

## Proteinuria e albuminuria nelle discrasie plasmacellulari

Marco Basset<sup>1</sup>, Paolo Milani<sup>1</sup>, Tiziana Bosoni<sup>2</sup>, Mario Nuvolone<sup>1</sup>, Riccardo Albertini<sup>2</sup>, Giampaolo Merlini<sup>1</sup>, Giovanni Palladini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Laboratorio Biochimica - Biotecnologie e Diagnostica avanzata, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia, Pavia

<sup>2</sup>Servizio di Analisi Chimico Cliniche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

### ABSTRACT

#### Proteinuria and albuminuria in plasma cell dyscrasias

Plasma cell dyscrasias (PCDs) are characterized by a bone marrow plasma cell clone producing a monoclonal component (MC). This heterogeneous group comprehends malignant diseases as multiple myeloma (MM), conditions requiring only observation, like monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), and rarer entities where the MC causes organ dysfunction in absence of malignant PCD [(i.e. monoclonal gammopathy of clinical significance (MGCS)]. The evaluation of urine proteins has a key role in the management of PCDs, particularly quantification of proteinuria and albuminuria in the diagnostic workflow and clinical management of MGCS with renal involvement. In immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis, proteinuria (cut-off: 0.5 g/24h) and urine albumin/creatinine ratio (UACR; cut-off: 300 mg/g) are used for diagnosis of renal involvement. These biomarkers are also included in staging systems that stratify the severity of renal involvement (proteinuria cut-off: 5 g/24h; UACR cut-off: 3600 mg/g) and in renal response criteria (decrease of proteinuria/UACR >30% from baseline). In light chain deposition disease (LCDD), relatively low grade proteinuria (cut-off: 2 g/24h) results in higher risk of end-stage renal failure and its reduction after treatment (>50% from baseline) associates with better outcome. Finally, the presence of a MC and tubular proteinuria raises suspicion of light chain proximal tubulopathy (LCPT) with acquired Fanconi syndrome, especially in presence of other abnormalities at the urine examination (e.g. glycosuria, phosphaturia, uricosuria). The clinical laboratory, with the determination of biomarkers in urine provides crucial data in PCD management: for the diagnostic workflow, assessment of severity of the disease and evaluation of treatment effectiveness.

**Parole chiave:** *gammopatia monoclonale, diagnosi, prognosi*

### INTRODUZIONE

Le discrasie plasmacellulari sono condizioni caratterizzate dalla presenza nel midollo osseo di cellule clonali con le caratteristiche morfologiche ed immunofenotipiche delle plasmacellule (1). La loro classificazione clinica si basa sull'estensione della malattia clonale midollare e sulla presenza di danno d'organo. Lo spettro clinico delle discrasie plasmacellulari si estende quindi da patologie francamente maligne che richiedono l'inizio di un trattamento, come il mieloma multiplo (MM) sintomatico, definito dalla presenza di un clone plasmacellulare midollare >10% e dalla presenza di segni CRAB (ipercalcemia, insufficienza renale, anemia e lesioni ossee) o SLiM CRAB (infiltrato plasmacellulare midollare >60%, rapporto delle catene leggere libere (CLL)

clonali/non clonali >100, più di una lesione ossea alla risonanza magnetica) (2) e da condizioni che richiedono il solo monitoraggio, come la gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS), in cui il clone plasmacellulare è di piccole dimensioni (<10%) e non sono presenti segni di danno d'organo (3). Tuttavia, anche piccoli cloni plasmacellulari possono essere responsabili di un danno d'organo clinicamente significativo, attraverso diversi meccanismi, e richiedere l'inizio di una terapia specifica (4). Questa particolare entità clinica è stata definita come gammopatia monoclonale di significato clinico (MGCS) e comprende un vasto ed eterogeneo gruppo di discrasie plasmacellulari che non si classificano come patologie maligne ma in cui è presente un danno d'organo attribuibile al clone midollare (5). Le gammopatie di significato renale (MGRS) rappresentano un sottogruppo

Corrispondenza a: Giovanni Palladini, Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo Viale Golgi, 19, Pavia, Email: giovanni.palladini@unipv.it

Ricevuto: 15.07.2023

Revisionato: 28.07.2023

Accettato: 30.08.2023

Publicato on-line: 18.09.2023

DOI: 10.19186/BC\_2023.069

delle MGCS, in cui l'organo coinvolto è il rene (6). Poiché nella maggior parte di questi casi la struttura coinvolta è il glomerulo renale, la principale manifestazione delle MGRS è la presenza di proteinuria ed albuminuria. Tuttavia, esistono forme rare di MGRS, come la tubulopatia renale prossimale da catene leggere (LCPT) con Sindrome di Fanconi acquisita, in cui è presente una proteinuria tubulare.

Il laboratorio di biochimica clinica riveste un ruolo centrale nella gestione clinica dei pazienti con una discrasia plasmacellulare, in particolar modo con la determinazione di alcuni parametri urinari (come la proteinuria totale e l'albuminuria), i quali forniscono informazioni importanti per il percorso diagnostico e per la determinazione dell'efficacia della terapia. L'identificazione della proteinuria di Bence Jones rappresenta un altro passo fondamentale nella diagnosi di tutte le discrasie plasmacellulari e la sua quantificazione è particolarmente rilevante nel MM (7,8). Su questo punto, raccomandiamo di far riferimento alle indicazioni di SIBioC, recentemente pubblicate (9).

In questa rassegna, ci soffermeremo sulla quantificazione della proteinuria totale e dell'albuminuria per la definizione del danno renale e per la valutazione della risposta al trattamento nelle principali forme di MGRS, facendo riferimento al ruolo del Laboratorio di biochimica clinica nell'amiloidosi da catene leggere immunoglobuliniche (AL), nella malattia da deposito di catene leggere (LCDD) e nella LCPT con Sindrome di Fanconi acquisita.

## AMILOIDOSI AL

### Proteinuria ed albuminuria nella diagnosi di coinvolgimento renale

L'amiloidosi AL è causata da un piccolo clone plasmacellulare (infiltrato midollare mediano inferiore al 10%) secernente una CLL monoclonale delle immunoglobuline che si deposita in organi e tessuti come fibrille di amiloide, danneggiandoli (10). Il rene è coinvolto in circa il 70% dei pazienti alla diagnosi e la la progressione del danno renale può tradursi in una ridotta qualità della vita e può richiedere l'inizio del trattamento dialitico (10,11).

Poiché il coinvolgimento renale è caratterizzato da un danno prevalentemente glomerulare, secondo gli attuali criteri per la diagnosi di coinvolgimento d'organo nell'amiloidosi AL, la proteinuria delle 24 ore è al momento il marcatore di elezione per l'identificazione del coinvolgimento renale nell'amiloidosi AL (valore soglia: 0,5 g/24 ore, con prevalenza di albuminuria, al fine di escludere i casi con esclusiva o prevalente proteinuria di Bence Jones, in assenza di significativa glomerulopatia protidodisperdente) (12,13). Recentemente, è stata valutata la possibilità di utilizzare la proteinuria determinata come rapporto proteinuria/creatininuria (UPCR) su di un campione di urine del mattino invece della proteinuria su raccolta delle 24 ore. Tuttavia, uno studio recente ha dimostrato che la correlazione tra UPCR ed i valori di proteinuria delle 24 ore non è particolarmente forte, specialmente nei casi in cui la proteinuria delle 24 ore era superiore a 3 g/24 ore (14).

Negli ultimi anni, alcuni studi hanno esplorato l'utilizzo dell'albuminuria nell'amiloidosi AL. Un primo studio ha riportato una forte correlazione tra l'albuminuria, determinata come rapporto albuminuria/creatininuria (UACR) sul primo campione di urina del mattino, e la proteinuria delle 24 ore (coefficiente  $r$  di Pearson: 0,90) (15). Questa osservazione ha posto le basi per ulteriori studi che hanno valutato l'impiego di questo marcatore nell'amiloidosi AL. Due studi indipendenti hanno mostrato che UACR è un marcatore sensibile e specifico (valore soglia: 300 mg/g) per la diagnosi di interessamento renale nell'amiloidosi AL (16,17).

La disponibilità di biomarcatori sensibili per l'amiloidosi AL renale rende possibile eseguire programmi di screening nei pazienti con MGUS in modo da identificare il danno renale da amiloidosi in una fase pre-sintomatica. L'efficacia di questo approccio è stata recentemente riportata dal nostro gruppo in occasione del XVIII Simposio Internazionale sull'Amiloidosi, tenutosi ad Heidelberg nel 2022. In particolar modo, nessuno dei pazienti in cui è stata posta diagnosi di amiloidosi AL renale in fase pre-sintomatica hanno avuto una progressione dell'insufficienza renale tale da richiedere l'inizio del trattamento dialitico (dati non mostrati).

### Proteinuria ed albuminuria per la prognosi del danno renale

Nonostante il danno renale nell'amiloidosi AL possa manifestarsi inizialmente con la sola proteinuria glomerulare, il quadro clinico può complicarsi nel tempo con la comparsa di un'insufficienza renale che può progredire fino ad uno stadio terminale, rendendo necessario l'inizio di una terapia sostitutiva. Il tasso di insufficienza renale terminale è di circa l'8% ad un anno dalla diagnosi, ma aumenta progressivamente fino a quasi il 20% a cinque anni. L'identificazione dei pazienti con maggior rischio di progredire verso l'insufficienza renale terminale riveste un ruolo fondamentale per decidere la strategia terapeutica ed il programma di controlli. La stratificazione di questo rischio è valutata efficacemente attraverso un sistema di stadiazione renale basato su biomarcatori, comprendente la proteinuria delle 24 ore e la velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) (19). Questo sistema di stadiazione è elencato nella Tabella 1. I pazienti con proteinuria delle 24 ore <5 g/24 ore ed eGFR >50 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> hanno un minor rischio di progressione verso la dialisi (stadio I), mentre quelli con proteinuria delle 24 ore più elevata ed eGFR inferiore a questi valori sono considerati ad alto rischio (stadio III). La presenza di proteinuria delle 24 ore elevata, identifica anche quei pazienti che sono a maggior rischio di nefrotossicità in corso di terapia a base di lenalidomide (20). Recentemente, due studi indipendenti hanno proposto un sistema di stadiazione basato sull'albuminuria determinata mediante UACR. Dapprima, è stato identificato il valore di UACR in grado di predire una proteinuria delle 24 ore di 5 g/24 ore (3600 mg/g; sensibilità 93% e specificità 97%) (16). In seguito, questo valore è stato utilizzato per identificare e convalidare un sistema di stadiazione che impiega UACR (valore soglia: 3600 mg/g) ed eGFR (valore soglia:

**Tabella 1***Sistemi di stadiazione renale nell'amiloidosi AL*

| Sistemi di stadiazione | Sistema di stadiazione renale con proteinuria delle 24 ore  | Sistema di stadiazione renale con UACR  |
|------------------------|---|---|
| Biomarcatori           | Proteinuria: >5 g/24 ore<br>eGFR: <50 mL/min/1,73 m <sup>2</sup>  | UACR: >3600 mg/g<br>eGFR: <50 mL/min/1,73 m <sup>2</sup>  |
| Stadi                  | I. 0 biomarcatori alterati<br>II. 1 biomarcatore alterato<br>III. 2 biomarcatori alterati                     | I. 0 biomarcatori alterati<br>II. 1 biomarcatore alterato<br>III. 2 biomarcatori alterati                     |
| Rischio di dialisi*    | I. tasso di dialisi a 2 anni: 1%<br>II. tasso di dialisi a 2 anni: 12%<br>III. tasso di dialisi a 2 anni: 48% | I. tasso di dialisi a 2 anni: 0%<br>II. tasso di dialisi a 2 anni: 15%<br>III. tasso di dialisi a 2 anni: 42% |

*eGFR, velocità di filtrazione glomerulare stimata; UACR, rapporto albuminuria/creatininuria**\*Fonte: per il sistema di stadiazione renale con la proteinuria delle 24 ore, 1378 pazienti con nuova diagnosi di amiloidosi AL valutati presso il Centro Amiloidosi di Pavia; per il sistema di stadiazione renale con UACR, 531 pazienti con nuova diagnosi di amiloidosi AL valutati presso il Centro Amiloidosi di Pavia.*

50 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>). Similmente al sistema di stadiazione renale basato sulla proteinuria delle 24 ore, anche questo è in grado di identificare tre gruppi di pazienti con un danno renale progressivamente più grave (Tabella 1) (16,17). È stata valutata anche la possibilità di utilizzare la proteinuria determinata con UPCR per la stratificazione del danno renale alla diagnosi. Tuttavia, la correlazione solo moderata di questo marcatore con la proteinuria delle 24 ore non supporta al momento il suo impiego in questo ambito (14).

### Il laboratorio nella valutazione della risposta ematologica nell'amiloidosi AL

La terapia dell'amiloidosi AL è una chemioterapia diretta contro il clone plasmacellulare ed ha come obiettivo la riduzione della concentrazione delle CLL amiloidogeniche, che può tradursi in un miglioramento della sopravvivenza e del danno d'organo (21). La valutazione della risposta ematologica richiede l'esecuzione dell'immunofissazione del siero e delle urine e la quantificazione delle CLL sieriche. Nel 2012, grazie ad uno studio collaborativo internazionale, sono state identificate quattro categorie (Tabella 2) di risposta ematologica, valutabili in quei pazienti che alla diagnosi presentano una differenza tra l'isotipo delle CLL amiloidogeniche e non amiloidogeniche (dFLC) superiore a 50 mg/L: remissione ematologica completa (i.e. assenza di componenti monoclonali all'immunofissazione del siero e delle urine e rapporto kappa/lambda nella norma), risposta ematologica parziale molto buona (i.e. dFLC <40 mg/L), risposta parziale (i.e. riduzione della dFLC >50% dalla diagnosi) e non risposta (i.e. riduzione della dFLC <50% dalla diagnosi) (22,23). Recentemente, è stato proposto un nuovo criterio di risposta per i

pazienti con dFLC compresa tra 20-50 mg/L (Tabella 2): risposta parziale con bassa dFLC (i.e. dFLC <10 mg/L) (24-27). I pazienti che ottengono una risposta ematologica di ottima qualità hanno una migliore sopravvivenza ed una probabilità più elevata di ottenere una risposta d'organo, che può essere facilmente misurata con biomarcatori sierici o urinari. Recentemente, al fine di valutare l'entità della risposta ematologica, sono state valutate delle metodiche innovative per l'identificazione di componenti monoclonali sieriche ed urinarie nei pazienti che risultano in remissione ematologica completa con l'immunofissazione del siero e delle urine e la quantificazione delle CLL sieriche (28).

### Proteinuria ed albuminuria per la valutazione della risposta renale

La proteinuria delle 24 ore rappresenta anche un biomarcatore per valutare la risposta renale dopo la chemioterapia per l'amiloidosi AL. Nel 2010, un pannello di esperti della International Society of Amyloidosis (ISA) aveva definito la risposta renale come riduzione della proteinuria delle 24 ore del 50%, in assenza di una riduzione dell'eGFR >25% (13). Successivamente, è stato osservato che una riduzione marcata della proteinuria delle 24 ore (i.e. >95%) era associata ad un miglioramento della sopravvivenza ed è stata proposta una revisione del criterio di risposta renale (29). Nel 2015, è stato identificato e convalidato il criterio di risposta renale attualmente utilizzato nella pratica clinica e negli studi sperimentali, definito come riduzione della proteinuria delle 24 ore >30%, in assenza di una riduzione dell'eGFR >25% (Tabella 3) (19). I pazienti che ottengono una risposta renale dopo chemioterapia, secondo questo criterio di risposta, hanno una sopravvivenza renale (definita come tempo dalla diagnosi all'inizio della dialisi) migliore.

Recentemente, uno studio collaborativo internazionale ha proposto la suddivisione della risposta renale in quattro categorie, in base alla entità della riduzione della proteinuria (Tabella 3): risposta renale completa (i.e. nadir della proteinuria  $\leq 0,2$  g/24 ore); risposta renale parziale molto buona (i.e. riduzione della proteinuria delle 24 ore  $>60\%$ ); risposta renale parziale (i.e. riduzione della proteinuria del 30-60%); non risposta renale (i.e. riduzione della proteinuria  $<30\%$ ) (30).

In ultimo, è stato recentemente identificato e convalidato un criterio di risposta renale utilizzando l'albuminuria, definito come riduzione di UACR  $>30\%$ , in assenza di una riduzione dell'eGFR  $>25\%$  (Tabella 3) (17).

**Tabella 2**

Criteria di risposta ematologica nell'amiloidosi AL (rif. 23)

| Criteria di risposta ematologica         | Definizione   |
|--|---|
| Criteria di risposta ematologica (2012)* |   |
| CR                                       | Assenza di componenti monoclonali all'immunofissazione del siero e delle urine e rapporto kappa/lambda delle CLL sieriche nella norma |
| VGPR                                     | Raggiungimento di una dFLC $<40$ mg/L   |
| PR                                       | Riduzione della dFLC $>50\%$ dalla diagnosi   |
| NR                                       | Riduzione della dFLC $<50\%$ dalla diagnosi   |
| Low-dFLC PR**                            | Raggiungimento di una dFLC $<10$ mg/L   |

CR, remissione completa; VGPR, risposta parziale molto buona; PR, risposta parziale; NR, non risposta; Low-dFLC PR, risposta parziale con bassa dFLC; CLL, catene leggere libere; dFLC, differenza tra l'isotipo delle catene leggere libere amiloidogeniche e non amiloidogeniche.

\* I pazienti valutabili secondo i criteri di risposta ematologica del 2012 devono avere una dFLC superiore a 50 mg/L alla diagnosi.

\*\* I pazienti valutabili per il criterio di low-dFLC PR devono avere una dFLC alla diagnosi compresa tra 50 mg/L e 20 mg/L.

**Tabella 3**

Criteria di risposta renale nell'amiloidosi AL (rif 17,19,30)

| Criteria di risposta renale                                 | Definizione  |
|---|--|
| Risposta renale con proteinuria delle 24 ore (2015)         | Riduzione della proteinuria delle 24 ore $>30\%$ , senza un aumento dell'eGFR $>25\%$ dalla diagnosi |
| Risposta renale con proteinuria delle 24 ore (in categorie) |  |
| CR renale   | Nadir della proteinuria $\leq 0,2$ g/24 ore, senza un aumento dell'eGFR $>25\%$ dalla diagnosi       |
| VGPR renale   | Riduzione della proteinuria delle 24 ore $>60\%$ , senza un aumento dell'eGFR $>25\%$ dalla diagnosi |
| PR renale   | Riduzione della proteinuria del 30-60%, senza un aumento dell'eGFR $>25\%$ dalla diagnosi            |
| NR renale   | Riduzione della proteinuria $<30\%$  |
| Risposta renale con UACR                                    | Riduzione di UACR $>30\%$ senza un aumento dell'eGFR $>25\%$ dalla diagnosi.                         |

CR, risposta completa; VGPR, risposta parziale molto buona; PR, risposta parziale; NR, non risposta; UACR, rapporto albuminuria/creatininuria; eGFR, velocità di filtrazione glomerulare stimata.

## MALATTIA DA DEPOSITO DI CATENE LEGGERE (LCDD)

### Proteinuria per la prognosi del danno renale

La LCDD rappresenta una forma molto rara di MGRS, caratterizzata dalla produzione di una CLL, prevalentemente di isotipo kappa (80% dei casi) che si deposita prevalentemente a livello renale, formando depositi non fibrillari e negativi alla colorazione Rosso Congo. Nella LCDD il rene è il principale organo coinvolto e le sue manifestazioni cliniche iniziali sono la presenza di proteinuria, ematuria ed ipertensione.

Alla diagnosi, la proteinuria è generalmente di tipo non nefrosico (valore mediano: 2,3-2,5 g/24 ore), mentre è frequente che la funzionalità renale sia già compromessa (eGFR mediano: 20-30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) (31). Inoltre, secondo alcune casistiche, 10-18% dei pazienti è già in dialisi al momento della diagnosi (32). In assenza di una terapia specifica, il danno renale può progressivamente progredire verso l'insufficienza renale terminale, con un tempo mediano alla dialisi di 62 mesi (32,33). Vista la rarità di questa forma di MGRS, le informazioni riguardanti la stratificazione prognostica dei pazienti con LCDD si limitano a pochi studi retrospettivi. Tuttavia, l'International Kidney Myeloma Working Group (IKMG) ha promosso uno studio internazionale per comprendere meglio la storia naturale di questa malattia ed il ruolo dei biomarcatori per la definizione prognostica e della risposta alla terapia. Nel settembre 2022, in occasione del XVIII Simposio Internazionale sull'Amiloidosi, è stata presentata la più grande casistica di LCDD, comprendente 523 pazienti. Questo studio ha dimostrato che la presenza di una proteinuria >2 g/24 ore si associa ad un rischio più elevato (circa 1,5 volte) di progressione verso l'insufficienza renale terminale.

#### **Proteinuria per la valutazione della risposta renale**

Similmente ad altre forme di MGRS, la terapia della LCDD è una chemioterapia diretta contro il clone plasmacellulare che produce la CLL nefrotossica ed ha come obiettivo ridurre la concentrazione per prevenire la progressione del danno renale. Nei pazienti in cui la terapia consente di ottenere una risposta ematologica, è possibile osservare anche una risposta renale.

Alcuni studi hanno dimostrato che anche nella LCDD, ottenere una risposta renale dopo chemioterapia, definita secondo il criterio validato per l'amiloidosi AL (i.e. riduzione della proteinuria delle 24 ore >30%, in assenza di una riduzione dell'eGFR >25%), si associa ad una migliore prognosi (31,34). Recentemente, è stato proposto un criterio di risposta renale, definito come riduzione della proteinuria delle 24 ore >50% dalla diagnosi. È stato osservato che i pazienti con LCDD che ottengono una risposta renale dopo la chemioterapia, definita secondo questo criterio di risposta, hanno una migliore sopravvivenza renale.

#### **TUBULOPATIA RENALE PROSSIMALE DA CATENE LEGGERE CON SINDROME DI FANCONI ACQUISITA**

La LCPT rappresenta una rara forma di MGRS riscontrata in circa il 5% delle biopsie renali eseguite in pazienti con una componente monoclonale. Tuttavia, la sua incidenza potrebbe essere anche maggiore, considerando che il laboratorio di biochimica clinica può contribuire a porre diagnosi di LCPT anche senza dover ricorrere ad una biopsia renale se sono presenti i segni biochimici di una disfunzione tubulare prossimale, come nella sindrome di Fanconi acquisita (35). Nella LCPT, il danno tubulare è causato da una resistenza

delle CLL (in circa il 95% dei casi di isotipo kappa) alla degradazione da parte dei lisosomi nelle cellule del tubulo renale prossimale e da una loro interferenza con la funzioni di riassorbimento di queste ultime (36). Da questo, derivano le alterazioni di laboratorio tipiche della sindrome di Fanconi acquisita: ipouricemia, uricosuria, amminoaciduria, glicosuria normoglicemica, fosfaturia ed ipofosfatemia (37). Dal punto di vista clinico, la LCPT si manifesta con proteinuria di basso grado (valore mediano 2,51 g/24 ore) ed insufficienza renale lentamente progressiva (38). In una casistica di 32 pazienti con LCPT e sindrome di Fanconi acquisita presentata dai ricercatori della Mayo Clinic, il valore mediano di creatinina alla diagnosi era 2,0 mg/dL (intervallo: 0,9-3,7 mg/dL) e 5 pazienti hanno sviluppato un'insufficienza renale terminale dopo un tempo mediano superiore a 15 anni (39). Anche in questa rara forma di MGRS, la chemioterapia diretta contro il clone plasmacellulare midollare è in grado di tradursi in un miglioramento del danno renale, in particolare della funzione tubulare prossimale (38,40).

#### **ALTRE RARE FORME DI GAMMOPATIE DI SIGNIFICATO RENALE**

Nel vasto panorama delle MGRS sono presenti anche altre entità cliniche ancora più rare di quelle fino ad ora trattate in questa rassegna. Tra queste figurano la glomerulopatia da immunotattoidi, la glomerulopatia da crioglobuline di tipo I, la glomerulonefrite proliferativa con depositi di immunoglobuline monoclonali (PGNMID) e la glomerulopatia da C3 associata a componente monoclonale. Sebbene tutte queste forme di MGRS abbiano delle caratteristiche cliniche, laboratoristiche e anatomopatologiche specifiche, sono tutte caratterizzate dalla presenza di proteinuria (35,41). Tuttavia, la loro estrema rarità rende molto difficile la valutazione prognostica della proteinuria per la gestione clinica e la loro diagnosi richiede al collaboratore del clinico, dell'anatomopatologo e del biochimico clinico per una corretta identificazione del tipo di MGRS.

#### **DISCUSSIONE**

##### **Valori soglia di proteinuria delle 24 ore per la definizione della prognosi nell'amiloidosi AL e nella LCDD**

La determinazione della proteinuria delle 24 ore riveste un ruolo fondamentale nella gestione clinica dei pazienti con una discrasia plasmacellulare, principalmente per quelli con una MGRS. Nell'amiloidosi AL, la proteinuria delle 24 ore è utilizzata per l'identificazione del coinvolgimento renale, per la stratificazione prognostica della sua gravità e per la risposta renale dopo la terapia specifica (12,13,19). Similmente, nella LCDD la proteinuria delle 24 ore identifica i pazienti ad un rischio elevato di progressione verso la dialisi e quelli che hanno un miglioramento del danno renale dopo la chemioterapia.

Gli studi clinici condotti in questo campo hanno

consentito l'identificazione di valori soglia della proteinuria delle 24 ore che, corrispondenti ad una precisa categoria di rischio, consentono di stabilire una gestione mirata del paziente. Ad esempio, i pazienti con amiloidosi AL ed una proteinuria delle 24 ore  $>5$  g/24 ore sono a maggior rischio di progressione dell'insufficienza renale (specialmente in presenza di un eGFR  $<50$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) e possono richiedere un monitoraggio più stretto ed un trattamento più intensivo con l'obiettivo di prevenire un peggioramento del danno renale (19). Una strategia analoga può essere presa in considerazione nei pazienti con LCDD ed una proteinuria alla diagnosi  $>2$  g/24 ore.

La valutazione del rischio di progressione del danno renale può essere eseguita anche dopo la chemioterapia, valutando la variazione percentuale della proteinuria dopo la chemioterapia. I valori soglia di riduzione della proteinuria delle 24 ore dopo la terapia sono diversi per l'amiloidosi AL e la LCDD (i.e.  $>30\%$  e  $>50\%$  rispettivamente). Tuttavia, in entrambi i casi, se questi valori sono raggiunti, in assenza di una riduzione dell'eGFR ( $>25\%$ ), i pazienti hanno un minor rischio di progressione verso la dialisi (19). I pazienti in cui non si osserva una riduzione della proteinuria maggiore di questi valori hanno un rischio più elevato. In questi casi, specialmente se non è stata ottenuta una remissione ematologica completa, può essere presa in considerazione la possibilità di modificare la terapia, in modo da ottenere una risposta ematologica di migliore qualità. In alternativa, può essere considerato un programma di controlli stretti per monitorare l'andamento del danno renale.

### La scelta del campione: raccolta temporizzata o campione estemporaneo di urina

Il motivo per cui il campione delle urine delle 24 ore è considerato l'ideale per la quantificazione della proteinuria totale, risiede nel fatto che consente di tener conto delle fluttuazioni circadiane della proteinuria (42,43). Tuttavia, la raccolta delle urine delle 24 ore è una procedura di difficile esecuzione e rappresenta una possibile fonte di errore preanalitico. Di fatti, è stato stimato che in circa 15-20% dei casi la raccolta delle urine delle 24 ore è eseguita in maniera non adeguata (44,45). Per questo motivo, diversi studi hanno valutato la possibilità di determinare la proteinuria con UPCR su campione estemporaneo delle urine, ed hanno mostrato una buona correlazione tra UPCR e proteinuria delle 24 ore (46-48). Allo stesso modo, sono stati condotti degli studi che hanno valutato la correlazione tra UACR e l'albuminuria delle 24 ore. In particolare, uno studio prospettico ha valutato la correlazione tra UACR valutata sul primo campione di urina del mattino e l'albuminuria delle 24 ore in 7 623 pazienti con albuminuria normale (i.e.  $<30$  mg/24 ore o  $<30$  mg/g), moderatamente aumentata (i.e. 30-300 mg/24 ore o 30-300 mg/g) o severamente aumentata (i.e.  $>300$  mg/24 ore o  $>300$  mg/g). Lo studio ha dimostrato un'ottima correlazione tra queste due tipologie di campione in tutte e tre le categorie di albuminuria. Inoltre, ha dimostrato che nei casi in cui i

due tipi di campione hanno dato risultati discordanti (12% dei casi), i pazienti presentavano un profilo di rischio più vicino a quello della categoria di albuminuria identificata con UACR determinata sul primo campione delle urine del mattino (49).

### La scelta del campione di urina per la determinazione di UPCR e UACR

L'utilizzo del primo campione del mattino è ritenuto preferibile rispetto ad un campione estemporaneo raccolto nel corso della giornata, poiché è meno influenzato dall'effetto che fattori come lo stato di idratazione e l'attività fisica possono avere sull'escrezione urinaria di albumina (50). Tuttavia, è da tener presente che i primi studi che avevano dimostrato la buona correlazione tra proteinuria delle 24 ore e UPCR erano stati condotti utilizzando campioni estemporanei di urina e non il primo del mattino (46-48). Inoltre, uno studio successivo ha dimostrato che la correlazione tra UPCR e proteinuria delle 24 ore si conferma robusta sia quando è utilizzato un campione del mattino (08.00 AM;  $r^2=0,97$ ) che un campione raccolto nel pomeriggio ( $r^2=0,99$ ) (51). D'altra parte, un altro studio che ha valutato la correlazione di UACR e l'albuminuria delle 24 ore ha mostrato una correlazione migliore con il primo campione di urina del mattino (52). Al momento, le linee guida Kidney Disease: Improving Global Outcome (KDIGO) raccomandano il primo campione di urina del mattino per la determinazione dell'albuminuria o della proteinuria nei pazienti con malattia renale cronica e acuta.

### Proteinuria ed albuminuria nei pazienti con nefropatia cronica

Nonostante sia noto che sia la proteinuria totale che l'albuminuria sono associate ad una prognosi peggiore nei pazienti con insufficienza renale cronica (53-59), le differenze nell'utilizzo di questi due marcatori urinari sono ancora fonte di discussione e confronto. E' da osservare che il significato clinico e le differenze di questi due marcatori urinari vanno al di là delle controversie sulla loro sensibilità analitica (60-63). L'albuminuria è l'espressione di un danno del glomerulo, mentre la presenza di una proteinuria con perdita di proteine diverse dall'albumina è tipica di uno spettro più ampio di danno renale (e.g. un danno tubulo-interstiziale) oppure può indicare la presenza di una malattia sistemica con una CLL monoclonale ad elevata concentrazione nel siero, che supera la capacità di riassorbimento tubulare, pertanto escreta con le urine come nel caso del MM. In ogni caso, le linee guida KDIGO del 2023 prediligono l'utilizzo dell'albuminuria rispetto alla proteinuria nei pazienti con nefropatia cronica.

Anche nel campo di una malattia rara come l'amiloidosi AL, i dati più recenti sembrano favorire un uso più esteso dell'albuminuria rispetto alla proteinuria totale delle 24 ore. Di fatti, nei due studi che hanno proposto e convalidato un sistema di stadiazione renale basato su UACR, nessuno dei pazienti identificati come stadio renale I con UACR (n=104) ha avuto una progressione del danno renale che ha richiesto l'inizio della dialisi.

D'altra parte, la percentuale di pazienti in stadio renale I, secondo il sistema di stadiazione renale basato sulla proteinuria delle 24 ore, che richiedono l'inizio della dialisi a tre anni dalla diagnosi, è circa il 5-10% (17,19). Una simile osservazione può essere fatta anche esaminando i pazienti che hanno raggiunto una risposta renale secondo il criterio basato su UACR o quello che impiega proteinuria delle 24 ore. Nel primo caso, nessuno dei pazienti che hanno ottenuto una risposta renale con UACR hanno avuto una progressione del danno verso l'insufficienza renale terminale. Invece, tra i pazienti che hanno ottenuto una risposta renale basata sulla proteinuria delle 24 ore, sono stati osservati alcuni casi (circa il 7%) in cui il peggioramento del danno renale ha richiesto l'inizio della dialisi nei tre anni successivi (17). Nonostante questi studi abbiano il limite di confrontare due marcatori urinari diversi come l'albuminuria e la proteinuria, questi dati sembrano suggerire che UACR sia in grado di identificare meglio i pazienti a basso rischio di progressione dell'insufficienza renale. Questa osservazione è, almeno in parte, in linea con quanto osservato anche da Vart et al. nel 2016 (49). In ultimo, il fatto che l'albuminuria sia un marcatore più adatto della proteinuria totale nell'amiloidosi AL, è suggerito da uno studio condotto dai ricercatori dell'Università di Boston sull'UPCR in questa malattia. In particolare, i Colleghi hanno mostrato l'assenza di una forte correlazione tra UPCR e i valori di proteinuria delle 24 ore, specialmente in presenza di una proteinuria delle 24 ore >3 g/24 ore (14).

### L'albuminuria nell'amiloidosi AL e nelle altre MGRS

Considerando che il danno renale nell'amiloidosi AL, come anche nella maggior parte delle MGRS, è un danno glomerulare, l'albuminuria è un marcatore teoricamente più adatto per il monitoraggio di questi pazienti rispetto alla proteinuria totale. L'utilizzo dell'albuminuria, inoltre, potrebbe avere il vantaggio di evitare l'interferenza dell'escrezione urinaria della CLL monoclonale sierica, sebbene questa sia in genere di modesta entità in assenza di MM.

Nel tentativo di uniformarsi alle linee guida KDIGO, negli ultimi sette anni è stata valutata la possibilità di utilizzare UACR per la determinazione dell'albuminuria nell'amiloidosi AL e recentemente due studi hanno identificato e convalidato valori soglia di UACR per l'identificazione di pazienti a maggior rischio di progressione verso la dialisi alla diagnosi (i.e. UACR >3 600 mg/g) e dopo la chemioterapia (i.e. riduzione di UACR >30%). In ogni caso, l'utilizzo nella pratica clinica non è stato ancora definito e, a livello internazionale, la proteinuria delle 24 ore rimane il marcatore urinario di elezione nell'amiloidosi AL renale.

Purtroppo, data la loro rarità, non sono disponibili dati sull'utilizzo di UACR per il monitoraggio di altre forme di MGRS al di fuori dell'amiloidosi AL. Per poter colmare questo vuoto di conoscenza, è necessario che vengano condotti degli studi collaborativi internazionali per raccogliere un sufficiente numero di dati.

Nel contesto delle malattie rare, la possibilità di determinare la proteinuria o l'albuminuria su un campione diverso dalla raccolta delle 24 ore incontra degli obiettivi che vanno al di là della risoluzione di problemi analitici. Infatti, i pazienti con MGRS spesso devono compiere dei lunghi viaggi per poter eseguire le valutazioni presso centri di riferimento, che possono essere frequenti nel corso del primo anno dalla diagnosi e durante la chemioterapia. In questo contesto, la possibilità di utilizzare un campione di urina del mattino rispetto che la raccolta delle urine delle 24 ore rappresenta un cambiamento significativo per la qualità della vita dei pazienti.

### CONCLUSIONI

Le discrasie plasmacellulari rappresentano un gruppo molto eterogeneo di malattie che comprende patologie francamente maligne, come il MM, e condizioni come l'MGUS che non richiedono terapia. Tra questi due estremi, le MGRS, tra cui spiccano l'amiloidosi AL e la LCDD, rappresentano un ulteriore sottogruppo di malattie rare caratterizzate da una CM in grado di provocare un danno renale. In questo campo, il laboratorio di biochimica clinica riveste un ruolo fondamentale nel percorso diagnostico e nel monitoraggio di questi pazienti in corso di terapia. In particolar modo, lo studio delle proteine urinarie è in grado di fornire informazioni indispensabili al clinico che segue i pazienti con una discrasia plasmacellulare. Purtroppo, la rarità delle MGRS diverse dall'amiloidosi AL e della LCDD, limita la nostra conoscenza in merito al significato prognostico dei biomarcatori urinari in molte di queste patologie. Per questo motivo, è necessario che gruppi di studio e società scientifiche internazionali, quali l'IKMG e l'ISA, promuovano studi collaborativi multicentrici a livello globale per colmare queste lacune e per porre le basi per una migliore gestione clinica di questi pazienti.

### CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno

### BIBLIOGRAFIA

1. San Miguel JF, Almeida J, Mateo G, Bladé J, López-Berges C, Caballero D, et al. Immunophenotypic evaluation of the plasma cell compartment in multiple myeloma: a tool for comparing the efficacy of different treatment strategies and predicting outcome. *Blood* 2002;99:1853-6.
2. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:e538-48.
3. Kyle RA, Larson DR, Therneau TM, Dispenzieri A, Kumar S, Cerhan JR, et al. Long-Term Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *N Engl J Med* 2018;378:241-9.
4. Merlini G, Stone MJ. Dangerous small B-cell clones. *Blood* 2006;108:2520-30.
5. Dispenzieri A. Monoclonal gammopathies of clinical significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2020;2020:380-8.
6. Leung N, Bridoux F, Batuman V, Chaidos A, Cockwell P, D'Agati VD, et al. The evaluation of monoclonal gammo-

- pathy of renal significance: a consensus report of the International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group. *Nat Rev Nephrol* 2019;15:45-59.
7. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:1467-73.
  8. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016;17:e328-46.
  9. Natali P, Cigliana G, Savoia M, Gelsumini S, Basile U, Verocchi A, et al. Revisione e aggiornamento del documento di consenso SIBioC per la ricerca e quantificazione della proteina di Bence Jones. *Biochim Clin* 2021;45:75-86.
  10. Merlini G, Dispenzieri A, Sanchorawala V, Schönland SO, Palladini G, Hawkins PN, et al. Systemic immunoglobulin light chain amyloidosis. *Nat Rev Dis Primers* 2018;4:38.
  11. Milani P, Merlini G, Palladini G. Light Chain Amyloidosis. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2018;10:e2018022.
  12. Gertz MA, Comenzo R, Falk RH, Fermand JP, Hazenberg BP, Hawkins PN, et al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *Am J Hematol* 2005;79:319-28.
  13. Gertz MA, Merlini G. Definition of organ involvement and response to treatment in AL amyloidosis: an updated consensus opinion. *Amyloid*, 2010 pp 48-49.
  14. Mendelson L, Sanchorawala V, Connors L, Joshi T, Doros G, Pogrebinsky A, et al. Correlation between 24-hour urine protein and random urine protein-creatinine ratio in amyloid light-chain amyloidosis. *Kidney Med* 2022;4:100427.
  15. Palladini G, Milani P, Basset M, Russo F, Lavatelli F, Nuvolone M, et al. Urinary albumin to creatinine ratio in diagnosis and risk stratification of renal AL amyloidosis. *Amyloid* 2017;24:68-9.
  16. Visram A, Al Saleh AS, Parmar H, McDonald JS, Lieske JC, Vaxman I, et al. Correlation between urine ACR and 24-h proteinuria in a real-world cohort of systemic AL amyloidosis patients. *Blood Cancer J* 2020;10:124.
  17. Basset M, Milani P, Ferretti VV, Nuvolone M, Foli A, Benigna F, et al. Prospective urinary albumin/creatinine ratio for diagnosis, staging, and organ response assessment in renal AL amyloidosis: results from a large cohort of patients. *Clin Chem Lab Med* 2022;60:386-93.
  18. Merlini G, Palladini G. Differential diagnosis of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2021;2012:595-603.
  19. Palladini G, Hegenbart U, Milani P, Kimmich C, Foli A, Ho AD, et al. A staging system for renal outcome and early markers of renal response to chemotherapy in AL amyloidosis. *Blood* 2014;124:2325-32.
  20. Basset M, Kimmich CR, Schreck N, Krzykalla J, Dittrich T, Veelken K, et al. Lenalidomide and dexamethasone in relapsed/refractory immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis: results from a large cohort of patients with long follow-up. *Br J Haematol* 2021;195:230-43.
  21. Palladini G, Merlini G. How I treat AL amyloidosis. *Blood* 202;139:2918-30.
  22. Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, Kumar S, Wechalekar A, Hawkins PN, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J Clin Oncol* 2012;30:4541-9.
  23. Palladini G, Schönland SO, Sanchorawala V, Kumar S, Wechalekar A, Hegenbart U, et al. Clarification on the definition of complete haematologic response in light-chain (AL) amyloidosis. *Amyloid* 2021;28:1-2.
  24. Milani P, Basset M, Russo F, Foli A, Merlini G, Palladini G. Patients with light-chain amyloidosis and low free light-chain burden have distinct clinical features and outcome. *Blood* 2017;130:625-31.
  25. Dittrich T, Bochtler T, Kimmich C, Becker N, Jauch A, Goldschmidt H, et al. AL amyloidosis patients with low amyloidogenic free light chain levels at first diagnosis have an excellent prognosis. *Blood* 2017;130:632-42.
  26. Sidana S, Tandon N, Dispenzieri A, Gertz MA, Buadi FK, Lacy MQ, et al. Clinical presentation and outcomes in light chain amyloidosis patients with non-evaluable serum free light chains. *Leukemia* 2018;32:729-35.
  27. Nguyen VP, Rosenberg A, Mendelson LM, Comenzo RL, Varga C, Sanchorawala V. Outcomes of patients with AL amyloidosis and low serum free light chain levels at diagnosis. *Amyloid* 2018;25:156-59.
  28. Milani P, Murray DL, Barnidge DR, Kohlhagen MC, Mills JR, Merlini G, et al. The utility of MASS-FIX to detect and monitor monoclonal proteins in the clinic. *Am J Hematol* 2017;92:772-9.
  29. Leung N, Glavey SV, Kumar S, Dispenzieri A, Buadi FK, Dingli D, et al. A detailed evaluation of the current renal response criteria in AL amyloidosis: is it time for a revision? *Haematologica* 2013;98:988-92.
  30. Muchtar E, Dispenzieri A, Wisniowski B, Palladini G, Milani P, Merlini G, et al.: Graded cardiac response criteria for AL amyloidosis: the impact of depth of cardiac response on survival. *ASH Annual Meeting & Exposition, 2021*
  31. Kourelis TV, Nasr SH, Dispenzieri A, Kumar SK, Gertz MA, Fervenza FC, et al. Outcomes of patients with renal monoclonal immunoglobulin deposition disease. *Am J Hematol* 2016;91:1123-8.
  32. Ravichandran S, Law S, Mahmood S, Wisniowski B, Ford D, Fontana M, et al. Long-term outcomes in light chain deposition disease-analysis of a UK cohort. *Am J Hematol* 2022;97:E444-E446.
  33. Sayed RH, Wechalekar AD, Gilbertson JA, Bass P, Mahmood S, Sachchithanantham S, et al. Natural history and outcome of light chain deposition disease. *Blood* 2015;126:2805-10.
  34. Joly F, Cohen C, Javaugue V, Bender S, Belmouaz M, Arnulf B, et al. Randall-type monoclonal immunoglobulin deposition disease: novel insights from a nationwide cohort study. *Blood* 2019;133:576-87.
  35. Hogan JJ, Alexander MP, Leung N. Dysproteinemia and the Kidney: Core Curriculum 2019. *Am J Kidney Dis* 2019;74:822-36.
  36. Luciani A, Sirac C, Terryn S, Javaugue V, Prange JA, Bender S, et al. Impaired Lysosomal Function Underlies Monoclonal Light Chain-Associated Renal Fanconi Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:2049-61.
  37. Lacy MQ, Gertz MA. Acquired Fanconi's syndrome associated with monoclonal gammopathies. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999;13:1273-80.
  38. Stokes MB, Valeri AM, Herlitz L, Khan AM, Siegel DS, Markowitz GS, et al. Light Chain Proximal Tubulopathy: Clinical and Pathologic Characteristics in the Modern Treatment Era. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:1555-65.
  39. Ma CX, Lacy MQ, Rompala JF, Dispenzieri A, Rajkumar SV, Greipp PR, et al. Acquired Fanconi syndrome is an indolent disorder in the absence of overt multiple myeloma. *Blood* 2004;104:40-2.
  40. Vignon M, Javaugue V, Alexander MP, El-Karoui K, Karras A, Roos-Weil D, et al. Current anti-myeloma therapies in renal manifestations of monoclonal light chain-associated



- Fanconi syndrome: a retrospective series of 49 patients. *Leukemia* 2017;31: 123-9.
41. Leung N, Bridoux F, Nasr SH. Monoclonal Gammopathy of Renal Significance. *N Engl J Med* 2021;384:1931-41.
  42. Koopman MG, Krediet RT, Zuyderhoudt FJ, De Moor EA, Arisz L. A circadian rhythm of proteinuria in patients with a nephrotic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 1985;69:395-401.
  43. Koopman MG, Koomen GC, Krediet RT, de Moor EA, Hoek FJ, Arisz L. Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals. *Clin Sci (Lond)* 1989;77:105-11.
  44. Tormo C, Lumbreras B, Santos A, Romero L, Conca M. Strategies for improving the collection of 24-hour urine for analysis in the clinical laboratory: redesigned instructions, opinion surveys, and application of reference change value to micturition. *Arch Pathol Lab Med* 2009;133:1954-60.
  45. Benz-de Bretagne I, Perrier F, Piéroni L, Plouvier E, Causé E, groupe de travail SFBC SFN, S. N. P. Preanalytical step of urinary protein measurement: from urine sampling to preparation for analysis of the specimen. *Ann Biol Clin (Paris)* 2018;76:609-16.
  46. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med* 1983;309:1543-6.
  47. Lemann J, Doumas BT. Proteinuria in health and disease assessed by measuring the urinary protein/creatinine ratio. *Clin Chem* 1987;33:297-9.
  48. Schwab SJ, Christensen RL, Dougherty K, Klahr S. Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in single urine samples. *Arch Intern Med* 1987;147:943-44.
  49. Vart P, Scheven L, Lambers Heerspink HJ, de Jong PE, de Zeeuw D, Gansevoort RT, et al. Urine Albumin-Creatinine Ratio Versus Albumin Excretion for Albuminuria Staging: A Prospective Longitudinal Cohort Study. *Am J Kidney Dis* 2016;67:70-8.
  50. Mogensen CE, Vestbo E, Poulsen PL, Christiansen C, Damsgaard EM, Eiskjaer H, et al. Microalbuminuria and potential confounders. A review and some observations on variability of urinary albumin excretion. *Diabetes Care* 1995;18:572-81.
  51. Bland JM, Altman DG. Comparing two methods of clinical measurement: a personal history. *Int J Epidemiol* 1995;24 Suppl 1: S7-14.
  52. Witte EC, Lambers Heerspink HJ, de Zeeuw D, Bakker SJ, de Jong PE, Gansevoort R. First morning voids are more reliable than spot urine samples to assess microalbuminuria. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:436-43.
  53. Lea J, Greene T, Hebert L, Lipkowitz M, Massry S, Middleton J, et al. The relationship between magnitude of proteinuria reduction and risk of end-stage renal disease: results of the African American study of kidney disease and hypertension. *Arch Intern Med* 2005;165:947-53.
  54. Ruggenenti P, Perna A, Remuzzi G. ACE inhibitors to prevent end-stage renal disease: when to start and why possibly never to stop: a post hoc analysis of the REIN trial results. Ramipril Efficacy in Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2832-7.
  55. de Zeeuw D, Remuzzi G, Parving HH, Keane WF, Zhang Z, Shahinfar S, et al. Albuminuria, a therapeutic target for cardiovascular protection in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Circulation* 2004;110:921-7.
  56. Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving HH, et al. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001;345:861-9.
  57. Bello AK, Hemmelgarn B, Lloyd A, James MT, Manns BJ, Klarenbach S, et al. Associations among estimated glomerular filtration rate, proteinuria, and adverse cardiovascular outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:1418-26.
  58. Hemmelgarn BR, Manns BJ, Lloyd A, James MT, Klarenbach S, Quinn RR, et al. Relation between kidney function, proteinuria, and adverse outcomes. *JAMA* 2010;303: 423-9.
  59. Gansevoort RT, Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, et al. Lower estimated GFR and higher albuminuria are associated with adverse kidney outcomes. A collaborative meta-analysis of general and high-risk population cohorts. *Kidney Int* 2011;80:93-104.
  60. Atkins RC, Briganti EM, Zimmet PZ, Chadban SJ. Association between albuminuria and proteinuria in the general population: the AusDiab Study. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:2170-4.
  61. Methven S, MacGregor MS, Traynor JP, O'Reilly DS, Deighan CJ. Assessing proteinuria in chronic kidney disease: protein-creatinine ratio versus albumin-creatinine ratio. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:2991-6.
  62. Lambers Heerspink HJ, Gansevoort RT, Brenner BM, Cooper ME, Parving HH, Shahinfar S, et al. Comparison of different measures of urinary protein excretion for prediction of renal events. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1355-60.
  63. Fisher H, Hsu CY, Vittinghoff E, Lin F, Bansal N. Comparison of associations of urine protein-creatinine ratio versus albumin-creatinine ratio with complications of CKD: a cross-sectional analysis. *Am J Kidney Dis* 2013;62:1102-8.