



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### PROTEINURIA Y MICROALBUMINURIA.

Carlos Carvajal-Carvajal \*

#### RESUMEN:

La barrera de filtración glomerular está formada por tres capas: el endotelio fenestrado, la membrana basal glomerular y las células epiteliales especializadas, llamadas podocitos. El contenido de proteínas en la orina es muy bajo y consiste primariamente de albúmina y de otras proteínas. La alteración de los componentes de la barrera de filtración puede resultar en la proteinuria clínica. La proteinuria usualmente refleja un incremento de la permeabilidad glomerular para la albúmina y otras proteínas. Hay varios tipos de proteinuria.

Las relaciones albumina/creatinina (RAC) y proteína/creatinina (RPC) en orina son marcadores importantes de daño renal. No obstante, varias guías de manejo recomiendan la identificación y cuantificación de la proteinuria usando RAC de preferencia a RPC. Además, algunas guías de manejo recomiendan repetir la medición de RAC en la identificación inicial de la albuminuria para evitar el sobrediagnóstico debido a cambios transitorios en la albuminuria.

#### PALABRAS CLAVE:

albuminuria, barrera de filtración glomerular, proteinuria, microalbuminuria.

#### ABSTRACT:

The glomerular filtration barrier is made up of three layers: the fenestrated endothelium, the glomerular basement membrane and the specialized epithelial cells, podocytes. The final urine protein content is very low and consists primarily of plasma albumin and other proteins. Perturbation of the components of the filtration barrier can results in the clinical proteinuria. Proteinuria usually reflects an increase in glomerular permeability for albumin and other proteins. There are several types of proteinuria.

Urine albumin/creatinine ratio (ACR) and protein/creatinine (PCR) are important markers of kidney damage, However several management guidelines recommend identification and quantification of proteinuria using ACR in preference to PCR. In addition, some guidelines recommend repeating ACR measurements for initial identification of albuminuria to avoid over diagnosis due to transient albuminuria changes.

\* Microbiólogo, Especialista en Química Clínica. Laboratorio, Hospital de Guápiles. Correo electrónico: ccarvajal 313@yahoo.com

Recibido para publicación: 18/10/2016

Aceptado: 03/12/2016

**KEY WORDS:**

albuminuria, glomerular filtration barrier, proteinuria, microalbuminuria

**INTRODUCCIÓN.**

La proteinuria se considera como un problema importante de salud pública que afecta a varios cientos de millones de personas en el mundo. Además, la proteinuria es la manifestación más común de la patología renal y también participa en la progresión de la enfermedad renal como un factor patológico independiente <sup>(1)</sup>. Lo anterior hace que se le considere como un marcador sensible para la disfunción renal progresiva y también como un factor de riesgo independiente para la morbilidad y la mortalidad cardiovascular <sup>(2)</sup>. Además, la proteinuria se asocia a resultados adversos en pacientes con enfermedad renal crónica, con o sin diabetes <sup>(3)</sup>. Esto hace que sea importante conocer más a fondo acerca de la metodología utilizada para medirla.

El propósito de esta revisión bibliográfica es profundizar en el tema de la proteinuria debido a su importancia, mencionando los tipos y causas de la misma y las pruebas de laboratorio utilizadas para su cuantificación.

**PROTEINURIA.**

Bajo condiciones normales las proteínas de alto peso molecular (PM) del plasma (por ejemplo la IgG) no pasan a través de la membrana de filtración glomerular debido a efectos de tamaño y de carga. De las proteínas de PM intermedio, como la albúmina (69 KDa) y la transferrina, se filtra solamente una pequeña fracción. Las proteínas de PM < 30 KDa (por ejemplo la  $\beta$ 2-microglobulina, la lisozima y la  $\alpha$ 1-microglobulina), pueden pasar libremente a través de la membrana de filtración y posteriormente son reabsorbidas casi en su totalidad (95%) a nivel de los túbulos <sup>(4-7)</sup>. El contenido proteico urinario en una persona saludable es por consiguiente bajo (solo 30-130 mg/día), consistiendo principalmente de albúmina (40%), fragmentos de inmunoglobulina (15%), otras proteínas plasmáticas (5%) y proteínas tisulares del sistema urinario (40%) <sup>(1,8)</sup>.

**LA ESTRUCTURA DE LA BARRERA DE FILTRACIÓN GLOMERULAR.**

La barrera de filtración del glomérulo comprende tres capas: 1) un endotelio fenestrado cubierto por un glucocalix cargado negativamente, 2) la membrana basal glomerular conteniendo laminina, nidogen, colágeno tipo IV y glicosaminoglucanos cargados negativamente y que funciona como un filtro por tamaño y por carga y 3) una capa de células especializadas, los podocitos, que presentan unas prolongaciones que se interdigitan entre sí y que constituyen el filtro fino y la principal barrera de filtración glomerular, pues presentan una estructura a modo de diafragma que constituye el componente que limita el tamaño de las moléculas que son filtradas <sup>(1,9-11)</sup>. Bajo condiciones fisiológicas la barrera glomerular es una estructura funcional que presenta selectividad de tamaño y de carga <sup>(12)</sup>.

**TIPOS DE PROTEINURIA.**

La proteinuria usualmente refleja un aumento de la permeabilidad glomerular para la albúmina y otras proteínas. Una orina de 24 horas que contenga más de 150 mg de proteína se considera alterada <sup>(8)</sup>. Hay varios tipos de proteinuria según su origen: glomerular, tubular, de sobreflujo, inducida por el ejercicio, posprandial y la asociada a infecciones.



A) proteinuria glomerular es el tipo más común (hasta el 90%) y cursa con pérdida de albúmina y de proteínas de PM intermedio. Este tipo de proteinuria es característica de la enfermedad renal crónica. B) proteinuria tubular, que se caracteriza por la presencia de proteínas de bajo PM en la orina, que son filtradas, pero por deficiencias tubulares no son reabsorbidas. C) proteinuria por sobreflujo: una producción proteica aumentada ocasiona que la cantidad de proteína filtrada exceda la capacidad de reabsorción tubular, como ejemplo puede citarse el mieloma múltiple con una producción muy aumentada de cadenas ligeras de inmunoglobulinas. D) proteinuria post-ejercicio: es transitoria y benigna, el nivel máximo de proteinuria se alcanza aproximadamente 30 minutos después del ejercicio y se normaliza entre las 24 y las 48 horas. E) proteinuria posprandial: es una proteinuria fisiológica transitoria y F) proteinuria asociada a infecciones, posiblemente sea una respuesta fisiológica para eliminar al patógeno <sup>(8, 13)</sup>.

Una albuminuria típicamente refleja enfermedad glomerular, mientras que una proteinuria sin albúmina y básicamente con solo proteínas de bajo PM se asocia a una patología túbulointersticial. Algunos pacientes tienen una proteinuria mixta reflejando una disfunción glomerular y tubular <sup>(14)</sup>.

### **PATOGÉNESIS DE LA PROTEINURIA.**

Diversos factores pueden afectar a los componentes de la membrana de filtración, dando por resultado la aparición de proteinuria. Se pueden citar diversos tipos de proteinuria por diversas causas:

A) por mutaciones en diferentes proteínas presentes en dicha membrana (colágeno IV, laminina, nefrina, NPHS2, NEPH1, TRPC6, WT1, PLCE1 entre otras) <sup>(1)</sup>.

B) la hipertensión arterial, la diabetes y la enfermedad renal crónica. En estas tres condiciones se produce una alteración del endotelio glomerular con pérdida de la selectividad de carga del glucocalix como primer evento. Esto expone a los podocitos al efecto deletéreo de la albúmina y de otras macromoléculas. En la diabetes la albúmina sufre glicación y nitración, por efecto de la hiperglicemia crónica, originando cambios estructurales y funcionales en dicha proteína (albúmina glicada). Consecuentemente, la exposición continua a la albúmina modificada por la glucosa puede causar alteraciones en la función de los podocitos, originando el desarreglo de la estructura tipo diafragma existente entre los podocitos, que en última instancia causa una alteración en el glomérulo <sup>(12, 15)</sup>. Además, se postula que los AGEs (productos finales de glicación avanzada), que en este caso vienen a ser la albúmina glicada, contribuyen a la apoptosis de los podocitos <sup>(16)</sup>. El papel de los AGEs en diversas patologías constituye un campo de intensa investigación al presente.

Los AGEs (del inglés “advanced glycation end products”) son un espectro de compuestos heterogéneos que derivan de proteínas que son glicadas y oxidadas en forma no enzimática en un proceso llamado reacción de Maillard <sup>(17, 18)</sup>. La glucosa tiene un papel primordial en el proceso debido a su alta concentración en el plasma, aunque otros azúcares reductores también son implicados (fructosa, galactosa, manosa y xilulosa) <sup>(19)</sup>. La reacción de Maillard se inicia como una reacción entre el grupo carbonilo de un azúcar reductor y el grupo amino libre de una proteína, de un lípido o de un ácido nucleico y lleva a la formación de una Base de Schiff inestable. Esta reacción es reversible y requiere de pocas horas para ocurrir <sup>(20)</sup>. A través de varias semanas estos compuestos lábiles originan un producto Amadori más estable. Posteriormente y en plazo de meses a años una pequeña parte de los compuestos Amadori sufre otras reacciones irreversibles (oxidación, deshidratación y degradación) originando los AGEs, que son compuestos altamente estables <sup>(21, 22)</sup>.



La acumulación de AGEs en el riñón puede contribuir a la alteración progresiva de la arquitectura renal y a la pérdida de la función renal en los pacientes por dos mecanismos: glicación de componentes de la barrera de filtración glomerular o adyacentes a la misma y activación de vías intracelulares por medio de la interacción de los AGEs con su receptor RAGE.

La glicación del colágeno tipo IV y de laminina reducen su capacidad para interactuar con los proteoglicanos incrementando la permeabilidad vascular a la albúmina y la glicación de las proteínas de la matriz aumenta su resistencia a las proteasas contribuyendo al engrosamiento de la membrana basal glomerular y a la expansión mesangial<sup>(23, 24)</sup>. La interacción AGE: RAGE activa la enzima NADPH oxidasa causando un incremento de ROS (especies reactivas del oxígeno) y generando un estrés oxidativo<sup>(25, 26)</sup>. Los ROS son citotóxicos a nivel renal y a través de la activación de la vía de la MAPK (MAP kinasas), NF-κB y de la Proteína Kinasa C (PKC) en las células mesangiales y túbulointersticiales promueven reacciones inflamatorias y fibrogénicas por medio de la producción aumentada de VEGF, TGF-β y CTGF<sup>(27, 28)</sup>. TGF-β no solo estimula la síntesis de la matriz sino que también inhibe su degradación, estando involucrada en la esclerosis glomerular<sup>(29)</sup>. En ratones transgénicos que sobreexpresan TGF-β se observa disfunción renal caracterizada por proteinuria, glomeruloesclerosis y fibrosis túbulointersticial<sup>(30)</sup>.

La interacción AGE: RAGE también induce la producción del factor quimiotáctico para monocitos MCP-1<sup>(31)</sup>, propiciando un infiltrado mononuclear a nivel renal como parte de una reacción inflamatoria crónica y también promueve la inducción de apoptosis de las células mesangiales y contribuye por esa vía a la hiperfiltración glomerular<sup>(32)</sup>.

C) proteinuria por activación inapropiada del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS)<sup>(32, 33)</sup>. La angiotensina II promueve el daño a los podocitos mediante la producción de especies reactivas de oxígeno<sup>(1)</sup>. Clínica y experimentalmente se ha visto que la inhibición del sistema RAAS se asocia a una reducción máxima de la proteinuria<sup>(12, 34)</sup>. Tanto la hiperglicemia como la actividad aumentada de RAAS inducen la hipertensión glomerular y la hiperfiltración, llevando a estrés mecánico sobre la estructura glomerular<sup>(33)</sup>.

D) proteinuria de daño inmunológico mediante deposición de complejos inmunes en el glomérulo<sup>(9)</sup>.

E) proteinuria por la acción de diversas citoquinas como el factor de crecimiento del endotelial vascular (VEGF)<sup>(12)</sup>.

## MEDICIÓN DE LA PROTEINURIA.

La microalbuminuria y la proteinuria total sirven como marcadores de función glomerular y por ende de daño renal. Un glomérulo intacto resulta en niveles mínimos de albúmina o de proteína total en la orina.

El estándar de oro para la determinación de la proteinuria es la medición de la excreción proteica en una orina de 24 horas. No obstante, la literatura cita varios inconvenientes en este tipo de muestra: requiere de un día entero para su colecta, la preservación correcta de la muestra durante todo el período de colecta y la recolección correcta de todo el volumen de orina emitido durante las 24 horas<sup>(35-37)</sup>. Todo esto hace que la recolección inapropiada de la muestra sea un error frecuente.

Ante este problema se está utilizando con mayor frecuencia para la determinación de la proteinuria la primera orina de la mañana (una muestra de orina puntual). La excreción proteica es afectada por el ejercicio y por la hora del día de su colecta y por eso se prefiere la primera orina de la mañana y no una orina al azar<sup>(38)</sup>.



La proteinuria puede cuantificarse como la totalidad de las proteínas excretadas (proteinuria total) o únicamente como la albúmina excretada (albuminuria). En la actualidad se prefiere medir la albúmina excretada y en forma de relación (albúmina/creatinina, RAC) en la primera orina de la mañana. Esta muestra es fácil de obtener, es barata, rápida y se correlaciona bien con la orina de 24 horas con respecto a los valores de albúmina y de proteína <sup>(39, 40)</sup>.

En esta relación se compara la excreción urinaria puntual de albúmina con la excreción urinaria puntual de creatinina, por consiguiente normalizando la excreción de albúmina a la tasa de filtración. De esta forma la relación albúmina / creatinina no está sujeta a variación debido al estado de hidratación.

También podría utilizarse la relación proteína total /creatinina en una orina puntual (RPC), pero se prefiere la RAC por varias razones: la albúmina es el principal componente de la proteína urinaria en la mayoría de las enfermedades renales, la albuminuria se reconoce como el marcador más temprano de enfermedad glomerular y se asocia con la hipertensión, la obesidad y la enfermedad vascular <sup>(12,13,41)</sup>. La microalbuminuria puede progresar a proteinuria franca llevando a un 10 a 20% de los pacientes a enfermedad renal de estadio terminal, requiriendo diálisis o trasplante renal y el riesgo de muerte se incrementa significativamente.

Varias guías internacionales de manejo de pacientes con daño renal (NICE, KDIGO, KDOQI, NKDEP) recomiendan la cuantificación de la proteinuria usando la relación albúmina/creatinina (RAC) de preferencia a la relación proteína/creatinina y recomiendan también las mediciones repetidas de RAC para evitar el sobrediagnóstico debido a cambios transitorios de la albuminuria <sup>(14, 42, 43)</sup>. La recomendación es realizar tres veces la medición de RAC, un diagnóstico positivo de albuminuria se obtendría con 2 muestras de 3 por encima del valor RAC urinario  $\geq 30$  mg/ g, que es equivalente a una tasa de excreción urinaria de albúmina  $\geq 30$  mg/ 24 horas <sup>(13, 44, 45)</sup>. Las muestras de orina deben tomarse en un plazo no mayor a un mes entre sí.

Una sola muestra es suficiente para detectar la proteinuria, pero debido a variaciones intra-individuales en la medición de RAC son preferibles tres mediciones para la cuantificación de la albuminuria <sup>(14)</sup>.

Aunque monetariamente es más costosa la RAC es la prueba de primera línea para la detección de la proteinuria, especialmente en la nefropatía diabética, pues se ha demostrado que es más sensible, particularmente a bajos niveles de proteína urinaria. La KDOQI recomienda para el tamizaje de los adultos en riesgo de enfermedad renal crónica y para monitorear la progresión de la enfermedad renal crónica la prueba RAC urinaria, aunque la RPC urinaria es aceptable si la RAC es mayor de 500-1000 mg/ <sup>(40)</sup>.

La microalbuminuria no solo es útil en la nefropatía diabética, sino también para detectar la alteración en la función renal en condiciones prediabéticas: en la glucosa alterada en ayunas (glicemia en ayunas: 110-125 mg/dl) y en la tolerancia alterada a la glucosa (glicemia a las 2 horas de la ingesta de 75 g de dextrosa: 140-199 mg/dl) y en estas dos condiciones se correlaciona con la progresión hacia la diabetes mellitus <sup>(3)</sup>.

### VALORES DE REFERENCIA.

El término microalbuminuria se refiere a la presencia de una cantidad relativamente pequeña de albúmina en la orina y se define como una excreción urinaria entre 30 y 300 ug/min ó 30 a 300 mg/24 horas (orina de 24 horas) ó 30 y 300 mg/g (RAC) <sup>(3, 13, 34, 39)</sup>.



## CONCLUSIONES

La barrera de filtración glomerular se compone de tres capas, endotelio, membrana basal y podocitos y las tres capas son necesarias para una función de filtración adecuada.

Debido a la acción filtradora de la membrana glomerular la orina de los individuos sanos presenta niveles muy bajos de proteínas, de modo que la detección de proteinuria es una manifestación común de enfermedad renal.

La proteinuria se considera un marcador de daño renal y se mide normalmente mediante la proteinuria total o la albuminuria, aunque se prefiere la segunda prueba porque es el marcador más temprano de daño renal.

Para medir la albuminuria se prefiere medir la relación albúmina/ creatinina utilizando la primera orina de la mañana y llevando a cabo 1 ó 2 repeticiones.

## REFERENCIAS.

1. Zhang, A. & Huang, S. (2012). Progress in Pathogenesis of Proteinuria. *International Journal of Nephrology*, 1-14.
2. Bello, A., Hemmelgarn, B. & Lloyd, A. (2011). Associations among estimated glomerular filtration rate, proteinuria, and adverse cardiovascular outcomes, *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6(6), 1418–1426.
3. Bahar, A., Makhrough, A., Yousefi, A., Kashi, Z. & Abediankenari, S. (2013). Correlation between prediabetes conditions and microalbuminuria. *Nephro-Urology Monthly*, 5(2), 741-745.
4. Vinge, L., Lees, G., Nielsen, R., Clifford, E., Bahr, A. & Christensen, E. (2010). The effect of progressive glomerular disease on megalin-mediated endocytosis in the kidney. *Nephrol Dial Transplant*, 25, 2458-2467.
5. Saito, A., Kaseda, R., Hosojim, M. & Sato, H. (2011). Proximal tubule cell hypothesis for cardiorenal syndrome in diabetes. *Int J Nephrology*, 1-9.
6. Cohen-Bucay, A. & Viswanathan, G. (2012). Urinary markers of glomerular injury in diabetic nephropathy. *Intl J Nephrology*, 7823-7834
7. Saito, A., Sato, H., Lino, N. & Takeda, T. (2010). Molecular mechanism of receptor-mediated endocytosis in the renal proximal tubular epithelium. *J Biomedicine and Biotechnology*, 4032-4041.
8. Mundel, P. & Reiser, J. (2010). Proteinuria: an enzymatic disease of the podocyte? *Kidney Int*, 7(7), 571-580.
9. Garg, P. & Rabelink, T. (2011). Glomerular proteinuria: a complex interplay between unique players. *Adv Chronic Kidney*, 18(4), 233-242.
10. Sekulic, M. & Sekulic, S. (2013). A compendium of urinary biomarkers indicative of glomerular podocytopathy. *Patology Research International*, 1-18.
11. Tojo, A. & Kinugasa, S. (2012). Mechanisms of glomerular albumin filtration and tubular reabsorption. *Int J Nephrology*, 4815-4824.
12. Toblli, J., Bevione, P., Madalena, L., Cao, G. & Angerosal, M. (2012). Understanding the mechanisms of proteinuria: therapeutic implications. *International Journal of Nephrology*, 1-13.
13. KDIGO. (2013). Definition and classification of CKD. *Kidney International Supplements*, 3, 19-62.
14. Fraser, S., Roderick, P., McIntyre, N., Harris, S., McIntyre, C., Fluck, R. & Taal, M. (2014). Assessment of proteinuria in patients with chronic kidney stage 3: albuminuria and non-albumin proteinuria. *PLOS ONE*, 9(5), 1-12.



15. Willemsen, S., Hartog, J., Heiner-Fokkema, R., Van Veldhuisen, D. & Voors, A. (2012). Advanced glycation end products, a pathophysiological pathway in the cardiorenal syndrome. *Heart Fail Rev*, 17, 221-228.
16. Chuang, P. Y., Yu, Q., Uribarri, J. & He, J. C. (2007). Advanced glycation endproducts induce podocyte apoptosis by activation of the FOXO4 transcription factor. *Kidney Int*, 72(8), 965-976.
17. Frye, E. B., Degenhardt, T. P., Thorpe, S. R. & Baynes, J. W. (1998). Role of Maillard reaction in aging of tissue proteins. Advanced glycation end product-dependent increase in imidazolium cross-links in human lens proteins. *J Biol Chem*, 273, 18714-18719.
18. Hegab, Z., Gibbons, S., Neyses, L. & Mamas, M. (2012). Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. *World J Cardiology*, 4(4), 90-102.
19. Piarulli, F., Sartore, G. & Lapolla, A. (2013). Glyco-oxidation and cardiovascular complications in type 2 diabetes: a clinical update. *Acta Diabetol*, 50, 101-110.
20. Watkins, N. G., Thorpe, S. R. & Baynes, J. W. (1985). Glycation of amino groups in protein. *J Biol Chem*, 260, 10629-10636.
21. Schalkwijk, C. & Miyata, T. (2012). Early- and advanced non-enzymatic glycation in diabetic vascular complications: the search for therapeutics. *Amino Acids*, 42, 1193-1204.
22. Taguchi, A., Blood, D. C., Del Toro, G., Canet, A., Lee, D. C., Qu, W., et al. (2000). Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases. *Nature*, 405, 354-360.
23. Ramasamy, R., Yan, S. & Schmidt, A. (2012). Advanced glycation endproducts: from precursors to RAGE: round and round we go. *Amino Acids*, 42(4), 1151-1161.
24. Brownlee, M. & Lecture, L. (1994). Glycation and diabetic complications. *Diabetes*, 43, 836-841.
25. Gella, A. & Durany, N. (2009). Oxidative stress in Alzheimer disease. *Cell adhesion & migration*, 3(1), 88-93.
26. Younessi, P. & Yoonessi, A. (2011). Advanced glycation end-products and products and their receptor-mediated roles: inflammation and oxidative stress. *Iran J Med Sci*, 36(3), 1-10.
27. Tabit, C. (2012). Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanism and clinic implications. *Rev Endocr Metab Disord*, 11(1), 61-74.
28. Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414, 813-820.
29. Border, W. A. & Noble, N. A. (1994). Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med*, 331, 1286-1292.
30. Goldfarb, S. & Ziyadeh, F. (2001). TGF- $\beta$ : a crucial component of the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Transac Am Clin Climatol Assoc*, 112, 27-33.
31. Panee J. (2012). Monocyte chemoattractant protein (MCP-1) in obesity and diabetes. *Cytokine*, 60(1), 1-12.
32. Yamagashi, S. I. & Matsui, T. (2010). Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(2), 101-108.
33. Kolset, S., Reinholt, F. & Jenssen, T. (2012). Diabetic nephropathy and extracellular matrix. *Journal Histochemistry & Cytochemistry*, 60(12), 976-986.
34. Cravedi, P. & Remuzzi, G. (2013). Pathophysiology of proteinuria and its value as an outcome measure in chronic kidney disease. *British J Clinica Pharmacology*, 7(6), 516-523.
35. Stout, M., Scifres, C. & Stamilio, D. (2013). Diagnostic utility of urine protein-to-creatinine ratio for identifying proteinuria in pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 26(1), 66-70.
36. Dwyer, B., Gorman, M. & Druzin, M. (2008). Urinalysis vs urine protein-creatinine ratio to predict significant proteinuria in pregnancy. *J Perinatol*, 28(7), 461-467.
37. Yan, L., Ma, J., Guo, X., Tang, J., Zhang, J., Lu Z., et al. (2014). Urinary albumin excretion and prevalence of microalbuminuria in a general Chinese population: a cross-sectional study. *BMC Nephrology*, 15, 165-174.



38. Singh, A. & Satchell, S. (2011). Microalbuminuria: causes and implications. *Pediatr Nephrol*, 26, 1957-1965.
39. Chavan, V., Durgawalw, P., Sayyed, A., Sontakke, A., Attar, N., Patel, S., et al. (2011). A comparative study of clinical utility of spot urine samples with 24-h urine albumin excretion for screening of microalbuminuria in type 2 diabetic patients. *Ind J Clin Biochem*, 26(3), 283-289.
40. Sandilands, E., Dhaun, N., Dear, J. & Webb, D. (2013). Measurement of renal function in patients with chronic kidney disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 76(4), 504-515.
41. Yamamoto, K., Yamamoto, H., Yoshida, K., Niwa, K. & Nishi, Y. (2014). The Total Urine Protein-to-Creatinine Ratio Can Predict the Presence of Microalbuminuria. *PLOS ONE*, 9(3), 1-7.
42. Viswanathan, G., Samak, M., Tighiouart, H., Muntner, P. & Inker, L. (2013). The association of chronic kidney complications by glomerular filtration rate and albuminuria: a cross-sectional analysis. *Clin Nephrol*, 80(1), 29-39.
43. Selvin, E., Juraschek, S., Eckfeldt, J., Levey, A., Inker, L. & Coresh, J. (2013). Within-person variability in kidney measures. *Am J Kidney Dis*, 61(5), 716-722.
44. Ritz, E., Vilberti, G., Ruilope, L., Rabelink, A., Izzo, J., Katayama, S., et al. (2010). Determinants of urinary albumin excretion within the normal range in patients with type 2 diabetes: the Randomised Olmesartan and Diabetes Microalbuminuria Prevention (ROADMAP) study. *Diabetologia*, 53, 49-57.
45. Skupien, J., Warram, J., Smiles, A., Niewczas, M., Gohda, T., Pezzolesi, M., et al. (2012). The early decline in renal function in patients with type 1 diabetes and proteinuria predicts the risk of end stage renal disease. *Kidney Int*, 82(5), 589-597.