik nefropatinin bir belirleyicisi ve bunun ardından ileride gelişebilecek klinik nefropatinin önceden habercisi olduğunun gösterilmesinden sonra diyabetik nefropatinin tedavi stratejisi de değişmiş bulunmaktadır. Bu gerçeklerin ortaya çıkartılmasından önce klinik diyabetik nefropatinin ilerleyişinin yavaşlatılmasına yönelik çabalar harcanırken, şimdi bir çok klinik çalışma erken diyabetik nefropatinin geri çevrilmesine, hatta hiç oluşmadan önlenmesine yöneliktir.

Bir spesifik tromboksan sentetaz inhibitörünün uzun süreli verilmesi, tip 1 diyabetiklerde mikroalbuminürinin belirgin bir biçimde azalmasına neden olmaktadır (14). Yine diyabetiklerde Dipiridamol verilmesi idrarla albumin atılım oranlarını olumlu yönde etkilemiştir (15).

Bu ilaçların hangi mekanizmalarla proteinürüri olumlu yönde etkiledikleri belli olmamakla birlikte; bu ilaçlar sayesinde protein geçişinin azaltılması kapiller bariyer kapasitesindeki bir iyileşmeyi göstermekte ve dolay olarak idrarla albumin atılımı azaltan faydanın bir belirleyicisi olmaktadır (4). Buna ek olarak, bazı yazarlara göre protein geçişi bizzat kendisi doğrudan veya dolaylı olarak glomerular hasara neden olmaktadır (16). Eğer bu görüş doğru ise ilaçlarla azaltılmış geçirgenlik fayda sağlayacaktır.

Bütün bu bulgular mikroalbuminüri tayininin diyabetiklerde yalnızca nefropatinin tanı ve takip yöntemi olarak değil, aynı zamanda tedavinin takibi yönünden de iyi bir araç olduğunu göstermektedir.

1987 yılında, 2890 tip 1 diyabetik hasta üzerinde yapılan bir çalışmada proteinürisi olan hastalarda kardiyovasküler hastalıklardan ölüm oranı genel populusyona göre 37 kez fazla bulunmuşken, proteinürisi olmayan hastalarda bu oran genel populasyona göre sadece 4.2 kez yüksek bulunmuştur (17). Yine 982 tip 1 diyabetik hastada mikroalbuminüri, arteryel hipertansiyon, retinopati ve nöropati prevalansının araştırıldığı bir çalışmada; mikroalbuminüri sıklığı arttıkça bu komplikasyonların görülme sıklığının da arttığı gösterilmiştir (18).

Mikroalbuminüri tayininin ilk uygulamaları ¹diabetes mellitus üzerinde olmuşsa da, esansiyel hipertansiyonda bozulmuş renal fonksiyonel rezervin (19) ve kardiyovasküler hasarın (20) belirlenmesinde, diffüz psoriasis'te renal hasarın erken belirlenmesinde (21), akut pankreatit'in şiddetinin önceden belirlenmesinde (22) ve akut miyokard enfarktüsünü takiben erken bir cevap olarak (23) da mikroalbuminüri tayini önerilmiştir. Ayrıca, renal transplantasyon sonrası proteinüri takibi ve proteinürinin tipinin tanımlanması ile akut rejeksiyon

krizlerinin ayırt edilerek greft fonksiyonu değerlendirilebilir (24-26).

Mikroalbuminüri Tayini İçin İdrar Toplama Yöntemleri

Klinik önemi gittikçe artan mikroalbuminürinin doğru olarak tayini büyük önem taşımaktadır. Bu bakımdan mikroalbuminürinin normal sınırlar içinde mi yoksa patolojik mi olduğuna karar verebilmek için doğru idrar örneğinin alınması çok önemlidir. Literatürde seçilecek idrar örneğinin hangisi olabileceği konusunda pekçok görüş vardır. Gece boyunca belirli bir zamanda toplanan idrar örneğini (8,10), 24 saatlik idrar örneğini (9,12), herhangi tek işeme idrar örneğini (27) mikroalbuminüri tayini için öneren yazarlar vardır. Son zamanlarda geçerlilik kazanan ve bazı araştırmalarla da desteklenen görüş, 24 saatlik idrar örneği toplamanın uygulanması zor olan bir işlem olduğu, pekçok hatayı beraberinde taşıdığı, bunun yerine kreatininle düzeltilmiş tek işeme idrar örneğinin kullanılmasının daha uygun olacağı yolundadır, idrarla günlük kreatinin atılımı her hasta için hemen hemen sabit olduğundan ve tek bir işemeye ait idrar örneğindeki protein atılımına standart bir anlam kazandıracağından mikroalbuminürinin değerlendirilmesinde albumin/kreatinin (A/K) oranının kullanılması önerilmektedir (28-33).

Tip 1 diyabeti olan 292 hastada 24 saatlik, 4 saatlik (sabah 8-12 arası) ve tüm gece toplanan idrar örnekleri incelenmiş, gece idrar toplama yöntemi ile karşılaştırıldığında, 4 saatlik idrar toplama yönteminin (A/K oranı kullanıldığında), benzer spesifikite ve prediktif değere sahip olmanın yanında daha yüksek bir sensitivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu verilere dayanarak, sabah ilk idrarın dışarı atılmasını takiben alınacak sabah idrarında A/K oranı tayini, tip 1 diyabetik hastalarda mikroalbuminürinin takibi açısından yeterli bulunmuştur (32). Bu oranın doğruluğunu göstermek üzere yapılan bir başka çalışmada 24 saatlik idrar örnekleri ile, kreatinin ile düzeltilmiş tek işeme idrar örnekleri arasında büyük bir korelasyonun varlığı bulunmuştur. Yine aynı çalışmada alınacak idrar örneğinden önceki 24 saat içerisinde hastanın egzersiz yapmamış olmasına dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (28).

Mikroalbuminüri tayininde kullanılacak idrar örneğinin taze olması tercih edilir. Ancak, örneklerin biriktirilerek bekletilmesi gerektiği durumlarda bu örneklerin nasıl saklanacağı ve analiz öncesi nasıl bir hazırlığa tabi tutulması gerektiği konusunda da birçok çalışma vardır. Bunların bir kısmı idrarın -20 °C'de depolanmasının idrar albumin miktarında önemli bir azalmaya yol açmadığını savunurken (28,34,35), araştırmaların çoğu, dondurulan örneklerde albumin konsantrasyonunun belirgin biçimde azalmaya yol açtığını ortaya koymuştur (36-39). Örneklerin dondurulmak yerine +4 °C'de sekiz haftaya kadar depolan-

masının da idrar albumin sonuçlarını belirgin bir biçimde etkilemediği bildirilmiştir (39).

İdrarda Albuminin Referans Değerleri

İdrarda albumin miktar tayini sonucunda, normal ve patolojik albuminüri değerlerinin saptanmasında yakın zamana kadar, zamanlanmış (4, 8 veya 24 saatlik) idrar örnekleri toplanarak, buradan idrarla albumin atılım hızı (AER) hesaplanmakta idi. Bu çalışmalara göre idrarla albumin atılım hızı için 30 ug/dakika'nın üzeri patolojik olarak kabul edilirken, 30-300 ug/dakika arasındaki albumin atılım hızları da mikroalbuminüri sınırları olarak kabul edilmiştir (2,9,11,12,18,29).

Son zamanlarda ise, patolojik ve normal idrar albumin değerlerinin ayırt edilmesinde A/K oranını kullanmanın daha değerli olacağı kabul edilmektedir (28,32,33). Hem A/K oranının, hem de AER'nin hesaplandığı geniş çaplı bir çalışmada elde edilen normal değerler Tablo 3'de gösterilmiştir. Bu çalışmada 127 sağlıklı gönüllüden, gece boyunca-yatar pozisyonda (GY) ve gün boyunca-ayakta (GA) toplanan idrar örnekleri ayrı ayrı değerlendirilmiştir (30).

80 sağlıklı kişi ile yapılmış bir başka çalışma ile gündüz alınan tek işeme idrar örneklerinde normal referans değerleri <0.2-2.8 mg/mmol olarak sunulmuştur (34). Bu iki çalışmanın sonuçları birbiri ile uyumlu gözükmektedir. Ancak, gündüz-ayakta alınan idrar örnekleri ile elde edilen normal sınırlar gece-yatar pozis-

Tablo 3. Gece-yatar pozisyonda (GY) ve gündüz-ayakta (GA), sağlıklı kişilerdeki idrar albumin atılımı (n-127)

İdrar toplama şekli	Albumin atılım değişkeni	Geometrik ortalama	%95'lik aralık
GY	U _s	3.9	0.9—16.2
GY	U _a /U _c	0.4	0.1—1.0
GY	U _s /V	3.2	1.2—8.6
GA	U _a	5.1	0.9—29.6
GA	U _a /U _c	0.6	0.1—2.3
GA	U _a /V	4.5	1.0—9.1

U_a - albumin konsantrasyonu (mg/l)
U_a/U_c " albumin/kreatinin oranı (mg/mmol)
U_a/V - albumin atılım oranı (AER) (yg/dakika)

yonda elde edilen değerlere göre kısmen daha yüksektir.

Referans değerlerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların çoğunda kadın ve erkek grupları arasında mikroalbuminüri değerleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (5,30,34).

Mikroalbuminüri Tayin Yöntemleri

İdrardaki fazla miktardaki proteini belirlemede "dipstick" ler yaygın olarak kullanılmaktadır. Rutin analizlerde kullanılan bu dipstick'ler ancak mikroalbuminüri sınırı üzerindeki idrar albumin seviyelerini (>200 mg/l) belirleyebilirler. Mikroalbuminüri içerisindeki albuminüriyi belirleyebilen Mikrobunin-test tabletleri (40), Albustiks, Albusure (41), Albuscreen (42) gibi pratik ve albumine özgü olduğu bildirilen tayin yöntemleri de vardır. Bunlar, tip 1 ve tip 2 diyabetiklerde nefropati gelişim riskini önceden haber verebilmelerine rağmen, mikroalbuminüri hakkında kantitatif bilgiler vermediklerinden hastaların takibi ve tedavinin yönlendirilmesi açısından yeterli değildirler. Sadece hastanın nefropati yönünden daha ciddi takibe ihtiyacı olduğunu göstermeleri açısından faydalıdır.

İdrardaki proteinlerin cinslerinin ve orijinlerinin tayini konusunda, kağıt elektroforezi (43,44), poliakrilamid jel elektroforezi (45) gibi elektroforez teknikleri kullanılmıştır. Bu teknikler, idrarda 40 ya da daha fazla cinsi bulunduğu bildirilen proteinlerin cinslerini ayırmada etkili olmakla birlikte, bazı özel proteinlerin kesin miktar tayinlerinde yeterli değildirler. Diğer bazı proteinlerden dolayı, albumin gibi proteinlerin miktar tayininde %10-20 civarında bir hata meydana gelmektedir (46).

İdrarda bulunan özel bazı proteinlerin miktarları hakkındaki en iyi bilgiler "İmmunoassay"ler ile elde edilebilir. Bu yöntemler oldukça spesifik ve sensitiftir. Mikroalbuminüri tayini için litrede birçok immunoassay idrar albuminini tesbit edebilen birçok immunoassay yöntem tarif edilmiştir [radio-immunoassay (RIA) (6,34), enzim immunoassay (ELISA) (47,48), radial immunodiffusion (RID) (49), immunoturbidimetricassay (50), immunonephelometry (51), chemiluminescence immunoassay (52)]. Bunlardan RIA metodu uzun süredir kullanılan ve yerleşmiş bir metodur. Mikroalbuminüri çalışmalarının çoğunda bu metod kullanılmıştır ve referans metod olarak kabul edilmektedir (49).

KAYNAKLAR

- White IW. A new look at the role of urinalysis in the history of diagnostic medicine. Clin Chem 1991; 37(1):119-25.
- Mogensen CE. Microalbuminuria as predictor of clinical diabetic nephropathy. Kidney Int 1987; 31:673-89.
- Siverman LM, Christenson RH, Grant GH. Amino acids and proteins. In: Tietz NW. Textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1986; s:602-4.
- Kaysen GA, Myers BD, Couser WG, Rabkin R, Felts JM. Biology of disease, mechanisms and consequences of proteinuria. Lab Invest 1986; 54(5):479-98.
- Jung K, Nickel E, Pergande M. A microalbuminuria assay using bromphenol blue. Clin Chim Acta 1990; 187:163-72.
- Keen H, Chlouverakis C. An immunoassay method for urinary albumin at low concentrations. Lancet 1963; ii:913-4.

7. Trivin F, Giraduet P. "Microalbuminuria" or "Pauci-albumin-uria"? Clin Chem 1988; 34(1):209-10. Letter to the editor.
8. Viberti GC, Jarrett RJ, Mahmud U, Hill RD, Argyropoulos A, Keen H. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. Lancet 1982; 430-32.
9. Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. N Engl J Med 1984; 311(2):89-93.
10. Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. N Engl J Med 1984;310(6):356-60.
11. Wiseman M, Viberti G, Machintosh R, Jarrett RJ, Keen H. Glycemia, arterial pressure and micro-albuminuria in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia 1984; 26:401-5.
12. Feldt-Rasmussen B, Mathiesen ER, Deckert T. Effect of two years of strict metabolic control on progression of incipient nephropathy in insulin-dependent diabetes. Lancet 1986; 2:1300-04.
13. Schmitz A, Hansen HH, Christensen T. Kidney function in newly diagnosed type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients, before and during treatment. Diabetologia 1989; 32:434-9.
14. Barenett AH, Leatherdale BA, Polak A, Toop M, Wakelin K, Britton JR, Bennett J, Rowe D. Specific thromboxane synthetase inhibition and albumin excretion rate in insulin-dependent diabetes. Lancet 1984; i1:1322-24.
15. Aizawa T, Suzukis, Asawa T, Komatsu M, Shlgematsu S, Okada N, Katakura M, Hiramatsu K, Shinoda T, Hashizume K, Takasu N, Yamada T, Masoka Y, Mlmura M, Takahashi H, Shlmizu K, Honda Z. Dipyridamol reduces urinary albumin excretion in diabetic patients with normo-or microalbuminuria. Clin Nephrol 1990; 33(3):130-5.
16. Williamson JR, Kilo C. Current status of capillary basement membrane disease in diabetes mellitus. Diabetes 1977; 26(1):65-75.
17. Johnsen-Borch K, Kreiner S. Proteinuria: value as predictor of cardiovascular mortality in insulin dependent diabetes mellitus. British Medical Journal 1987; 294:1651-54.
18. Parving HH, Hommel E, Mathiesen E, Skott P, Edsberg B, Bahnsen M, Lauritzen M, Hougaard P, Lauritzen E. Prevalence of microalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and neuropathy in patients with insulin dependent diabetes. British Medical Journal 1988; 296:156-60.
19. Losito A, Fortlnati F, Zamp I, Favero DA. Impaired renal functional reserve and albuminuria in essential hypertension. British Medical Journal 1988; 296:1562-64.
20. Cerasola G, Cottone S, D'Ignoto G, Grasso L, Mangano MT, Carapelle E, Nardi E, Andronico G, Fulantelli MA, Marcellino T, Seddio G. Micro-albuminuria as a predictor of cardiovascular damage in essential hypertension. Journal of Hypertension 1989; 7 (Suppl 6):S332-S3.
21. Madeddu P, Ena P, Giorloso N, Cerimele D, Rapelli A. High prevalence of microproteinuria, an early index of renal impairment, in patients with diffuse psoriasis. Nephron 1988; 48:222-5.
22. Shearman CP, Gosling P, Walker KJ. Is low proteinuria an early predictor of severity of acute pancreatitis? J Clin Pathol 1989;42:1132-35.
23. Gosling P, Hughes EA, Reynolds TM, Fox JP. Microalbuminuria is an early response following acute myocardial infarction. European Heart Journal 1991; 12:508-13.
24. Sethi K, First MR, Pesce JP, Fidler JP, Pollak VE. Proteinuria following renal transplantation. Nephron 1977; 18:49-59.
25. Woo J, Floyd M, Cannon DC. Albumin and p2-microglobulin radioimmunoassays applied to monitoring of renal allograft function and in differentiating glomerular and tubular diseases. Clin Chem 1981; 27(5):709-13.
26. Vathsala A, Verani R, Schoenberg L, Lewis RM, Van Buren CT, Kerman RH, Kahan BD. Proteinuria in cyclosporine-treated renal transplant recipients. Transplantation 1990; 49(1):35-41.
27. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. N Engl J Med 1983; 309(25):1543-46.
28. Nathan DM, Rosenbaum C, Protasowicki VD. Single-void urine samples can be used to estimate quantitative microalbuminuria. Diabetes Care 1987; 10(4):414-7.
29. Dézier JF, Le Reun M, Prolrier JY. Intérêt et valeur du rapport albumine/créatinine urinaires dans le dépistage d'une microalbuminurie. Presse Méd 1988; 18:897-900.
30. Watts GF, Morris RW, Khan K, Polak A. Urinary albumin excretion in healthy adult subjects: reference values and some factors affecting their interpretation. Clin Chim Acta 1988; 172:191-8.
31. Rowe DJF, Szydlo MR. Which specimen to screen for microalbuminuria. Clin Chem 1988; 34(11):2393. Letter to the editor.
32. Ellis D, Coonrod BA, Dorman JS, Kelsey SF, Becker DJ, Avner ED, Orchard TJ. Choice of urine sample predictive of microalbuminuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. American Journal of Kidney Diseases 1989; XIII(4):321-8.
33. Abitol C, Zilleruelo G, Freudlich M, Strauss J. Quantitation of proteinuria with urinary protein/creatinin ratios and random testing with dipsticks in nephrotic children. J Pediatr 1990; 116:243-7.
34. Silver A, Danway A, Landon J, Cattell WR. Immunoassays for low concentrations of albumin in urine. Clin Chem 1986; 32(7):1303-06.
35. Glampietro O, Clerico A, Cruscheili L, Penno G, Navalesi R. Microalbuminuria in diabetes mellitus: more on urine storage and accuracy of colorimetric assays. Clin Chem 1989; 35(7):1560-62. Letter to the editor.

36. Ermari A, Rabinov M, Rosenfeld J. Albumin determination in frozen urines-underestimated results. *Clin Chim Acta* 1988; 174:255-62.
37. Lamb E, Danway A. Effects of sample preparatin and storage on urine albumin determination. *Ann Clin Biochem* 1989;26:560-2.
38. Elwing LD, Bakkeren JAJM, Jansen MJH, de Kat Angelino CM, de Nobel E, van Munster PJJ. Screening for microalbuminuria in patients with diabetes mellitus. Frozen storage of urine samples decreases their albumin content. *Clin Chem* 1989; 35(2):308-10.
39. Osberg I, Chase HP, Garg SK, De Andrea A, Harris S, Hamilton R, Marshall G. Effects of storage time and temperature on measurement of small concentrations of albumin in urine. *Clin Chem* 1990; 36(8):1428-30.
40. Colins V, Zimmet P, Dowse GK, Finch CF, Linnane AW. Performance of "Micro-Bumintest" tablets for detection of microalbuminuria in nauruans. *Diabetes Res Clin Pract* 1989; 6(4):271-7.
41. Sawicki PT, Heinemann L, Berger M. Comparison of methods for determination of microalbuminuria in diabetic patients. *Diabetic Med* 1989; 6(5):412-5.
42. Dezier JF, Calen P. Evaluation of a qualitative test for the demonstration of microalbuminuria. *Pathol Biol* 1989; 37(1):77-80.
43. Butler EA, Flynn FV. The proteinuria of renal tubuler disorders. *Lancet* 1958; i:978-80.
44. Perlmann GE, Tamm I, Horsfall FL. An electrophoretic examination of a urinary mucoprotein which reacts with various viruses. *J Exp Med* 1952; 95:99-104.
45. Pesce AJ, Hsu A, Kornhauser C, Sethi K, Ooi BS, Pollak VE. Method for measurement the concentration of urinary proteins according to their molecular size category. *Clin Chem* 1976;22(5):667-72.
46. Pesce AJ. Methods used for the analysis of proteins in the urine. *Nephron* 1974; 13:93-104.
47. Fielding BA, Price DA, Houlton CA. Enzyme immunoassay for urinary albumin. *Clin Chem* 1983; 29(2):355-7.
48. Feldt-Rasmussen B, Dinesen B, Decker M. Enzyme Immunoassays: an improved determination of urinary albumin in diabetics with Incipient nephropathy. *Scand J Lab Invest* 1985; 45:539-44, 22
49. Watts GF, Bennet JF, Rowe DJ, Morris RW, Gatling W, Shaw KM, Polak A. Assesment of Immunochemical methods for determining low concentrations of albumin in urine. *Clin Chem* 1986; 32(8):1544-48.
50. Paloheimo L, Pajari-Backas M, Pitkanen E, Melamies I, Rissanen R. Evaluation of an immunoturbidimetric microalbuminuria assay. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25:889-92.
51. Stamp RJ. Measurement of albumin in urine by end-point immunonephelometry. *Ann Clin Biochem* 1988; 25:442-3.
52. Horton JK, Davies M, Woodhead JS, Weeks I. A rapid and sensitive method for estimating low concentrations of albumin in human urine. *Clin Chem Acta* 1989; 186:45-52.