

## Die quantitative Analyse von Markerproteinen im Urin

### Quantitative analysis of marker proteins in urine

**Axel Regeniter<sup>1,\*</sup>, André Scholer<sup>1</sup> und Werner H. Siede<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Departement Zentrallaboratorium, Kantonsspital Basel, Basel, Schweiz

<sup>2</sup> Institut für Laboriums- und Transfusionsmedizin, Klinikum Lippe Lemgo, Lemgo, Deutschland

#### Zusammenfassung

Die Analyse von spezifischen Proteinen im zweiten Morgenurin, bezogen auf den Kreatiningehalt der Probe, erlaubt heute nicht nur den Nachweis oder den Ausschluss von Nierenerkrankungen, sondern darüber hinaus auch die Differenzierung und Verlaufskontrolle von Nephropathien.

Störungen lassen sich aufgrund ihres Markerproteinprofils in solche mit hauptsächlich glomerulärem oder tubulärem Anteil und zusätzlich in weitere Untergruppen einteilen.

Im Zusammenhang mit den Teststreifenresultaten kann die Quelle einer Blutung mit spezifischen Quotienten näher eingegrenzt und Kontaminationen können von tatsächlichen renalen Proteinurien unterschieden werden.

Eine Plausibilitätsprüfung und Interpretation der erhaltenen Ergebnisse ist unbedingt erforderlich. Da eine Vielzahl von Regeln überprüft werden muss, ist eine Berechnung und Darstellung der Ergebnisse nur mit Hilfe von wissensbasierten Systemen in Kombination mit einer grafischen Befunddarstellung sinnvoll.

**Schlüsselwörter:** Albumin;  $\alpha_1$ -Mikroglobulin;  $\beta_2$ -Mikroglobulin; Expertensystem; Hämaturie; IgG; Leukozyturie; Nephropathie; Proteinurie; Retinol bindendes Protein; Transferrin.

#### Abstract

Analysis of specific urinary marker proteins, specifically related to their urinary creatinine content, has led to significant improvement not only in early detection and prevention of kidney and urinary tract disease, but also in prognostic and therapeutic monitoring.

\*Korrespondenz: Dr. med. Axel Regeniter, Departement Zentrallaboratorium, Kantonsspital Basel, Petersgraben 4, 4031 Basel, Schweiz  
Fax: +41 (0)61 265 4600  
E-mail: aregeniter@uhbs.ch

Using urinary marker protein profiles, which are of prognostic significance, renal diseases of both glomerular and tubular origin can be classified along with their respective subgroups.

Renal proteinuria can be distinguished from postrenal proteinuria (i.e., contamination) using dipstick results and specific marker protein quotients.

Due to the need for calculating large numbers of complex ratios and formulas, the combination of a knowledge-based system with a graphically oriented report form has proven to be most useful.

**Keywords:** albumin;  $\alpha_1$ -microglobulin;  $\beta_2$ -microglobulin; expert system; hematuria; IgG; leukocyturia; nephropathy; proteinuria; retinol binding protein; transferrin.

#### Einleitung

Im Routinelabor können heute zahlreiche Urinproteine quantitativ einfach bestimmt werden. Dies ermöglichte die Entwicklung von technisch ausgereiften Nephelometern in Kombination mit Reagenzien auf der Basis von monoklonalen Antikörpern. Damit entwickelte sich z.B. die Albuminbestimmung in wenigen Jahren von einem wenig empfindlichen Nachweis in der Urin-Elektrophorese zu einem präzisen quantitativen Test mit einer unteren Nachweisgrenze von etwa 4 mg/L und die Überwachung der Albuminausscheidung etablierte sich bei der Stoffwechselkontrolle diabetischer Patienten. Neben dem Albumin existieren jedoch zahlreiche weitere Markerproteine, die eine differenziertere Beurteilung einer Nierenschädigung ermöglichen (Übersicht bei Hong [1]). Dies erklärt sich aus der Nierenphysiologie. Die kleinste strukturelle Einheit der Niere bildet das Nephron. In dessen glomerulärem Anteil findet die Primärharnbildung statt. Die glomeruläre Basalmembran, durch die der Primärharn gepresst wird, wirkt als zweifacher Filter: Zum einen ist die Fenestrierung so eng, dass sie unter physiologischen Bedingungen nur kleinmolekulare Proteine durchlässt, zum anderen hält ihre negative Ladung gleichartig negativ geladene Proteine durch den Abstossungseffekt zusätzlich zurück (Anionenfilter). Es kann deshalb bereits zu einer Ausscheidung relativ großmolekularer glomerulärer Proteine (Albumin, Transferrin) nicht nur bei strukturellen, sondern auch schon bei funktionellen Veränderungen (= Ladungsverlust) der

Basalmembran kommen. Letztere sind zumindest teilweise reversibel. Das relativ große glomeruläre Markerprotein Albumin wird heute zur Stoffwechselkontrolle eines Diabetes benutzt, weil die Albuminkonzentration nicht nur einen direkten Rückschluss auf die diabetischen Nierenveränderungen, sondern auch auf Stoffwechselkontrolle, Stadium, Verlauf und Prognose der Grunderkrankung ermöglicht [2–5].

In dem auf das Glomerulus folgenden tubulären Anteil der Niere findet die Rückresorption der im Primärharn noch in großer Anzahl enthaltenen kleinmolekularen Proteine statt. Eine Überlaufproteinurie, wie sie zum Beispiel bei Myelompatienten gefunden wird, kann diese Transportmechanismen überlasten. Damit kommt es zu einer starken Ausscheidung von  $\kappa$ - oder  $\lambda$ -Ketten, ohne dass ursächlich eine Nierenerkrankung vorliegt. Diese „prärenale“ Proteinurie beruht damit nicht auf einer eingeschränkten Nierenfunktion.

Andererseits reagiert die tubuläre Rückresorption kleinmolekularer Proteine sehr empfindlich auf äußere Einflüsse, weil sie viel Energie benötigt. Substanzen (z.B. Cadmium, chronische Belastung z.B. bei Arbeitern in der metallverarbeitenden Industrie [6]), systemische Erkrankungen (Malaria [7]) oder Medikamente mit Nephrotoxizität (Antibiotika, z.B. Aminoglykoside [8]) führen zu einer gestörten Pinozytose und fehlendem Rücktransport kleinmolekularer Substanzen. Es kommt in Abhängigkeit von der Stärke der Schädigung zum Auftreten tubulärer Markerproteine im Urin ( $\alpha_1$ -Mikroglobulin, Retinol bindendes Protein,  $\beta_2$ -Mikroglobulin).

Auch fortschreitende, chronische Nierenerkrankungen können sich primär aus schlecht erkennbaren Läsionen des Tubulus oder des Tubulo-Interstitiums entwickeln. Nicht immer lässt sich die Ursache solcher Veränderungen ermitteln.

## Praktisches Vorgehen

Zur Messung der Proteinausscheidung wird häufig noch die 24-Stunden-Urinsammlung mit anschließender Bestimmung des Gesamtproteins vorgenommen. Nachteilig ist die unzuverlässige Durchführung der Urinsammlung, die nur selten und dann meist auch nur während eines stationären Aufenthaltes korrekt durchgeführt wird. Auf der Suche nach einer einfacher durchzuführenden Alternative etablierte sich die Messung der Proteinkonzentrationen aus dem zweiten Morgenurin. Werden diese auf die Kreatininkonzentration der Probe bezogen, sind die Werte vergleichbar mit 24-Stunden-Urin-Messungen, was mittlerweile durch eine Vielzahl von Publikationen dokumentiert wurde [9–12].

Im Serum hat sich die Methode nach Biuret zum Gesamtproteinnachweis fest etabliert. Bei den heutigen, sehr viel empfindlicheren Methoden zur Messung von Einzelproteinen und unserem heutigen Verständnis der Nierenphysiologie ist sie für die Proteinbestimmung im

Urin zu unempfindlich [13]. Eine Alternative bilden zum Beispiel die Benzethoniumchlorid- [14] oder auch die Pyrogallolrot-Methode [15], die auf den meisten Automaten adaptiert werden können. Ein besonderer Nachteil aller Proteinmethoden liegt jedoch in der sehr schlechten Erfassung von kleinmolekularen (= tubulären rückresorbierten) Proteinen. Ihre gemessene Konzentration, zum Beispiel diejenige der freien Leichtketten, beträgt nur etwa 40–70% der tatsächlichen Konzentration [15]. Die alleinige Totalproteinbestimmung ist deshalb nicht geeignet, eine *Bence-Jones-Proteinurie* oder eine renal-tubuläre Schädigung auszuschließen.

## Diagnostische Strategie

Die diagnostische Strategie ist in Abbildung 1 skizziert. Sie stellt die Stufendiagnostik (Screening, Differenzierung, Bestätigung) aller Proteinuriearten (glomerulär, tubulär, postrenal, prärenal) unter Berücksichtigung einer rationalen, kosteneffektiven Teststrategie dar.

Beim Screening werden Teststreifen zum Nachweis von Erythrozyten/Hämoglobin und Leukozyten eingesetzt. Zusätzlich wird das Gesamtprotein photometrisch bestimmt. Alle gemessenen Proteine werden auf den Kreatiningehalt der Probe bezogen. Liegt die Proteinkonzentration unter der oberen Referenzbereichsgrenze von 100–120 mg/g Kreatinin, kann eine diagnostisch relevante Proteinurie mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Dabei ist allerdings Voraussetzung, dass keine anderen Hinweise für eine renale Erkrankung oder Erkrankungen mit renaler Beteiligung vorliegen. Es muss besonders darauf hingewiesen werden, dass bei einer beträchtlichen Zahl von Patienten mit Risikofaktoren (z.B. Diabetes mellitus, Bluthochdruck) trotz normalem Gesamtprotein eine erhöhte Albumin- oder  $\alpha_1$ -Mikroglobulinkonzentration vorliegt. Bei diesen Patienten und auch bei allen Proben mit einer Gesamtproteinkonzentration zwischen 100–300 mg/g Kreatinin sollten die sensitivsten Marker der glomerulären und tubulären Funktion – Albumin und  $\alpha_1$ -Mikroglobulin – bestimmt werden. Ist eines dieser Proteine erhöht, sind weitere Marker zur vollständigen Differenzierung und Klassifizierung der Proteinurie erforderlich.

Bei Patienten mit einem Gesamtprotein von mehr als 300 mg/g Kreatinin kann dieser Initialschritt ausgelassen werden. Bei diesen Proben sind in der Regel mehrere Markerproteine erhöht. Transferrin und IgG sind die zusätzlichen Markerproteine für die weitere Differenzierung der glomerulären Proteinurie in die „selektive / nicht selektive“ Form. Retinol bindendes Protein und/oder  $\beta_2$ -Mikroglobulin unterscheiden die „inkomplette“ von der „kompletten tubulären Proteinurie“.

Bei Proben mit Hämaturie wird durch die Messung von  $\alpha_2$ -Makroglobulin eine postrenale Kontamination erkannt oder ausgeschlossen.

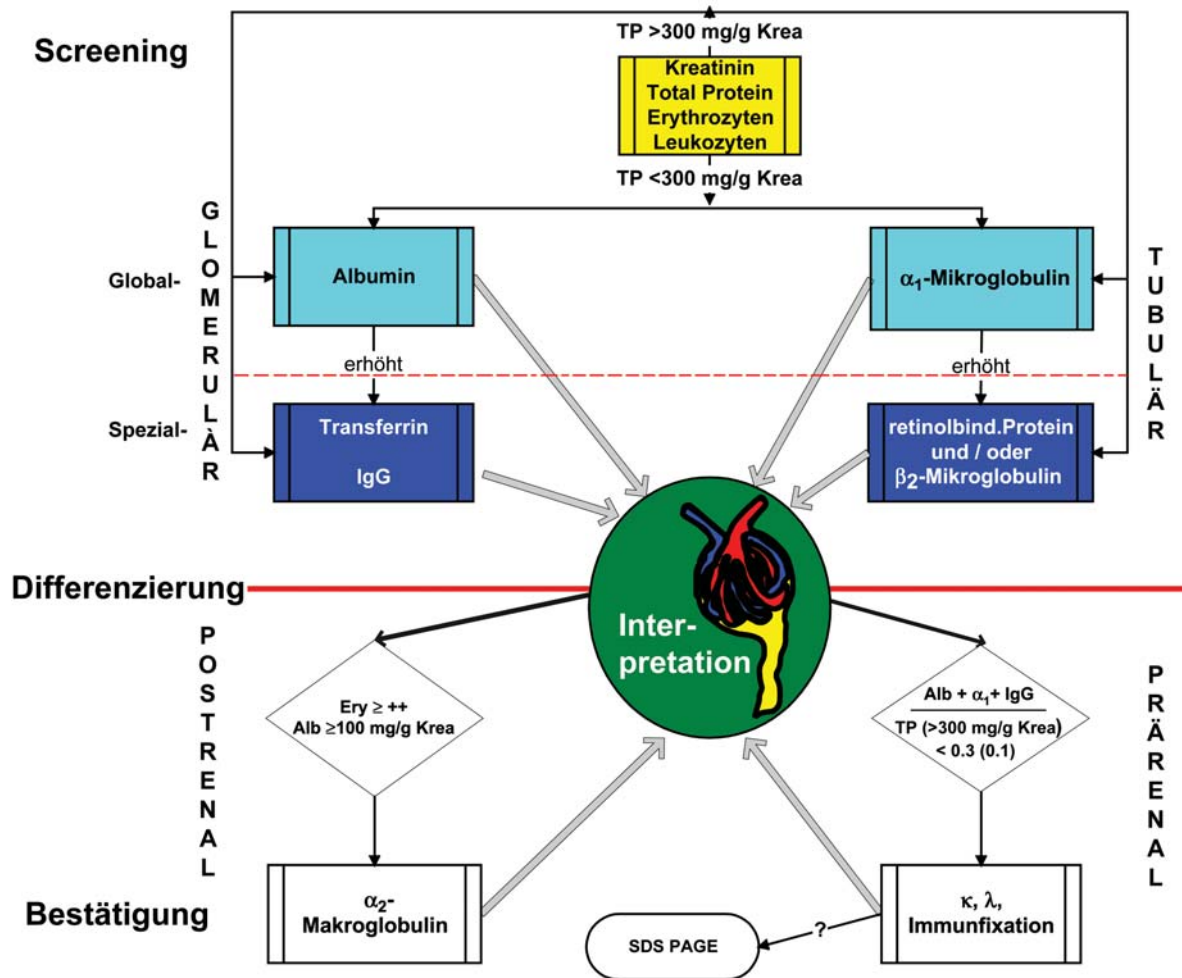


Abbildung 1 Diagnostische Strategie.

### Proteinmuster im Urin und Nierenschädigungen

Die differenzierte Betrachtung einzelner Urinproteine begann Mitte der siebziger Jahre mit der Einführung einer weitgehend automatisierten Methode zur molekulargewichtsbezogenen Auftrennung der Urinproteine (SDS-PAGE). Die durch sie erhaltenen Proteinmuster konnten in überwiegend glomeruläre oder tubuläre Muster eingeteilt und auch darüber hinaus differenziert werden. Kann man zum Beispiel neben Albumin (MG 67 kDa) und Transferrin (MG 90 kDa) auch IgG im Urin (MG 150 kDa) nachweisen, spricht man von einer „nicht selektiven“, alle Proteine umfassenden *glomerulären* Proteinurie. Bei einer „selektiven“ glomerulären Störung ist dagegen die glomeruläre Basalmembran noch teilweise funktionsfähig. Das großmolekulare IgG wird im Körper zurückgehalten und ist somit nicht oder nur in geringen Mengen im Urin nachweisbar. Ein solches Proteinmuster ist dann meistens mit einer besseren Prognose für die Patienten verbunden. Auf tubulärer Seite lassen sich in ähnlicher

Weise „komplette“ von „inkomplett tubulären“ Schädigungen abgrenzen. Boesken (siehe Artikel im gleichen Heft) korrelierte als erster die verschiedenen glomerulären und tubulären Muster mit verschiedenen Nierenerkrankungen [16–18] und auch mit der Nierenbiopsie [19]. Diese Muster wurden im Laufe der Zeit ergänzt [7].

Die in der SDS-PAGE sichtbaren Veränderungen berücksichtigen dabei hauptsächlich das Auftreten spezifischer Proteinmuster, ohne das Ausmaß der quantitativen Veränderungen zu beachten.

Die von Boesken [16] beobachteten Proteinurienmuster lassen sich mit der quantitativen Analyse von Einzelproteinen nachvollziehen [20–22]. Hofmann und Guder kombinierten die Teststreifenergebnisse von Leukozyten und Erythrozyten mit der Messung einzelner Urinproteine. Es gelang ihnen aufgrund der Quotienten (IgG/Albumin und  $\alpha_2$ -Makroglobulin/Albumin), eine renale von einer postrenalen Blutungsquelle abzugrenzen [23, 24]. Eine tubulo-interstitielle kann von einer glomerulären Hämaturie aufgrund des Verhältnisses  $\alpha_1$ -Mikroglobulin/Albumin differenziert werden [10]. Eine quantitative

**Tabelle 1** Marker-Proteine im Urin: Medizinische Indikationen.

–Proteinurie
–Mikrohämaturie
–Leukozyturie mit oder ohne Bakteriennachweis
–Normoglykämische Glucosurie
–Unklare Niereninsuffizienz mit oder ohne Proteinurie; Kreatinin i.S. > 115 $\mu\text{mol/L}$ (> 1,4 mg/dL)
–Hypertonie; “unklare Ödeme”
–Systemerkrankungen, bei denen eine renale Beteiligung häufig auftritt
–Diabetes mellitus
–Nephrotoxische Medikamente (nicht-steroidale Antirheumatika, ACE-Hemmer, Antibiotika, Zytostatika, Cyclosporin A, Röntgen-Kontrastmittel)
–Infektionen (Streptokokken, HBV, HIV, Malaria,...)
–Steinträger; Hypokaliämie; Hyperkalzämie; Hypophosphatämie
–EPH-Gestose
–Nierentransplantation (nach Scherberich)

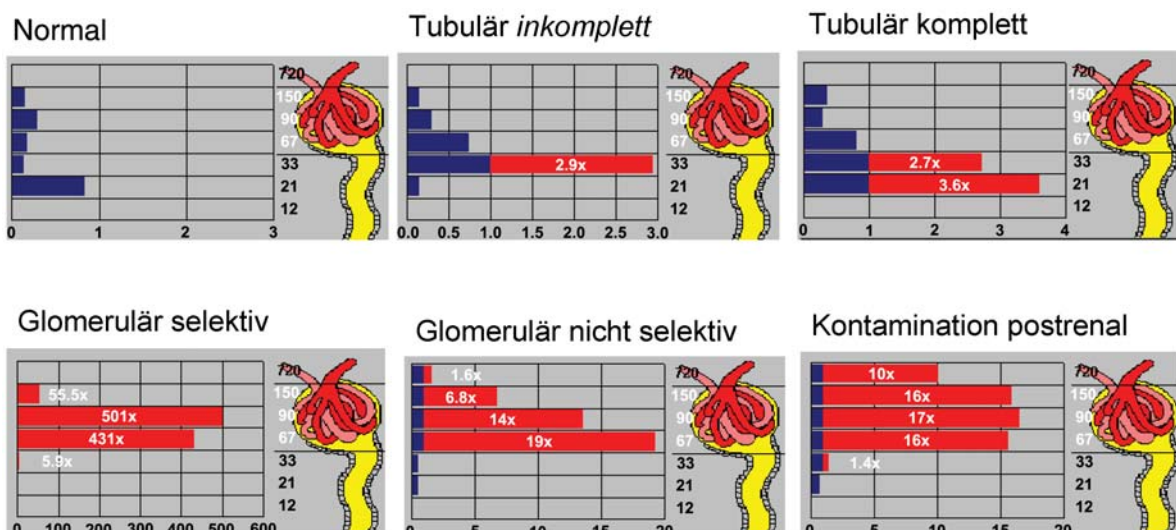
**Tabelle 2** Marker-Proteine im Urin: Klinische Anwendungen.

–Früherkennung von:
–Glomerulären Proteinurien ( <i>Mikroalbuminurie</i> )
–Diabetes mellitus
–Hypertension
–Systemische rheumatische Erkrankungen
–EPH-Gestose
–Tubulären Proteinurien
–Primär tubuläre Nierenerkrankungen
–Nephrotoxizität von Medikamenten
–Prärenalen Proteinurien
–Monoklonale Leichtketten ( <i>Bence-Jones-Protein</i> )
–Therapeutisches Drug Monitoring
–Steroide/ACE-Hemmer ( <i>selektive/mässig selektive glomeruläre Proteinurie</i> )
–Glomeruläre Proteinurien (“ <i>nephrotisches Syndrom</i> ”)
–Nierentransplantation
–Prognostische Bedeutung
–Retinol bindendes Protein ( <i>komplette tubuläre Proteinurie</i> )
– $\alpha_1$ -Mikroglobulin (cut-off 33,5 mg/g Kreatinin)
–IgG (cut-off 110 mg/g Kreatinin)

Proteindiagnostik sollte diese Quotienten berücksichtigen, um zum Beispiel die lokale Ausscheidung von IgG in die Harnwege im Rahmen einer Hämaturie oder eines Harnwegsinfektes von glomerulär ausgeschiedenem IgG zu unterscheiden. So können Proteinurien von den sehr ähnlichen Kontaminationsmustern unterschieden werden (“postrenale Kontamination”).

Eine prärenale Proteinurie kann durch eine starke Diskrepanz zwischen der Gesamt-Proteinkonzentration und der Summe der Haupt-Markerproteine erkannt werden [22]. Häufig liegt bei dieser Konstellation eine “Bence-Jones-Proteinurie” vor, die anhand des Verhältnisses von freien  $\kappa$ - zu  $\lambda$ -Leichtketten oder durch eine Immunfixations-Elektrophorese bestätigt oder ausgeschlossen werden kann. Die Bestimmung der freien Leichtketten bietet sich generell, auch unabhängig von oder zusätzlich zur

Proteinurie-Diagnostik, als Screeningtest bei der Fragestellung auf das Vorliegen eines Bence-Jones-Proteins an, da nun nephelometrische Verfahren mit ausreichender messtechnischer Spezifität und Sensitivität (Nachweisgrenze ca. 2 mg/L) zur Verfügung stehen. Im normalen Urin liegen die Konzentrationen der freien Leichtketten um oder unterhalb der Nachweisgrenze, erhöhte Werte finden sich regelmäßig, außer bei der Bence-Jones-Proteinurie bei tubulären Schäden. Bei einem Tubulusschaden werden beide Leichtketten-Anteile im physiologischen Verhältnis im Urin ausgeschieden; das Verhältnis der  $\kappa$ - zu  $\lambda$ -Ketten ist unverändert. Bei der Bence-Jones-Proteinurie handelt es sich dagegen um

**Abbildung 2** Grafische Darstellung der Proteinmuster. Dargestellte Proteine, von oben nach unten:  $\alpha_2$ -Makroglobulin (Ausschluss postrenaler Kontaminationen), IgG, Transferrin, Albumin (glomeruläre Marker),  $\alpha_1$ -Mikroglobulin, Retinol bindendes Protein (tubuläre Marker).

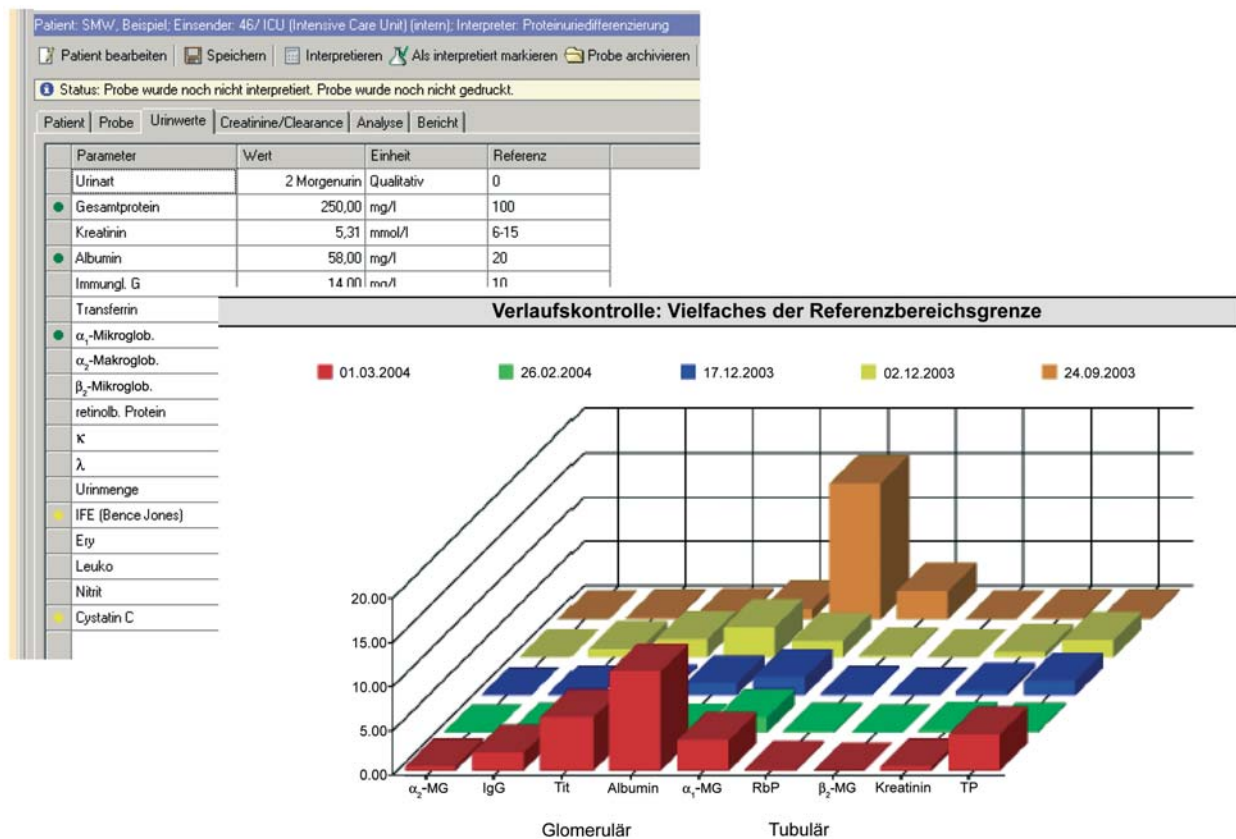


Universitätsspital Basel Labormedizin		Unrinproteindifferenzierung		Chemielabor Petersgraben 4, CH-4301 Basel Tel.. 061 265 4233 - Fax 061 265 4740	
<b>46/ ICU (Intensive Care Unit)</b>					
Patient		JLM, Beispiel			
Geb./Geschl.		05.03.1944, M			
Fall-Nr.					
Pat-Nr.					
Druckdatum		09.04.2005 13:59			
<b>Auftrag-Nr.:</b> 4597294		<b>Entnahme:</b>		15.09.2003	
<b>Labor-Nr.:</b> PR00002515092003		<b>Erfassung:</b>			
<b>Urinart:</b> 2 Morgenurin		<b>Gewicht/Größe:</b>		88 kg / 160 cm	
<b>Diagnose:</b>					
<b>Clearance (Erwachsene)</b>	<b>Wert</b>	<b>Klasse</b>	<b>Norm</b>	<b>Diagramm</b>	
Serum Kreatinin	115,00	-	μmol/L		
MDRD Formel	59,60	-	> 90 mL/min/1.73 m²		
Dettli Formel	74,91	-	mL/min		
Cystatin C	n.d.	-	0,5-1,3 mg/L		
<b>Parameter</b>	<b>Wert</b>	<b>Klasse</b>	<b>Norm</b>	<b>Diagramm: Vielfaches der Referenzbereichsgrenze</b>	
α <sub>2</sub> -Makroglob.	0,00	n.d.	< 0,23 mg/mmol Krea		
Immungl. G	2,64	+	< 1,13 mg/mmol Krea		
Transferrin	0,45	+	< 0,19 mg/mmol Krea		
Albumin	10,92	+	< 2,26 mg/mmol Krea		
α <sub>1</sub> -Mikroglob.	35,78	++++	< 1,58 mg/mmol Krea		
retinolb. Protein	3,67	+++	< 0,11 mg/mmol Krea		
β <sub>2</sub> -Mikroglob.	0,00	n.d.	< 0,00 mg/mmol Krea		
Cystatin C	n.d.	n.d.	< 0,15 mg/mmol Krea		
Gesamtprotein	47,08	++	< 11,31 mg/mmol Krea		
Kreatinin	5,31	norm	11,31 mmol/l		
<b>Prären. Proteinurie</b>				<b>Markerproteine</b>	
κ, frei	0,00	n.d.	<2 mg/mmol Krea	Summe der Markerproteine (mg/mmol Krea): 50 (106%)	
λ, frei	0,00	n.d.	<2 mg/mmol Krea	Rel. Erhöhung glom. Marker (Alb, IgG, Trf): 3,2 fach	
κ frei/λ frei		n.d.	5,2	Rel. Erhöhung tub. Marker (α <sub>1</sub> -MG, RbP): 27,5 fach	
Immunfixation nicht durchgeführt				Quotient glom./tub. Marker: 0,1 fach	
<b>Teststreifen</b>					
Ery	(+)	Leu	+	Nitrit	neg
<b>Beurteilung</b>					
Komplette tubulo-interstitielle Proteinurie mit mässig selektiver glomerulärer Proteinurie.					

Dr. med Axel Regeniter

Legende: Klasse = Beurteilung d. Wertes: n.d nicht durchgeführt, <sen Wert unter Nachweisgrenze, norm normal, + bis ++++ Erhöhung, >>>> extreme Erhöhung  
 Diese Information entspricht dem heutigen Wissensstand; sie ist Ergänzung aber kein Ersatz für die unabhängige Bewertung des behandelnden Arztes.

**Abbildung 3** Ausdruck eines Proteinurie-Befundes. Um Werte mit unterschiedlichen Referenzbereichen vergleichen zu können, wird das Vielfache des oberen Referenzbereiches (Ratio) gebildet. Werte  $\leq 1$  liegen im Referenzbereich (in der Grafik blau), Werte  $> 1$  sind pathologisch (rot). Alle Werte werden zusätzlich von normal bis extrem pathologisch in neun Gruppen klassifiziert (n, +, ++, >, >>, >>>). Neben den Werten werden zahlreiche Formeln gebildet und interpretiert. Das entstandene Klassifikationsmuster wird dann mit Einträgen (Interpretationen) in einer Datenbank verglichen und die dementsprechenden Interpretationstexte werden hinzugefügt.



**Abbildung 4** Konsekutive grafische Darstellung der Laborwerte (Vielfaches des oberen Referenzbereiches) eines Patienten nach Nierentransplantation: Nach Nierentransplantation kommt es typischerweise zur Rückbildung der tubulären Proteinurie innerhalb der ersten 3 Monate. Die zuletzt aufgetretene glomeruläre Proteinurie wurde in der Nierenbiopsie als vaskuläre Abstoßungsreaktion beurteilt (Banff 2).

eine Überlaufproteinurie durch Überproduktion nur einer monoklonalen Leichtkette, das  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis verschiebt sich einseitig ( $<1$  oder  $>3,7$ ; [25, 26]). Diese Fälle kann eine Immunfixations-Elektrophorese bestätigen, wobei hier einschränkend ihre schlechtere Sensitivität (Nachweisgrenze schwankend zwischen 20–50 mg/L) zu berücksichtigen ist. Eine Konzentrierung des Urins ist wegen des Auftretens von Artefakten („Leiter-Phänomen“) nicht zu empfehlen [27, 28]. Ein  $\kappa/\lambda$ -Quotient zwischen 1–3,7 schließt eine Bence-Jones-Proteinurie jedoch weitestgehend aus [25], sodass in einem Großteil der Fälle auf die teure und arbeitsaufwändige Immunfixations-Elektrophorese verzichtet werden könnte.

Die Möglichkeiten der Proteindiagnostik sind heute allgemein anerkannt. Eine Proteinurie-Abklärung ist bei zahlreichen Erkrankungen (Tabelle 1 und 2) sinnvoll. Bis jetzt wird aber häufig nur die Bestimmung des Albumins routinemäßig angefordert. Die gleichzeitige Bestimmung von  $\alpha_1$ -Mikroglobulin ist zum Ausschluss oder zur Bestätigung einer renalen Schädigung unbedingt erforderlich. Kommt es differentialdiagnostisch zur weiteren Messung von Markerproteinen mit unterschiedlichen Normalbereichen, zusätzlich bezogen auf den Kreatiningehalt, zur Berechnung von Quotienten und zur Berücksichtigung

der Teststreifenresultate, ist der Einsatz von Expertensystemen wie „MDI LabLink“, erhältlich über Beckman Coulter, Krefeld, notwendig [29–32].

Eine anschauliche grafische Darstellung der Marker-Proteine benötigt eine gemeinsame Bezugsgröße, weil Laborwerte sowohl bei den Maßeinheiten als auch bei den Referenzbereichen voneinander abweichen, obwohl sie sich auf das gleiche Organsystem beziehen. Die Werte werden miteinander vergleichbar, wenn sie durch ihre obere Referenzbereichsgrenze (p 97.5) geteilt und als Vielfaches davon dargestellt werden. Die auf die Kreatininkonzentration bezogenen Urinproteine werden dann absteigend nach ihrem Molekulargewicht geordnet und neben einem schematischen Nephron dargestellt. Proteine, die im Referenzbereich liegen, werden durch einen blauen Balken, erhöhte Proteine durch einen roten Balken gekennzeichnet. Die Proteine bilden nun bestimmte Muster, die charakteristisch für typische pathobiochemische Vorgänge sind. Die grafische Darstellung erlaubt eine nahezu unmittelbare Erkennung („Blick-Diagnose“) des vorliegenden Proteinurie-Typs (Abbildung 2 und 3). Weiter werden die Daten numerisch dargestellt und der zugrunde liegende pathobiochemische Defekt wird mit einem zusätzlichen Interpretationstext klassifiziert.

Die Befundtexte stammen aus der Datenbank von "MDI LabLink". Das Muster der aktuellen Probe wird dort mit vordefinierten, in der Datenbank gespeicherten Mustern verglichen. Die Datenbank ist frei zugänglich, sodass der Anwender Programmfunktion und Ausgabe seinen Wünschen entsprechend anpassen kann [30]. Somit kann die Länge des Interpretationstextes vielfältig angepasst und konfiguriert werden. Die Validität der Ergebnisse wird immer mittels eingebauter Plausibilitätskontroll-Algorithmen geprüft und kommentiert (z.B. Proben mit extremen Kreatininkonzentrationen, ungewöhnlichen IgG-Konzentrationen, Kontamination mit Erythrozyten oder Leukozyten). Der Text enthält die pathobiochemische Klassifikation der Proteinurie. Er kann weiterhin so konfiguriert werden, dass ergänzende Messungen zur vollständigen Klassifikation der Proteinurie vorgeschlagen werden ("Reflex-Testung"). Der Text kann auf Wunsch ergänzt werden durch exemplarisch aufgeführte typische Erkrankungen, die bei dem gemessenen Proteinurie-Muster charakteristischerweise vorkommen.

Ein separater Ausdruck dient der Verlaufskontrolle (Abbildung 4). Hier werden die quantitativen Veränderungen der Marker-Proteine tabellarisch und grafisch dargestellt und kommentiert. So lassen sich Verlauf der Erkrankung und/oder Therapieeffekte besonders leicht überwachen.

## Indikationen und Anwendung

Die vielfältigen Indikationen für die Differenzierung der Urinproteine sind in Tabelle 1 (nach Scherberich) zusammengefasst. Es handelt sich um verschiedene Konstellationen von Laborwerten, klinischen Zuständen, Symptomen und Erkrankungen, bei denen eine renale Beteiligung häufig und typisch ist, besonders auch bei Patienten, die mit potentiell nephrotoxischen Medikamenten behandelt werden.

Tabelle 2 ergänzt die Darstellung und gibt einen Überblick über die wichtigsten Anwendungen der Proteinurie-Differenzierung. Besonders bedeutsam ist die Früherkennung von beginnenden und dann häufig noch reversiblen Nierenschädigungen. Das bekannteste Beispiel ist die "glomeruläre Mikroalbuminurie", die häufig bei Risikopatienten mit Diabetes mellitus und Hypertonie vorliegt.

Da sich im tubulo-interstitiellen System die Progredienz von Nierenerkrankungen meistens entscheidet, ist die Erkennung von häufig unterschätzten oder von gar nicht bemerkten tubulären Proteinurien von besonderer Bedeutung. Die prognostische Signifikanz von Marker-Proteinen ist vielfältig dokumentiert, so für  $\alpha_1$ -Mikroglobulin und IgG [33], und das Retinol bindende Protein als Marker der "kompletten tubulo-interstitiellen Proteinurie" und damit ernsthaften tubulären Schädigung [34, 35], besonders auch bei Nierentransplantierten [36–38].

Die quantitative Messung von glomerulären und tubulären Marker-Proteinen im Urin ist deshalb nicht nur ein

entscheidender und unverzichtbarer Bestandteil in der Diagnostik, sondern auch in der Therapieüberwachung von Nierenerkrankungen. Eine Bewertung der von uns dazu vorgeschlagenen Strategie und die Auswertung unserer langjährigen Erfahrungen ist erhältlich [29], ebenso eine Übersicht über unsere Erfahrungen mit grafisch orientierten Befunden [39].

## Literatur

1. Hong CY, Chia KS. Markers of diabetic nephropathy. *J Diabetes Complicat* 1998;12:43–60.
2. Mogensen CE, Schmitz O. The diabetic kidney: from hyperfiltration and microalbuminuria to end-stage renal failure. *Med Clin North Am* 1988;72:1465–92.
3. Mogensen CE. The Kidney and Hypertension in Diabetes Mellitus, second edition. 3300 All Dordrecht (Netherlands), Kluwer Academic Press, 1994.
4. Mogensen CE, Keane WF, Bennett PH, Jerums G, Parving HH, Passa P, et al. Prevention of diabetic renal disease with special reference to microalbuminuria [see comments]. *Lancet* 1995;346:1080–4.
5. Mogensen CE. Preventing end-stage renal disease. *Diabet Med* 1998;15(Suppl 4):S51–6.
6. Roels HA, Van Assche FJ, Oversteyns M, De Groof M, Lauwerys RR, Lison D. Reversibility of microproteinuria in cadmium workers with incipient tubular dysfunction after reduction of exposure. *Am J Ind Med* 1997;31:645–52.
7. Scherberich JE. Proteinurie bei Systemerkrankungen. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin 1987;93:481–93.
8. Woo KT, Lau YK. Pattern of proteinuria in tubular injury and glomerular hyperfiltration. *Ann Acad Med Singapore* 1997;26:465–70.
9. Bisaz E, Bianchetti MG, Donati R, Peheim E, Colombo JP, Oetliker OH. Vereinfachte Proteinuriebestimmung bei Kindern aus einer einzelnen Urinprobe. [Simplified determination of proteinuria in children using a single urine sample]. *Klin Padiatr* 1994;206:387–91.
10. Hofmann W, Rossmüller B, Guder WG, Edel HH. A new strategy for characterizing proteinuria and haematuria from a single pattern of defined proteins in urine. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992;30:707–12.
11. Mitchell SC, Sheldon TA, Shaw AB. Quantification of proteinuria: a re-evaluation of the protein/creatinine ratio for elderly subjects. *Age Ageing* 1993;22:443–9.
12. Steinhauslin F, Wauters JP. Quantitation of proteinuria in kidney transplant patients: accuracy of the urinary protein/creatinine ratio. *Clin Nephrol* 1995;43:110–5.
13. Zehnder R, Köchli HP. Proteine im Urin. In: Colombo JP, editor. *Klinisch-chemische Urindiagnostik*. Arbeitsgruppe "Urin" der Schweizerischen Gesellschaft für klinische Chemie. Rotkreuz (Schweiz): LABOLIFE Verlagsgemeinschaft, 1994:197–222.
14. Iwata J, Nishikaze O. New micro-turbidimetric method for determination of protein in cerebrospinal fluid and urine. *Clin Chem* 1979;25:1317–9.
15. Orsonneau JL, Douet P, Massoubre C, Lustenberger P, Bernard S. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. *Clin Chem* 1989;35:2233–6.
16. Boesken WH, Kopf K, Schollmeyer P. Differentiation of proteinuric diseases by disc electrophoretic molecular

- weight analysis of urinary proteins. *Clin Nephrol* 1973; 1:311–8.
17. Boesken WH, Rohrbach R, Schollmeyer P. Vergleich von Histologie und Urinproteinanalyse (SDS-PAA-Discelektrophorese) bei Nierenerkrankungen. *Nieren und Hochdruckkrankheiten* 1978;5:206–14.
  18. Boesken WH. Diagnostic significance of SDS-PAA-electrophoresis of urinary proteins: different forms of proteinuria and their correlation to renal diseases. *Curr Probl Clin Biochem* 1979;235–48.
  19. Boesken WH, Rohrbach H, Schollmeyer P. [Comparison of Histology and Analysis of Proteinuria in Nephropathies]. Vergleich von Histologie und Urinproteinanalyse (SDS-PAA-Discelektrophorese) bei Nierenerkrankungen. *Nieren und Hochdruckkrankheiten* 1978;5:206–14.
  20. Maachi M, Fellahi S, Regeniter A, Diop ME, Capeau J, Rossert J, Bastard JP. Patterns of proteinuria: urinary sodium dodecyl sulfate electrophoresis versus immunonephelometric protein marker measurement followed by interpretation with the knowledge-based system MDI-LabLink. *Clin Chem* 2004;50:1834–7.
  21. Hofmann W, Guder WG. Moderne Methoden zur Proteindifferenzierung im Urin. *Lab Med* 1999;13:336–44.
  22. Boege F, Koehler B, Liebermann F. Identification and quantification of Bence-Jones proteinuria by automated nephelometric screening. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990; 28:37–42.
  23. Hofmann W, Schmidt D, Guder WG, Edel HH. Differentiation of hematuria by quantitative determination of urinary marker proteins. *Klin Wochenschr* 1991;69:68–75.
  24. Guder WG, Hofmann W. Differentiation of proteinuria and haematuria by single protein analysis in urine. *Clin Biochem* 1993;26:277–82.
  25. Regeniter A, Siede WH, Scholer A. free light chain measurement as a screening test for Bence-Jones proteinuria. (prepared for publication) 2002.
  26. Nakano T, Nagata A, Takahashi H. Ratio of urinary free immunoglobulin light chain kappa to lambda in the diagnosis of Bence Jones proteinuria. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:429–34.
  27. Harrison HH. The “ladder light chain” or “pseudo-oligoclonal” pattern in urinary immunofixation electrophoresis (IFE) studies: a distinctive IFE pattern and an explanatory hypothesis relating it to free polyclonal light chains. *Clin Chem* 1991;37:1559–64.
  28. MacNamara EM, Aguzzi F, Petrini C, Higginson J, Gasparro C, Bergami MR, et al. Restricted electrophoretic heterogeneity of immunoglobulin light chains in urine: a cause for confusion with Bence Jones protein. *Clin Chem* 1991;37:1570–4.
  29. Regeniter A, Siede WH, Scholer A, Huber P, Frischmuth N, Steiger JU. Interpreting complex urinary patterns with MDI LABLINK: a statistical evaluation. *Clin Chim Acta* 2000; 297:261–73.
  30. Regeniter A, Siede WH, Seiffert UB. Computer assisted interpretation of laboratory test data with ‘MDI-LabLink’. *Clin Chim Acta* 1996;248:107–18.
  31. Hofmann W, Sedlmeir-Hofmann C, Ivandic M, Schmidt D, Guder WG, Edel HH. Befundung von Urin-Protein-Mustern auf der Basis klinisch gesicherter Patientenkollektive. Typische Beispiele mit Textbefunden. Assessment of urinary-protein patterns on the basis of clinically characterized patients. Typical examples with reports. *Lab Med* 1993; 17:502–12.
  32. Ivandic M, Hofmann W, Guder WG. Development and evaluation of a urine protein expert system. *Clin Chem* 1996;42:1214–22.
  33. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, D’Amico G. A modern approach to selectivity of proteinuria and tubulointerstitial damage in nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2000; 58:1732–41.
  34. Camara NO, Matos AC, Rodrigues DA, Pereira AB, Pacheco-Silva A. Early detection of heart transplant patients with increased risk of ciclosporin nephrotoxicity. *Lancet* 2001;357:856–7.
  35. Mastroianni KG, Nishida SK, Silva MS, Ajzen H, Pereira AB. Urinary retinol-binding protein as a prognostic marker in the treatment of nephrotic syndrome. *Nephron* 2000; 86:109–14.
  36. Teppo AM, Honkanen E, Finne P, Tornroth T, Gronhagen-Riska C. Increased urinary excretion of alpha-1-microglobulin at 6 months after transplantation is associated with urinary excretion of transforming growth factor-beta1 and indicates poor long-term renal outcome. *Transplantation* 2004;78:719–24.
  37. Camara NO, Silva MS, Nishida S, Pereira AB, Pacheco-Silva A. Proximal tubular dysfunction is associated with chronic allograft nephropathy and decreased long-term renal-graft survival. *Transplantation* 2004;78:269–75.
  38. Hosaka B, Park SI, Felipe CR, Garcia RG, Machado PGP, Pereira AB, et al. Predictive value of urinary retinol binding protein for graft dysfunction after kidney transplantation. *Transplantation Proceedings* 2003;35:1341–3.
  39. Regeniter A, Steiger JU, Scholer A, Huber PR, Siede WH. Windows to the ward: graphically oriented report forms. Presentation of complex, interrelated laboratory data for electrophoresis/immunofixation, cerebrospinal fluid, and urinary protein profiles. *Clin Chem* 2003;49:41–50.