

А.Е. Наушабаева¹, К.А. Кабулбаев¹, А.Л. Румянцев², В. Бройке³, Й. Эрих⁴

¹ Научный центр педиатрии и детской хирургии МЗ РК, Алматы, Казахстан

² Российская детская клиническая больница, Москва

³ Институт патологии Высшей медицинской школы Ганновера, Германия

⁴ Детская клиника Высшей медицинской школы Ганновера, Германия

Рациональные методы и алгоритмы диагностики заболеваний почек у детей

Контактная информация:

Йохан Эрих, профессор, заведующий отделением нефрологии, гепатологии и метаболических болезней детского возраста Детской клиники Высшей медицинской школы Ганновера

Адрес: 30625, Германия, Ганновер, ул. Карл-Нюрнберг, 1, e-mail: ehrich.jochen@mh-hannover.de

Статья поступила: 07.04.2009 г., принята к печати: 14.07.2009 г.

48

В обзоре представлены основные и уточняющие методы диагностики, применяемые для верификации повреждения почек у детей. Кроме того, показаны недостатки старых и возможности новых методов диагностики. В работе представлены алгоритмы диагностики, которые, базируясь на данных новых и старых методов исследования, позволяют: во-первых, диагностировать уровни почечного повреждения; во-вторых, определить этиологию болезни и, в-третьих, оценить стадию нарушения почечной функции.

Ключевые слова: болезни почек, диагностика, симптомы поражения почек, дети.

Врожденные и приобретенные заболевания почек в детском возрасте встречаются часто. Около 10% девочек и 5% мальчиков до 18 лет переносят одно или несколько заболеваний почек, имеющих различную нозологию (табл. 1).

Исходом хронических болезней почек является терминальная почечная недостаточность (ТПН), представляющая большую терапевтическую, экономическую и социальную проблему. Смертность пациентов с ТПН в 10 раз превышает таковую в общей популяции [1].

A.Y. Naushabayeva¹, K.A. Kabulbayev¹, A.L. Rumyantsev², V. Bocker³, J. Ehrich⁴

¹ Department of Nephro-Urology, Scientific Center of Paediatrics and Children's Hospital, Almaty, Kazakhstan

² Department of Kidney Transplantation, State Organisation, Russian Children's Clinical Hospital, Federal Agency of Health Care and Social Development, Moscow, Russia

³ Institute of Pathology, Hannover Medical School, Germany

⁴ Department of Pediatric Kidney, Liver and Metabolic Diseases, Children's Hospital, Hannover Medical School, Germany

Rational diagnostic methods and algorithms for detecting kidney diseases in children

This review summarises the basic and essential laboratory tools for identifying and differentiating renal diseases in children. Furthermore, it describes the limits of out-dated techniques and the potential of new diagnostic laboratory methods. Diagnostic algorithms are shown which, together with supplementary methods allow, firstly, the diagnosis of the location of renal damage levels; secondly, clarification of the etiology of the disease and, thirdly, the characterisation of the stage of the renal function disorder.

Key words: kidney diseases, diagnostics, symptoms of renal damage, children.

Таблица 1. Частота заболеваний почек в детском возрасте

Заболевания	Частота
Врожденные аномалии почек и мочевых путей	Около 1% всех новорожденных, чаще мальчики
Бактериальные инфекции мочевых путей	7,8% девочек и 2,5% мальчиков до 7 лет
Врожденные и приобретенные гломерулярные заболевания	Частота нефротического синдрома 16 на 100 000 детей. Нефритический синдром или изолированная гематурия и протеинурия встречаются чаще, чем нефротический синдром
Тубулопатии	Редко
Реноваскулярные заболевания	Редко
Острая почечная недостаточность	15–20 новых случаев на 1 млн детей в год
Терминальная почечная недостаточность (исход вышеописанных заболеваний)	7–9 новых случаев на 1 млн детей в год

Почечная заместительная терапия в большинстве европейских стран обходится в €20 000–50 000 на одного пациента в год. Пациенты с ТПН составляют 0,025% общей популяции населения стран Европейского сообщества, но на их лечение расходуется до 1,8% государственного бюджета, выделяемого на медицинскую

помощь. [2]. Таким образом, главной целью современной нефрологии является максимальное продление функций собственных почек пациентов. Для этого необходима оптимальная организация нефрологической службы, которая зависит от множества факторов (рис. 1). В табл. 2 даны соотношения количества спе-

Рис. 1. Оптимизация детской нефрологической службы (для исключения гипо- или гипердиагностики важно применение установленных и стандартизированных методов диагностики). Адаптировано от Campbell H. et al., 2008 [3]



Таблица 2. Демографические показатели детской нефрологической службы в Европе и России в 1998 г. [4]

Специальность	На 1 млн детского населения	
	Россия	Европа
Детские нефрологи	4,4	4,9
Педиатры со специальным интересом в области нефрологии	6,0	5,8
Количество нефрологов на 1 педиатра	1/446	1/145
Количество педиатров со специализацией по нефрологии на 1 педиатра	1/335	1/123

циалистов к популяции детского населения Европы и России, получающей нефрологическое лечение. Прогресс современных методов диагностики в детской нефрологии позволяет усовершенствовать нефрологическую помощь детям. Новые методы, как правило, очень дороги, в связи с чем должны применяться по строгим показаниям. Рутинные исследования менее затратны, но их возможности ограничены в получении полной информации о степени поражения почек. Кроме того, к сожалению, их потенциал часто используется не полностью. Оказание полноценной нефрологической помощи детям возможно при применении стандартизированных методов лабораторной диагностики и лечения. Важно помнить, что все новое и дорогое — не всегда самое лучшее.

Диагностика в детской нефрологии

Помимо тщательного сбора анамнеза и клинического осмотра пациента, рекомендуется проведение:

- исследований мочи;
- исследований крови;
- инструментальных исследований;
- биопсии почки с морфологическими исследованиями;
- мониторинга принимаемых лекарственных препаратов;
- молекулярно-биологических исследований (биомаркеры);
- молекулярно-генетических исследований.

К главным экстраренальным проявлениям заболеваний почек относятся отеки (диагностический алгоритм представлен ниже) и артериальная гипертензия (АГ). Для выявления АГ требуются знание возрастных норм (табл. 3) и проведение суточного мониторинга артериального давления.

Как видно из табл. 4, спектр клинических симптомов при заболеваниях почек недостаточно патогномоничен. Поэтому установление диагноза без целенаправленных лабораторных и инструментальных методов исследования невозможно.

1. Исследования мочи

Для исследования важно использование средней порции второй утренней свежесобранной мочи без применения стабилизаторов. Тем не менее, если нет возможности провести забор мочи рано утром, можно

собрать мочу в течение дня. Применение стабилизаторов оправдано в редких случаях, например, при сборе мочи для определения экскреции оксалатов. Не откладывайте сбор мочи, так как возможно, это последняя моча, которую пациент смог выделить.

Дешевым и точным методом скринингового исследования мочи является применение тест-полосок (качественный анализ). Полоски можно применять даже в тропических условиях [6]. В случае отсутствия гематурии/гемоглобинурии или лейкоцитурии, протеинурии (ПУ), глюкозурии, необходимость в микроскопическом исследовании мочи отпадает. При обнаружении патологических находок при исследовании тест-полоской необходимы дальнейшие количественные биохимические и микроскопические исследования. Единицей измерения содержания химических веществ в моче являются литры (например, верхняя граница нормы альбумина в моче 20 мг/л), а количества клеток — микролитры. Для нивелирования различных концентраций веществ в моче рекомендуется использовать отношение их уровня к уровню вещества, экскреция которого постоянна в течение суток. Таким веществом является креатинин. Отношение уровня определяемого вещества к креатинину в моче может выражаться в ммоль вещества/ммоль креатинина, либо в мг вещества (например, белка/ммоль креатинина) (табл. 5).

Большинство детей старше 2-х лет при нормальном питьевом режиме имеют уровень креатинина мочи 5 ± 4 ммоль/л. Может быть ошибка «разведения мочи», когда креатинин мочи составляет около 2 ммоль/л или «концентрирования мочи» при концентрации около 12 ммоль/л. Тогда показатели креатининового коэффициента (КК) отличаются от истинных в 2–3 раза. При концентрации альбумина в моче 1 г/л, то есть при 50-кратном его повышении, расчет КК не требуется. КК всех веществ у грудных детей выше, чем у старших детей. Это связано не с повышенной их экскрецией, а со сниженной экскрецией креатинина из-за малой мышечной массы. Норма КК у новорожденных в 4 раза выше, чем у старших детей. При определении КК необходимость в определении суточной экскреции веществ отпадает.

Для правильной интерпретации экскреции электролитов (Na, K, Ca, Mg, Cl, P) с мочой важно знание их уровня в сыворотке крови и суточный прием. Учесть послед-

Таблица 3. Суточное мониторирование артериального давления у детей [5]

Мальчики						
Рост, см	24-часовое АД		Дневное АД (08:00–20:00)		Ночное АД (08:00–20:00)	
	50-й перцентиль	95-й перцентиль	50-й перцентиль	95-й перцентиль	50-й перцентиль	95-й перцентиль
120	105/65	113/72	112/73	123/85	95/55	104/63
130	105/65	117/75	113/73	125/85	96/55	107/65
140	107/65	121/77	114/73	127/85	97/55	110/67
150	109/66	124/78	115/73	129/85	99/56	113/67
160	112/66	126/78	118/73	132/85	102/56	116/67
170	115/67	128/77	121/73	135/85	104/56	119/67
180	120/67	130/77	124/73	137/85	107/56	122/67
Девочки						
Рост, см	24-часовое АД		Дневное АД (08:00–20:00)		Ночное АД (08:00–20:00)	
	50-й перцентиль	95-й перцентиль	50-й перцентиль	95-й перцентиль	50-й перцентиль	95-й перцентиль
120	102/65	113/73	111/72	120/84	96/55	107/66
130	105/66	117/75	112/72	124/84	97/55	109/66
140	108/66	120/76	114/72	127/84	98/55	111/66
150	110/66	122/76	115/73	129/84	99/55	112/66
160	111/66	124/76	116/73	131/84	100/55	113/66
170	112/66	124/76	118/74	131/84	101/55	113/66
180	113/66	124/76	120/74	131/84	103/55	114/66

Таблица 4. Клинические симптомы болезней почек

Общие симптомы	Полидипсия, снижение аппетита, бледность, слабость, утомляемость, лихорадка, отеки, асцит, эксикоз, желудочно-кишечные симптомы, изменения кожи (системная красная волчанка, васкулиты), артериальная гипертония, тугоухость
Изменения диуреза, мочевого осадка	Олигурия/анурия, полиурия, дизурия, поллакиурия, никтурия, энурез, задержка мочи, (макро-) гематурия, пенистая моча (протеинурия), лейкоцитурия
Симптомы поражения эндокринной системы	Низкорослость, отставание в развитии
Симптомы поражения нервной системы	Острые приступы (обмороки, судороги), нарушения зрения, головные боли
Болевой синдром	Боли в животе, в пояснице, в костях
Стигмы дизэмбриогенеза	Пороки развития лица, ушной раковины, кистей, позвоночника, стоп и боковые шейные свищи

Таблица 5. Экскреция веществ с мочой по креатининовому коэффициенту в возрастном аспекте (95-й перцентиль) [7, 8]

Вещество/креатинин, ммоль/ммоль	Возраст, годы							
	1/12–1	1–2	2–3	3–5	5–7	7–10	10–14	14–17
Натрий/креатинин	54	58	56	57	51	42	34	28
Калий/креатинин	74	68	63	48	33	22	15	13
Кальций/креатинин	2,2	1,5	1,4	1,1	0,8	0,7	0,7	0,7
Магний/креатинин	2,2	1,7	1,6	1,3	1,0	0,9	0,7	0,6
Фосфат/креатинин	19	14	12	18	5	3,6	3,2	2,7
Оксалат/креатинин	0,17	0,13	0,1	0,08	0,07	0,06	0,06	0,06
Мочевая кислота/креатинин	1,5	1,4	1,3	1,1	0,8	0,56	0,44	0,4

ний фактор удается редко, за исключением случаев парентерального введения электролитов. Например, при гипокалиемии 3,0 ммоль/л калийурия < 20 ммоль/л свидетельствует о нормальной экскреторной функции почек. При гиперкалиемии 6,5 ммоль/л калийурия < 20 ммоль/л — признак почечной недостаточности с задержкой К, так как здоровые почки должны экскретировать калий в повышенных количествах — около 80 ммоль/л и выше. Особое внимание необходимо обращать на экскрецию кальция, так как ее повышение сопряжено с высоким риском нефрокальциноза и нефролитиаза. Определение экскреции органических кислот (цитраты, оксалаты, ураты) проводится при подозрении на гипероксалурию, гипо- или гиперцитратурию, гипоурикозурию. Это исследование выполняется в специальных лабораториях (очень дорогостоящий метод). Для определения рН и относительной плотности мочи рекомендуются количественные методы (определение рН и осмолярности), так как тест-полоски в данном случае малоинформативны.

1.1 Протеинурия, включая протеомику мочи

Протеинурия (ПУ) — признак заболевания почек и маркер локализации и тяжести почечного повреждения. При таких состояниях, как лихорадка, значительная физическая нагрузка, гематурия и инфекция мочевой системы может быть транзиторное повышение альбумина в моче. Исследование активности протеаз в моче так же важно для нефролога, однако для исключения диагностических ошибок необходимо проводить его в максимально ранние сроки (температура 8°C снижает их активность, поэтому мочу можно хранить несколько часов до исследования). Нормальные значения протеинурии приведены в табл. 6.

Для диагностики протеинурии можно использовать определение таких показателей, как [9]:

- общий белок;
- белки-маркеры: альбумин, α1-микроглобулин, трансферрин, IgG;
- электрофорез: целлюлозо-ацетатный, SDS-PAGE (в полиакриламидном геле) [11];
- ферментурия: NAG (N-ацетил-β-глюкозаминидаза), ААР (аланин-аминопептидаза) и др.;
- протеомика;
- биомаркеры (ферменты, NGAL).

Примечание: малозатратным является метод полуколичественного определения ПУ у детей с нефротическим синдромом с помощью 20%-го раствора сульфосалициловой кислоты (2 г сульфосалициловой кислоты развести в 8 мл дистиллированной воды): к 2–3 мл мочи добавить 3–4 капли готового раствора и хорошо размешать. Интерпретация результатов:

- моча остается прозрачной: отрицательный результат;
- легкое помутнение (дым в комнате): 1+;
- умеренное помутнение (молоко с водой): 2+;
- выраженное помутнение (сыр), осадок: 3+.

Раствор сульфосалициловой кислоты может храниться длительное время.

Определение отношения белок/креатинин в моче заменило 24-часовой сбор мочи без потери диагностической чувствительности и специфичности. Определение уровня общего белка в моче без белков-маркеров не дает никакой информации, в частности, не позволяет дифференцировать гломерулярную и тубулярную ПУ, тогда как новые методы электрофореза с разделением белков мочи в зависимости от их молекулярного веса позволяют это сделать [10]. Напротив, целлюлозно-ацетатно-гелевый электрофорез как устаревший метод не должен

Таблица 6. Нормы протеинурии

Здоровые дети > 2 лет	Белок			Альбумин			α-микроглобулин		
	в моче	креатинин в моче		в моче	креатинин в моче		в моче	креатинин в моче	
	мг/л	мг/г	мг/ммоль	мг/л	мг/г	мг/ммоль	мг/л	мг/г	мг/ммоль
	< 100	< 100	< 10	< 20	< 20	< 5	< 10	< 5	< 1

Таблица 7. Алгоритм альбумин — α1-микроглобулин (ААА) [12]

Альбумин/креатинин мочи, мг/г	α1-МГ/креатинин мочи, мг/г	Протеинурия
< 20	< 5	Норма
> 20	< 5	Гломерулярная
< 20	> 5	Тубулярная
> 20	> 5	Расчет по формуле: α1-МГ × 100 / (α1-МГ + А) > 15% — гломерулярная; < 15% — тубулярная

Примечание.

α1-МГ — α1-микроглобулин.

применяться. Нефелометрический метод определения белков-маркеров с использованием алгоритма ААА (табл. 7) позволяет быстро дифференцировать гломерулярную и тубулярную дисфункции (рис. 2).

Незначительная альбуминурия в пределах 20–100 мг/л (так называемая микроальбуминурия) рассматривается как ранний индикатор поражения почек (например, при диабетической нефропатии, сердечно-сосудистых нарушениях при эссенциальной гипертонии). Такие ферменты мочи как N-ацетил-бета-D-глюкозаминидаза и другие позволяют диагностировать токсическое поражение канальцев. Исследование ферментов мочи не дает возможность дифференцировать тубулярные нарушения и гломерулярные заболевания между собой, поэтому в рутинной практике не применяется.

Новый неинвазивный метод диагностики — протеомика мочи — является очень информативным. На рис. 3 представлен пример протеомики мочи у пациентов с синдромом Фанкони. Так, установлено, что биомаркер — желатиназо-ассоциированный липокалин значительно активизируется при повреждении почечных канальцев и может свидетельствовать об уровне канальцевого повреждения [13].

Данный метод позволяет на основании выявления различных протеомов в моче дифференцировать между собой различные гломерулопатии, например, IgA-нефропатию от фокально-сегментарного гломерулосклероза или болезни минимальных изменений. Однако протеомика не заменила биопсию.

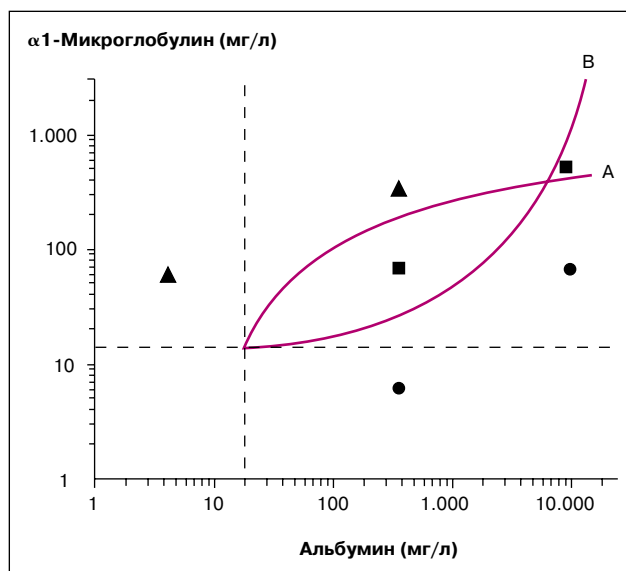
1.2 Микроскопия мочи

При положительной реакции тест-полосок на эритроциты и лейкоциты требуется микроскопическое исследование свежесобранной нецентрифугированной мочи. Для этого применяются счетные камеры Neubauer, содержащие один микролитр (рис. 4). Верхние границы нормы: 10 эр/мл у девочек и мальчиков, 50 лейкоц/мл у грудных и новорожденных девочек) и 10 лейкоц/мл (у мальчиков).

Распространенность асимптоматической микрогематурии у детей школьного возраста составляет 0,5–2,0% случаев (у девочек выше, чем у мальчиков), макрогематурии — 0,13%. При микроскопии осадка мочи выявленные эритроциты нужно дифференцировать на ренальные, или гломерулярные (дисморфные) и постренальные (не измененные), что возможно при использовании фазово-контрастной микроскопии. Опытный нефролог может распознать дисморфные эритроциты с помощью обычного светового микроскопа при увеличении в 400 раз. Дальнейшая дифференциация дисморфных эритроцитов на подгруппы требует затрат времени, поэтому она не может быть рутинной. Дисморфный эритроцит «Микки Маус» представлен на рис. 5.

Гломерулярная гематурия диагностируется при достаточном количестве дисморфных эритроцитов (> 5–10%), что превышает значение 200 эр/мл. В нефроцентре детской клиники Медицинского университета Ганновера обнаружение эритроцитарных цилиндров в осадке мочи в рутинной диагностике используется только в неясных случаях. Количественный подсчет клеток в суточной

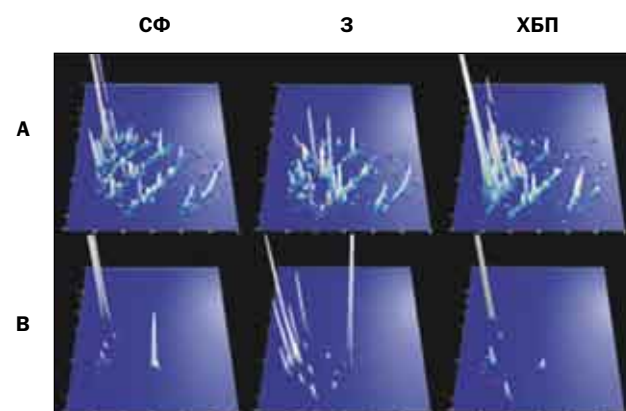
Рис. 2. Диаграмма для диагностики патологической протеинурии по экскреции альбумина и $\alpha 1$ -микроглобулина



Примечание.

Область, находящаяся выше линии A, соответствует тубулярной протеинурии (треугольники), ниже линии B — гломерулярной протеинурии (точки) и между линиями A и B — гломерулярно-тубулярной протеинурии (квадраты). Пунктирные линии представляют верхние показатели нормальных величин (для альбумина менее 20 мг/л и для $\alpha 1$ -микроглобулина менее 15 мг/л).

Рис. 3. Панель отражает 24 полипептида, определяющих синдром Фанкони со специфическим полипептидным характером, отличающий его от здоровых людей и пациентов с ХБП [14]



Примечание.

СФ — протеомический профиль мочи у пациентов с синдромом Фанкони; З — у соответствующих по возрасту здоровых детей; ХБП — у пациентов с хронической болезнью почек; А — пики протеомического профиля у всех детей; В — у детей с синдромом Фанкони.

моче по методу Аддиса не информативен вследствие ошибок сбора мочи и спонтанного разрушения клеток. При окрашивании поля на тест-полоске при ГУ необходимо дифференцировать эритроцитурию от гемо-, миоглобинурии.

Рис. 4. Счетная камера Neubauer для количественной оценки клеток мочи

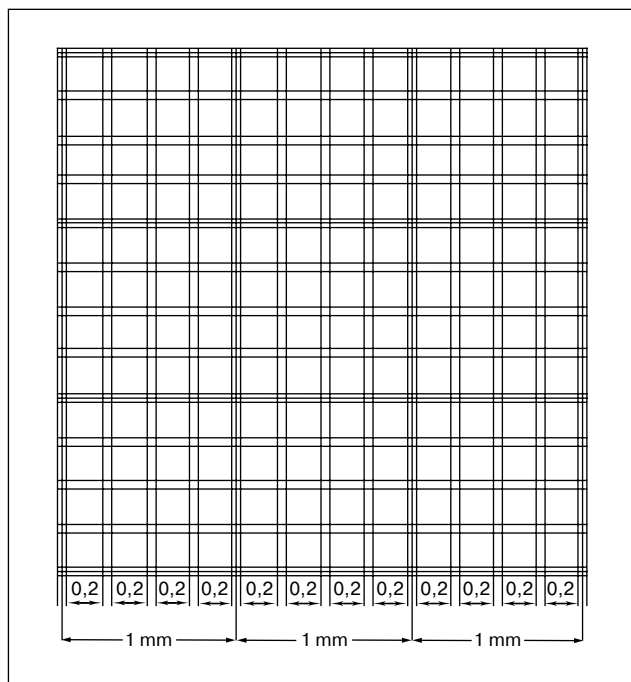
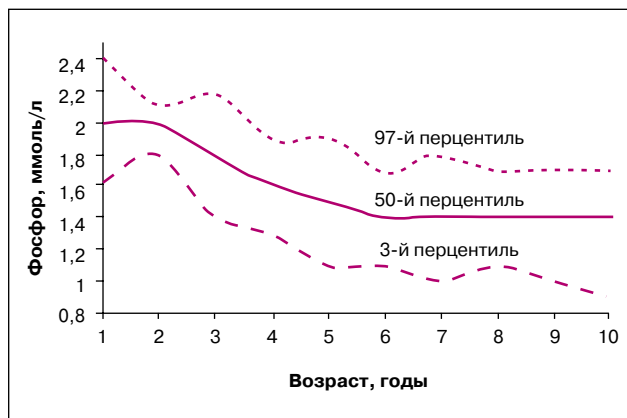


Рис. 5. Дисторфный эритроцит «Микки Маус» при гломерулярной гематурии



Рис. 6. Нормальные уровни сывороточного фосфора в зависимости от возраста [16]



Главным показателем бактериальной инфекции мочевой системы (ИМС) является лейкоцитурия. Однако, не любая лейкоцитурия является следствием бактериальной ИМС: например, стерильная лейкоцитурия при тубулоинтерстициальном нефрите, нефролитиазе или кандидозе. При аденовирусной ИМС лейкоцитурия может отсутствовать.

При микроскопическом исследовании мочи нет необходимости дифференцировать лейкоциты по морфологии. Выявление подоцитов и клеток париетального эпителия Боуеновой капсулы в моче — дорогой метод диагностики почечного повреждения, требующий специально оборудованной лаборатории [15].

При нефролитиазе рекомендуется определение кальция, цистина и оксалатов в моче. Микроскопическая дифференциация кристаллов не очень информативна при диагностике гиперкальциурии. При бактериурии возможна микроскопическая количественная оценка бактерий, однако микробиологическое исследование дает более точные данные о количестве и свойствах микроорганизмов. Выявление в моче грибковой фло-

ры является основанием для постановки диагноза кандидозной ИМС.

2. Исследование крови

Уровни Na, K, Cl, Ca, Mg в крови не зависят от возраста, тогда как уровень фосфата имеет возрастные колебания: у грудных детей он выше, чем у детей школьного возраста (рис. 6).

Уровни мочевины (при этом необходимо учитывать поступление белка, катаболизм, тяжелые или хронические заболевания) и цистатина С (после первого года жизни) не зависят от возраста, тогда как уровень сывороточного креатинина меняется с возрастом (увеличивается) вследствие нарастания мышечной массы (табл. 8).

В связи с этим возникает вопрос, как оценить СКФ? При первичном обследовании ребенка с патологией почек мы определяем все три вышеуказанных параметра. У новорожденных, грудных или очень дистрофичных детей с хронической почечной недостаточностью (ХПН) (например, при миеломенингоцеле или печеночной

Таблица 8. Нормативы сывороточного креатинина, цистатина С и скорости клубочковой фильтрации (СКФ) в зависимости от возраста (важно узнать в своей лаборатории метод определения и разработать собственные нормативы)

Возраст	Креатинин		Цистатин С, мг/л	СКФ, мл/мин на 1,73 м ²
	мкмоль/л	мг/дл		
3 дня	80–130	0,8–1,5	1,2–2,4	20–30
7 дней	30–40	0,4–0,6	1,0–2,2	20–30
1 мес – 1 год	25–40	0,4–0,6	0,8–1,6	70–100
2–8 лет	40–60	0,5–0,7	0,6–1,4	90–130
9–18 лет	50–80	0,6–0,9	0,6–1,4	90–130

недостаточности) отмечается ложно низкий уровень креатинина в связи с малой мышечной массой, тогда как цистатин С повышен [17]. Для оценки же прогрессирования ХПН более информативна динамика уровня креатинина, чем цистатина С. Концентрация мочевины зависит не только от СКФ, но и от диуреза и метаболизма белка (повышается при катаболизме или стероидной терапии). Ее уровень важен для определения показаний к диализу (более 50 ммоль/л), так как высок риск развития гиперосмолярного состояния и церебральных осложнений, тогда как креатинин и цистатин С в обычной для ХПН концентрации не токсичны для организма. Для оценки динамики СКФ при хронических болезнях почек (ХБП) необходимо регулярное определение уровня креатинина.

Определение и критерии ХБП

Пациент с хронической болезнью почек должен иметь нижеперечисленные критерии:

- Структурное или функциональное поражение почек более 6 месяцев со снижением СКФ или без него; и дополнительно одно из нижеперечисленных патологических изменений:

- 1) в анализах крови или мочи;
- 2) при инструментальных исследованиях почек;
- 3) в почечном биоптате.

Или

- СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м².

Стадии ХБП даны в табл. 9.

Homer H. Smith предложил понятие «Клиренс» — объем плазмы, который полностью очищается от определенного вещества в единицу времени (мл/мин/1,73 м² поверхности тела). Клиренс, или СКФ, а также почечный плазмоток (ППТ) являются главными параметрами экскреторной функции почек. Клиренс инулина и пара-аминогиппуровой кислоты (ПАГ) являются золотым стандартом определения СКФ. Инулин свободно фильтруется, полностью выделяется почками и не реабсорбируется канальцами. ПАГ так же свободно фильтруется, почти полностью секретируется в проксимальных канальцах и не реабсорбируется, то есть подходит для расчета ППТ. Фильтрационная фракция (ФФ) определяется отношением СКФ/ППТ и в норме равняется 17–23%. При гломерулонефрите ФФ снижается, при тубулоинтерстициальных нарушениях — повышается. В Детской клинике Медицинского университета

Таблица 9. Стадии хронической болезни почек в детском возрасте [18]

Стадии ХБП	СКФ, мл/мин/1,73 м ²	Клинические проявления
1	> 90	Нормальная функция почек Необратимая гломерулярно-тубулярная дисфункция и/или аномалии развития
2	60–90	Компенсированная почечная недостаточность Часто нет симптомов и др. признаков, кроме снижения СКФ (даже при нормальном сывороточном креатинине), но экстраренальная ко-морбидность уже началась
3	30–60	Почечная недостаточность Явные анемия, костные нарушения, задержка роста, ацидоз и др.
4	15–30	Почечная недостаточность + гипертензия, физическая несостоятельность
5	< 15	Почечная заместительная терапия Все вышеперечисленное + гиперволемия, гиперкалиемия, гиперазотемия, требующие диализа или трансплантации

Рис. 7. Процент реабсорбции аминокислот при генерализованной гипераминоацидурии при цистинозе

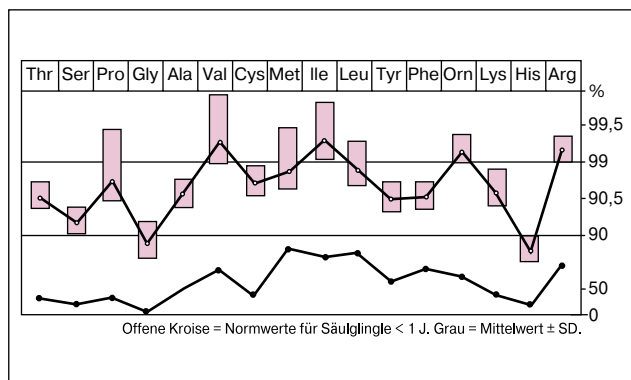
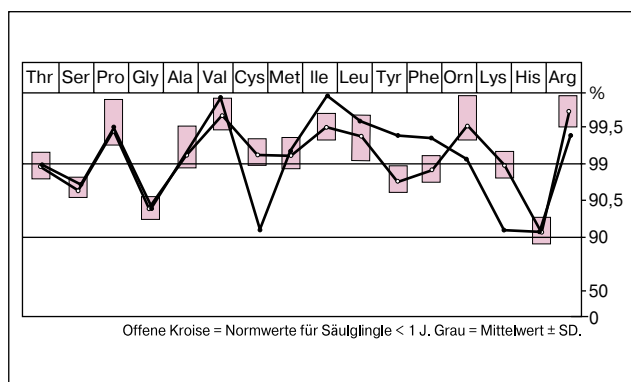


Рис. 8. Процент реабсорбции аминокислот при парциальной гипераминоацидурии (COLA) при цистинурии



Ганновера с 1972 по 1996 г. всего проведено 999 определений клиренса инулина и ПАГ. В связи со значительной дороговизной и дискомфортом для пациентов (две венопункции и 4 часа ожидания) данное лабораторно-химическое исследование перестало применяться 10 лет назад. Вместо него был разработан новый, радионуклидный метод определения СКФ с использованием Хром-51-ЭДТК и Йод-123-гиппуровой кислоты. Данный метод позволяет получить точные данные при минимальной радионуклидной нагрузке (40–80 kBq/kg массы тела, что составляет менее 1/20 естественной годовой лучевой экспозиции окружающей среды, примерно 2.4 mSv)! В связи с этим, данный метод можно применять повторно без риска облучения. Алгоритм Оберхаузена позволяет точно оценить СКФ методом

Two-sample или Russel (заборы крови через 2 и 4 часа после инъекции).

Некоторые детские нефрологи отказываются от проведения радионуклидных клиренсовых методов и оценивают СКФ по клиренсу креатинина с помощью формул, например, формулы Шварца. Все эти формулы имеют значительные отклонения по сравнению со стандартным методом определения клиренса. Например, вследствие канальцевой секреции креатинина, СКФ по клиренсу креатинина на 10% отличается от таковой при клиренсе инулина. При прогрессировании почечной недостаточности отмечаются повышенная канальцевая секреция креатинина и ложно высокая СКФ.

Для выявления нарушений реабсорбции аминокислот необходимо определение их уровней в плазме и моче. С помощью специальной математической программы (например, Альберса) можно идентифицировать аминокислоту. На рис. 7 представлен ребенок с синдромом де Тони-Дебре-Фанкони при цистинозе с генерализованной аминокислотурией, а на рис. 8 — ребенок с цистинурией, камнями в почках и парциальной гипераминоацидурией (т.н. тип COLA — повышенная экскреция цистина, орнитина, лизина и аргинина).

1.3 Формулы в детской нефрологии Скорость клубочковой фильтрации

Определение СКФ по уровню сывороточного креатинина, росту и коэффициенту «К» (табл. 10) по формуле Шварца.

$$\text{СКФ, мл/мин} =$$

$$\text{Рост (см)} \times \text{К} / \text{Сывороточный креатинин (}\mu\text{моль/л)}$$

Где «К» — коэффициент, связанный с возрастом ребенка.

К недостаткам формулы относится ее погрешность расчета при разных стадиях почечной недостаточности. Формула не применима при истощении (выраженном снижении мышечной массы) и при диспропорционально маленьком росте. Формула Кокрофта–Голта с учетом возраста и массы тела не может использоваться у детей младше 12 лет [19].

$$\text{СКФ, мл/мин} =$$

$$\frac{[140 - \text{возраст (г)} \times \text{Вес (кг)} \times \text{К}]}{\text{Сывороточный креатинин (}\mu\text{моль/л)}}$$

Где «К» коэффициент, равный 1,23 для мужчин, 1,05 — для женщин.

Таблица 10. Зависимость коэффициента «К» от возраста

Возраст	Коэффициент «К» при креатинине, выражаемом в:	
	$\mu\text{моль/л}$	мг/дл
Новорожденные	33–40	0,45
Препубертатный период	38–48	0,55
Постпубертатный период	48–62	0,7 (мальчики)

Целесообразно применение такого параметра сыворотки крови, который не зависит от телосложения и мышечной массы. Применение формулы Филлера с использованием уровня сывороточного цистатина С позволяет повысить точность определения СКФ.

$$\text{СКФ, мл/мин} = \text{antilog } 1,962 + [1,123 \times \log (1 / \text{CysC})]$$

Внутрисосудистый объем крови у детей с нефротическим синдромом определяется по формуле Ван де Валле:

$$\text{Отношение электролитов мочи} = [K / (K + Na)] \times 100 (\%)$$

Где К — уровень ионов калия в моче, Na — уровень ионов натрия в моче.

Необходимость в инфузиях альбумина при диуретической терапии зависит от результатов расчета по данной формуле: «underfill» — незаполненное, «overfill» — переполненное кровеносное русло (табл. 11).

Фракционная экскреция натрия (FE_{Na}) необходима для дифференциального диагноза преренальной и постренальной почечной недостаточности. У пациентов с острой преренальной почечной недостаточностью величина FE_{Na} менее 0,5. Она рассчитывается по формуле:

$$FE_{Na} = U_{Na} \times S_{Kreat} / S_{Na} \times U_{Kreat}$$

Где U — концентрация указанного вещества в моче, S — в сыворотке крови.

Анионное пространство рассчитывается при метаболическом ацидозе неясной этиологии с целью выявления патологических анионов (лактата, кетокилот):

$$\text{Анионное пространство} = S_{Na} + S_K - S_{Cl} - S_{HCO_3} \text{ (норма: 8–16 ммоль/л)}$$

Где S — концентрация указанного вещества в сыворотке.

Канальцевая реабсорбция фосфатов рассчитывается по формуле Броделя при подозрении на ренальные потери (синдром Фанкони, ифосфамид-тубулоотоксичность).

$$КРФ/СКФ = \text{фосфат сывор} - \text{фосфат мочи} \times \text{креатинин сывор} / \text{креатинин мочи (ммоль/л)}$$

При сывороточном фосфате > 1 ммоль/л и КРФ/СКФ < 1,0 ммоль/л фиксируется ренальная потеря фосфатов.

3. Инструментальные методы исследования в нефрологии

В табл. 12 приведены основные визуализирующие методы исследования, применимые в нефрологии детского возраста.

У всех пациентов с болезнями почек необходимо проведение ультразвукового исследования почек и мочевых путей. При выявлении гидронефроза с помощью УЗИ показана микционная цистография для исключения пузырно-мочеточникового рефлюкса. Внутривенная пиелография в настоящее время применяется реже в связи с вредностью и преимуществами уро-МРТ. Допплерография почек рекомендуется при наличии артериальной гипертензии и для выявления причин дисфункции трансплантата. Радионуклидные методы применяются для выявления рубцов в почечной паренхиме, уродинамически активного стеноза, для сравнения функций левой и правой почки. При пост-везикальном стенозе эти методы исследования дополняются катетеризацией мочевого пузыря. При назначении визуализирующих методов исследования необходимо учитывать их стоимость.

4. Биопсия почки

Постановка диагноза многих гломерулярных и тубуло-интерстициальных болезней невозможна без чрескожной пункционной биопсии почки (Вх). Показаниями к Вх являются: стероидрезистентный нефротический синдром, острый нефритический синдром с почечной недостаточностью, подозрение на быстро прогрессирующий гломерулонефрит или тубулоинтерстициальный нефрит, системные заболевания с вовлечением почек (СКВ, пурпура Шенлейн–Геноха). Вх является золотым стандартом диагностики причин дисфункции почечного трансплантата. Открытая Вх проводится в исключи-

Таблица 11. Лечение отеков при нефротическом синдроме, когда требуется введение альбумина (по формуле Ван де Вале и по экскреции фракционированного натрия (FE_{Na}))

Кровеносное русло	Недозаполненное	Норма	Переполненное
Отношение электролитов мочи [K / {K + Na}] × 100 (%)	> 60%	30–60%	< 30%
Экскреция фракционированного натрия (FE_{Na})	Очень низкий < 0,5	Низкий 0,5–2,0	Низкий 0,5–2,0
Лечение	Альбумин в/в + Диуретик	Диуретик	Диуретик

Пример 1. $50 / [50 + 100] \times 100 = 33\%$ (норма) → Лечение: Лазикс

Пример 2. $80 / [80 + 20] \times 100 = 80\%$ (недозаполнение) → Лечение: Альбумин + Лазикс

Таблица 12. Старые и новые визуализирующие методы исследования в нефрологии

Исследование	Стоимость (оборудование, материалы, человеческие ресурсы)
УЗИ	Низкая
Допплерография	Умеренная
УЗИ + левовист	Высокая
Рентгенографические: микционная цистография, в/в пиелография	Умеренная
Радионуклидные: йодин гиппурановый клиренс, MAG3	Высокая
Сканирование DMSA	Высокая
Сцинтиграфия с каптоприлом	Высокая
Уро-MPT	Высокая
Урофлоуметрия	Низкая
Уродинамика	Высокая

Таблица 13. Протокол биопсии почки (Медицинский университет Ганновера, Детская клиника)

В день поступления: - Постановка периферического катетера и забор крови: тромбопластиновое время, ЧТВ, развернутая гемограмма, КЩС, креатинин, мочевина, Са, Р, общий белок, «С» реактивный белок, группа крови (при Vx нативной почки). - Подписанное родителями ребенка согласие на проведение Vx. В день Vx: - Пациента не кормить за 6 часов до Vx (с 2:00 ночи). - Премедикация: мидазолам (Дормикум) 0,1 мг перорально. - Для Vx: Кетанест и мидазолам в/в, контрольный лист препаратов крайней необходимости, дыхательный мешок и оксигенатор, мешок с песком (около 0,5–1,0 кг). Vx: - Проводится в отделении или палате интенсивной терапии. - Ребенок находится в положении на животе с роликом под эпигастрием (при Vx почечного трансплантата — на спине). - Седация: кетамин 0,5–1,0 мг/кг в/в, мидазолам 0,05 мг/кг в/в. - Локализация нижнего полюса левой нативной почки или любого полюса трансплантированной почки с помощью ультразвукового аппарата, маркировка места пункции. - Местная анестезия (в отмеченном месте) лидокаином с формированием туннеля для биопсийной иглы (под острым углом к капсуле почки) с помощью шприца. - Введение биопсийной иглы в сформированный туннель (биопсийный пистолет Magnum, Gallini и др., игла диаметром 16–18 gauge длиной 20 см) под тем же острым углом для обеспечения максимального объема коркового слоя почки, содержащего клубочки, и во избежание попадания иглы в мозговой слой и лоханку (крупные сосуды и опасность кровотечения) (рис. 9). - Забор почечной ткани (автоматически, после небольшого прокола почечной капсулы) с немедленной оценкой адекватности биоптата с помощью обычного светового микроскопа. Длина столбика должна быть более 1 см, клубочки выглядят как округлые образования красного цвета, мозговой слой в виде параллельных красных полос). Обычно 1–2 столбиков бывает достаточно (рис. 10). - Помещение биоптатов в 1 пробирку, содержащую 4%-й забуференный формалин (берется из той патологоанатомической лаборатории, куда направляется биопсия). - Стерильная асептическая повязка, мешок с песком на место пункции, перевод в отделение нефрологии. После Vx: 6 часов строгий постельный режим с мешком песка на месте пункции - В последующие 18 часов постельный режим, давящую повязку снимают через 24 часа - Исследование каждой порции мочи на макро- и микрогематурию (тест-полоской), при кровотечении: УЗИ в отделении Нативная почка: Контроль АД и ЧСС: первые 2 часа каждые 15 минут, последующие 4 часа каждые 30 минут, далее каждые 1–2 часа и ночью каждые 2–3 часа. Контроль ЧД и кислород через маску, пока пациент полностью проснется. Через 6 часов после Vx общий анализ крови, при снижении гемоглобина более, чем на 2 пункта, необходим осмотр и контрольное УЗИ дежурного врача. Почечный трансплантат: Контроль АД и ЧСС: каждые 15 минут 2-хкратно, последующие 4 часа каждые 30 минут, далее каждые 1–2 часа и ночью каждые 2–3 часа. - Контроль ЧД и кислород через маску, пока пациент полностью проснется В день выписки: УЗИ почки.
--

Рис. 9. Биопсийный пистолет Magnum (США)



Рис. 10. Почечный биоптат длиной около 2 см



тельных случаях, например, при подозрении на опухоль. Вх не показана при часто рецидивирующем НС, за исключением подозрения на нефротоксичность, обусловленную циклоспорином А. Вх рекомендуется при длительной изолированной ПУ или ГУ. Показания к Вх в последнее время сужаются в связи с возможностями методов неинвазивной диагностики. Противопоказания для Вх — единственная почка (это относительное противопоказание), эктопия почки, некурабельное нарушение свертывающей системы крови или неконтролируемая артериальная гипертензия.

Вх детям должна проводиться опытным детским нефрологом либо хирургом в условиях стационара. Процедура несложна и занимает около 15–20 минут. Осложнения встречаются редко. Риск незначительного кровотечения составляет 5–10%. Протокол Вх представлен в табл. 13.

Морфологические исследования

Репрезентативный для морфологического диагноза почечный биоптат должен содержать минимум 10 клубочков и артерию. Морфологическое исследование почечного биоптата включает три исследования: световую (СМ), иммуногистохимическую (ИГХ) или иммунофлуоресцентную и электронную (ЭМ) микроскопии. Для СМ и ИГХ почечная ткань, фиксированная в 4%-ном забуференном формалине (минимум 2 часа), заключается в гомогенизированный парафин с последующим получением серийных срезов толщиной не более 2–3 $\mu\text{м}$ на ротационном микротоме. Для ЭМ берется содержащий клубочки кусочек биоптата длиной около 1 мм, фиксированный в 2,5%-ном глутаральдегиде.

Световая микроскопия

Серийные срезы располагаются на 16 предметных стеклах, по 3 на каждом, для окраски методами: Гематоксилин-эозин, Шика (PAS), серебрение по Джонсу. Остальные неокрашенные стекла предназначены для дополнительных гисто- (Конго красный на амилоид) и иммуногистохимических исследований.

Иммуногистохимия

Определяются следующие показатели: IgG, IgM, IgA, C3, C1 q, C4d (при трансплантированной почке). Дополнительные показатели: каппа и лямбда легкие цепи (для выявления поражения почки при миеломной

болезни и др.), SV40 (полиома-вирус в трансплантированной почке) и др.

Электронная микроскопия

Приготовление препаратов для ЭМ включает: заключение в эпоксидные смолы, получение полу- и ультратонких срезов, помещение их на медные сетки с контрастированием.

Основные морфологические изменения, которые учитываются нефропатологом при постановке диагноза, перечислены в табл. 14, 15.

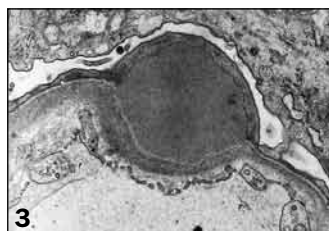
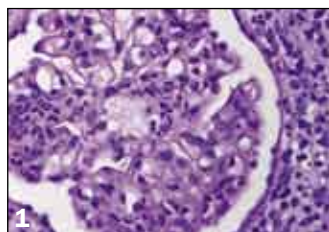
Таблица 14. Основные морфологические изменения при заболеваниях почек

1. Световая микроскопия
 - Клубочки:
 - структуры (эндотелий, мезангий, эпителий, гломерулярная базальная мембрана)
 - распространенность: диффузная/фокальная, тотальная/сегментарная
 - активные изменения (некроз, апоптоз, гиперклеточность, пролиферация)
 - хронические изменения (склероз, гиалиноз)
 - Канальцы и интерстиций
 - Сосуды
2. Иммуногистохимическая микроскопия
 - Наличие окрашивания (гранулярное, линейное) на IgA, IgM, IgG, C3, C1q
3. Электронная микроскопия
 - Базальные мембраны: утолщение, ламелляция
 - Мезангиальный матрикс: расширение
 - Электронно-плотные депозиты: субэндотелиальные, интрамембранные, субэпителиальные, мезангиальные
 - Подоциты: расплавление ножек
 - Другое: тубулоретикулярные структуры, фибриллы и др.

Таблица 15. Морфологические типы гломерулопатий (ГН)

- Болезнь минимальных изменений (нефротический синдром с минимальными изменениями)
- Фокально-сегментарный гломерулосклероз
- Мезангиопролиферативный ГН: с депозитами IgA и без них
- Мембранопролиферативный ГН: 3 типа
- Диффузный эндокапиллярный пролиферативный ГН
- Экстракапиллярный (полулунный) пролиферативный ГН
- Мембранный ГН
- Тромботическая микроангиопатия

Рис. 11. Диффузный пролиферативный ГН (постинфекционный ГН)



Примечание.

- 1) СМ — увеличенный клубочек с окклюзией просветов некоторых капилляров из-за выраженной эндокапиллярной пролиферации, в основном за счет нейтрофилов (PAS).
- 2) ИГХ — диффузное глобальное гранулярное отложение СЗс в гломерулярной базальной мембране и мезангии.
- 3) ЭМ — крупный субэпителиальный электронно-плотный депозит («горб»).

Более того, важно учитывать большие индивидуальные различия в фармакокинетике, фармакодинамике препаратов и их взаимодействии друг с другом. Врожденные различия в ответе на лекарственные препараты изучает фармакогенетика. Так, генетический полиморфизм ферментов, метаболизирующих лекарства, встречается при применении 30% всех лекарств. К примеру, даже на стандартной дозе азатиоприна, отсутствие или снижение функции тиопурина-S-метилтрансферазы у пациентов приводит к угрожающей для жизни гемопозитической токсичности (Eichelbaum M., Ingelman-Sundberg M., Evans W.E. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med.* 2006; 57: 119–37). На рис. 17 отражены различия в уровнях ЦсА в крови у пациентов при одной и той же дозе перорального ЦсА.

В связи с вышеуказанным, для достижения оптимальной индивидуальной дозы, обеспечивающей достаточный иммуносупрессивный ответ и отсутствие токсичности, важно регулярно мониторировать уровни препаратов в крови. Золотой стандарт лекарствен-

Примеры некоторых гломерулярных заболеваний представлены на рис. 11–13.

Основными причинами дисфункции почечного трансплантата являются острое отторжение, нефротоксичность ингибиторов кальциневрина, полиомавирусный тубулоинтерстициальный нефрит (рис. 14–16).

5. Мониторинг лекарственных препаратов

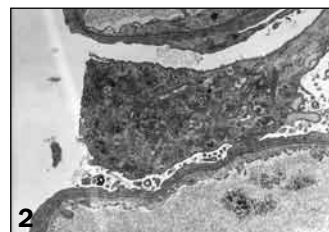
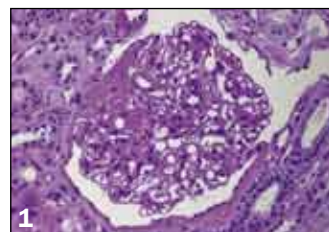
Иммуносупрессивная терапия применяется в лечении рецидивирующего, стероидрезистентного НС, пролиферативных форм ГН, ГН при васкулитах, аутоиммунных заболеваний, а также после трансплантации почки (Tx). Иммуносупрессивные препараты (циклоsporин А (ЦсА), мофетила микофенолат (ММФ), такролимус, рапамицин, эверолимус), а также некоторые антимикробные препараты (тобрамицин, ванкомицин) имеют узкое терапевтическое окно.

нормального мониторинга — определение AUC (площадь под временной кривой концентрации, нг/мл/час), которое редко применяется в клинической практике в связи с необходимостью нескольких заборов крови. Чаще уровень препарата в крови определяется однократно — перед приемом препарата (C_0) или на пике его уровня в крови (C_2 то есть через 2 часа после приема для ЦсА). При расчете дозы препаратов необходимо обязательно учитывать функции почек, так как большинство лекарственных средств элиминируются почками. Мониторинг лекарственных препаратов — очень дорогостоящая процедура. Так, для контроля за антибиотиками (ванкомицин, тобрамицин) и антиконвульсантами (окскарбазепин, вальпроат, фенobarбитал, фенитоин) при почечной недостаточности требуется около тысячи евро в год.

6. Молекулярная биология

В последние годы в нефрологии стали чаще применяться молекулярные методы исследования, которые позволяют диагностировать генетические болезни почек до их клинических проявлений, выявлять патофизиологические механизмы их развития (геномика), дифференцировать этиологически схожие клинические и гистопатологические фенотипы (транскриптомика) и проводить оценку индивидуаль-

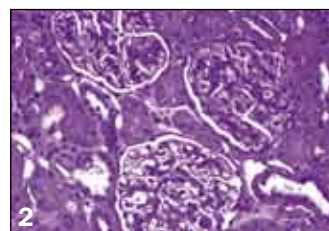
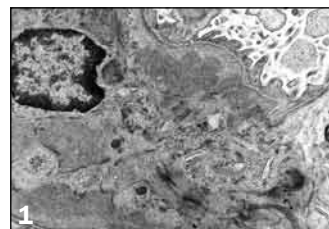
Рис. 12. Фокально-сегментарный гломерулосклероз



Примечание.

- 1) СМ — увеличенный клубочек с сегментарным склерозом и гиалинозом, с небольшой мезангиальной пролиферацией и увеличением мезангиального матрикса (PAS).
- 2) ЭМ — расплавление ножек подоцитов.

Рис. 13. IgA-нефропатия



Примечание.

- 1) СМ — Диффузное умеренное расширение мезангиального матрикса и мезангиальная пролиферация (PAS).
- 2) ИГХ — значительное отложение IgA в мезангии.
- 3) ЭМ — электронноплотные депозиты в мезангии.

Рис. 14. Тяжелое острое сосудистое отторжение Banff III. Выраженный интимальный и трансмуральный артериит (PAS)

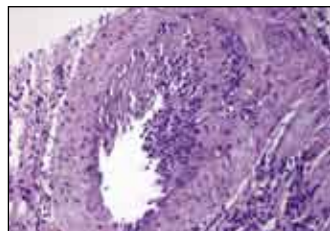
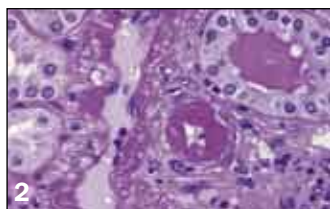


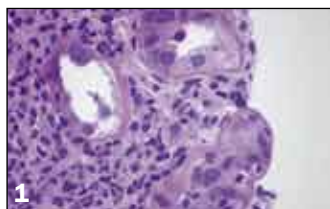
Рис. 15. Нефротоксичность ингибиторов кальцийневрина



Примечание.

- 1) острая: изометрическая вакуолизация тубулярного эпителия (Г-Э).
- 2) хроническая: нодулярный гиалиноз небольшой артерии (PAS).

Рис. 16. Полиомавирусный тубулоинтерстициальный нефрит



Примечание.

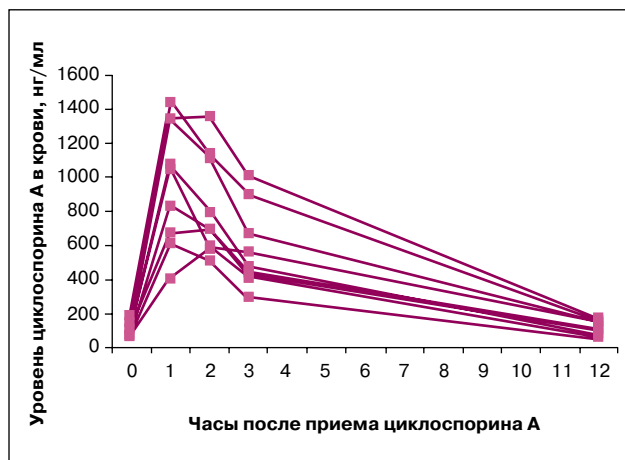
- 1) CM — увеличенные ядра клеток тубулярного эпителия с характерными тельцами включения, выраженная инфильтрация интерстиция мононуклеарами (PAS).
- 2) ИГХ — выраженная позитивность на антиген полиомавируса (SV40).

ной чувствительности к лекарственным препаратам (недостаточное действие или токсичность) (фармакогенетика). Имеется много ловушек в молекулярно-биологической диагностике, которые отчасти связаны с выраженными различиями клинических проявлений болезни в одной и той же семье (отсутствие корреляции генотип-фенотип). Следует помнить о возможности сосуществования двух независимых болезней почек у одного пациента, например, нефротоксичность цитостатиков после лечения опухоли Вильмса; интерстициальный нефрит, вызванный лечением травмами у пациента с нефротическим синдромом, или пост-инфекционный ГН у носителя гена Альпорта и др. При многих наследственных болезнях характерные мутации до настоящего времени еще не выявлены.

7. Молекулярная генетика

Все шире применяется чувствительный метод молекулярного количественного анализа вирусных ДНК и РНК, позволяющий диагностировать новую или реактивацию хронической инфекции (ЦМВ, вирус Эпштейн–Барр, вирус простого герпеса, полиома вирус (ВК) и т.д.) за недели до иммунологического ответа. При этом воспроизводимость, чувствительность и сопоставимость методов, обусловленные мутацией изменения и интер-

Рис. 17. Индивидуальные различия в фармакокинетике ЦсА (уровни в цельной крови) среди 8 детей, получающих одинаковую дозу перорального ЦсА 200 мг/м²/сут [20, 21]



претация динамики титров на фоне лечения — предметы постоянных дискуссий. Анализы экспрессии генов показывают различия в зависимости от исследуемого материала (кровь, биопсии), времени и воздействия внешних факторов. (Имеется возможность бесплатного исследования изолированной ДНК (предпочтительнее, чем цельная кровь) на мутации генов некоторых заболеваний почек в Университете Мичигана, США (www.renalgenes.org)). Методы генной активации с количественным определением РНК дают информацию об иммуно-воспалительных процессах в почках (моча, биопсия) и в организме в целом (кровь), позволяют выявить индикаторы обострения заболевания (отторжение трансплантата, СКВ, ФСГС и т.д.) Возможно получение информации о наличии так называемых суррогатных маркеров еще до наступления морфологических проявлений заболевания, при неэффективности терапии. Исследование активации отдельных генов, которые находятся в фазе изучения, должно обсуждаться только с опытным детским нефрологом. В табл. 16 представлены возможности молекулярной генетики в диагностике различных наследственных заболеваний почек.

Тем не менее, молекулярная диагностика не освобождает нас от выяснения точной клинической и гистопатологической картины болезни. Прогноз болезни на основании генетических исследований во время беременности требует критического подхода, основанного на законах генетики человека. В связи с дороговизной метода необходима скоординированность действий педиатров с детскими нефрологами и генетиками для максимально целенаправленного применения молекулярной диагностики.

Практические рекомендации

Пример.

У ребенка с острой почечной недостаточностью (ОПН) в течение первых 12 часов после поступления необходимо установить уровень поражения (преренальный, ренальный или постренальный). Для этого требу-

Таблица 16. Возможности молекулярной генетики в диагностике различных наследственных заболеваний почек

Наследственное заболевание почек	Ген (Omit#) / Локализация	Кодируемый белок/Функция
Гломерулярные заболевания		
Синдром Альпорта	Col4A5 (301050) / Xq22.3	α5 цепь коллагена 4 типа
	Col4A4 (203780) / 2q36–q37	α4 цепь коллагена 4 типа
Нефрозы	NPHS1 (602716) / 19q13.1	Нефрин
	NPHS2 (604766) / 1q25–q31	Подоцин
Тубулярные заболевания		
Синдром Барттера	Bartter1 — SLC12A1 (601678) / 15q15–q21	Барттин
	Bartter2 — KCNJ1 (241200) / 11q24	
Цистиноз	CTNS (219800) / 17p13	Цистинозин
Цистинурия	SLC3A1 (220100) / 2p16.3	Белок-транспортер аминокислот
Болезнь Дента	CLCN5 (300008) / Xp11.22	CLCK2-хлоридный канал
Оксалоз	AGXT (259900) / 2q36–37	Аланин-глиоксилат аминотрансфераза
Нефрогенный несахарный диабет	NDI1 (304800) Xq28 / NDI2 (125800) 12q13	V2-рецептор, аквапорин-2
Ренальный тубулярный ацидоз а) проксимальный, аутосомно-доминантный b) дистальный, аутосомно-рецессивный	SLC9A1 (182307) / 5p15.3 SLC4A4 (604278) / 4q21	
Кистозные заболевания		
Нефронофтиз	NPHP1 (256100) / 2q13	Нефроцистин
	NPHP2 (602088) / 9q31	Инверсин
Поликистозная дегенерация почек	PKD1 (601313) / 16p13.3–p13.12	Полицистин
	PKD2 (173910) / 4q21–q23	Полицистин 2
Медуллярная кистозная болезнь почек	MCKD 1(174000) 1q21	
	MCKD 2 (603860) 16p12	
Синдромы		
Опухоли Вильмса Денис-Драш	WT1 (607102) / 11p13	Zinc-Finger Транскрипционный ген
Бранхио-ото-ренальный	EYA1 (113650) / 8q13.3	?
Лоренса–Муна–Барде–Бидля	BBS1–BBS8 (209900) / 20p12, 16q21, 11q13 и.а.	BBS, функция ?
Лоу (окулоцереброренальн)	OCRL1 (309000) / Xq26.1	?
Nail-Patella	LMX1B (161200) / 9q34.1	Фактор транскрипции LIM
Болезнь Шимке	SMARCAL 1 (242900) / 2q34–q36	Регулятор хроматина, восстановление ДНК

ется оценка экскреции фракционированного натрия, характера ГУ, ПУ и УЗ картины почек и мочевых путей. При затруднениях в диагностике заболевания почек необходимо собрать и заморозить кровь и мочу для последующего углубленного исследования. При первом обращении бывает трудно дифференцировать ОПН от ХПН. На ХПН могут указывать низкий рост, изменения глазного дна гипертонического характера, остеопатия,

длительное снижение физической активности (устоляемость), анемия, полиурия и снижение веса. С целью быстрой, целенаправленной, рациональной и малозатратной диагностики заболеваний почек разработаны алгоритмы диагностики болезней почек. Алгоритмы диагностики при ОПН представлены в табл. 17 и на рис. 18, при протеинурии — в табл. 18 и на рис. 19, гематурии — в табл. 19 и на рис. 20 и лейкоцитурии на рис. 21.

Таблица 17. Алгоритм диагностики при острой почечной недостаточности

Исследования крови: <i>Основные исследования:</i> • К, Na, Са, Cl, Р, мочевины, креатинин • «С» реактивный белок, глутамат-оксалацетат-трансаминаза, креатинкиназа, белок • ОАК <i>Дополнительно при подозрении на ГУС:</i> • ЛДГ и свободный гемоглобин • Мазок крови (фрагментоциты) <i>Дополнительно при подозрении на острый ГН:</i> • Комплемент С3,С4,СН50 • ANA, ANCA, антистрептолизин О, двухспиральная ДНК Исследования мочи: осмолярность, креатинин, Na, К, альбумин, α1-микроглобулин, оксалаты, гемоглобин, миоглобин, эритроциты, лейкоциты.
--

Дифференциальный диагноз ОПН по анализам мочи

Преренальная	Ренальная
Осмолярность > 500 ммоль/л	Осмолярность > 300 ммоль/л
FE _{Na} < 1 *	FE _{Na} > 2*
α1-микроглобулин отр.	α1-микроглобулин ↑

* FE_{Na} = (U_{Na} × S_{crea} / U_{crea} × S_{Na}) × 100

Таким образом, в течение последних 20 лет в детской нефрологии произошел значительный прогресс в разработке методов диагностики. При скрининговом исследовании мочи установлена информативность тест-полоски. Кроме того, упрощены и стандартизированы

Таблица 18. Алгоритм диагностики при протеинурии

Основные исследования: • Анамнез: семейный анамнез, лекарственная терапия, предшествующие и сопутствующие заболевания • Физикальный осмотр: отеки, асцит, выпот в плевральной полости, АД • Анализы мочи: тест-полоски, количественное определение альбумина, α1-микроглобулина, калия, натрия, количества клеток в 1л мочи. • Анализы крови: СОЭ, гемограмма, электролиты, мочевины, креатинин, альбумин, холестерин, глюкоза, комплемент, титр антистрептолизина О, холинэстераза • Ортостатическая проба • УЗИ почек и мочевых путей Дополнительные исследования: • Инфекции: серология на гепатиты • Иммунология: Ig, антитела к двухспиральной ДНК, С3 нефритический фактор и др. • Коагулограмма Специальные исследования: • Вх со световой, иммуногистохимической и электронной микроскопией нефробиоптата • Клиренс для определения СКФ, ППТ и ФФ • Молекулярная генетика, например, мутации генов подоцитов

методы диагностики гематурии и протеинурии, определения электролитов в сыворотке крови и моче. Методы определения сывороточных креатинина и мочевины были дополнены определением цистатина С. Разработанные формулы и диаграммы пара-

Рис. 18. Алгоритм диагностики острой почечной недостаточности



Рис. 19. Алгоритм диагностики при протеинурии

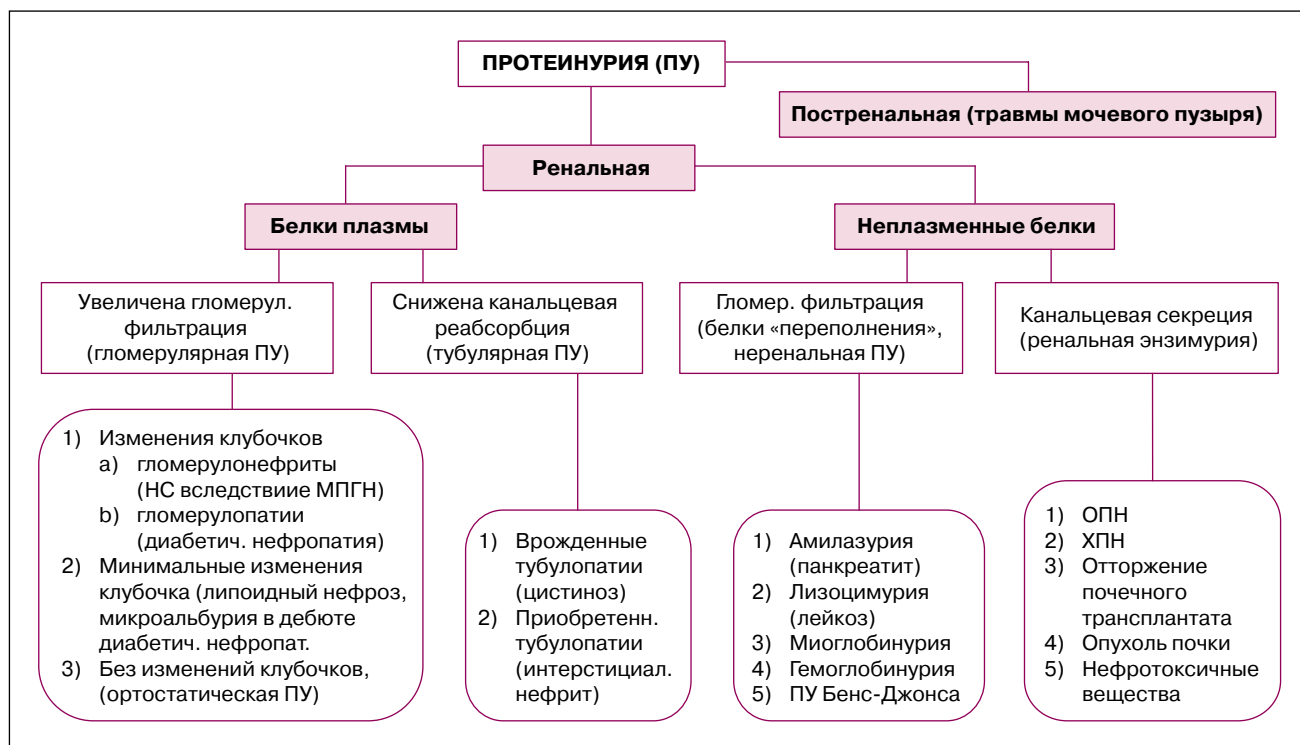


Рис. 20. Алгоритм диагностики при гематурии

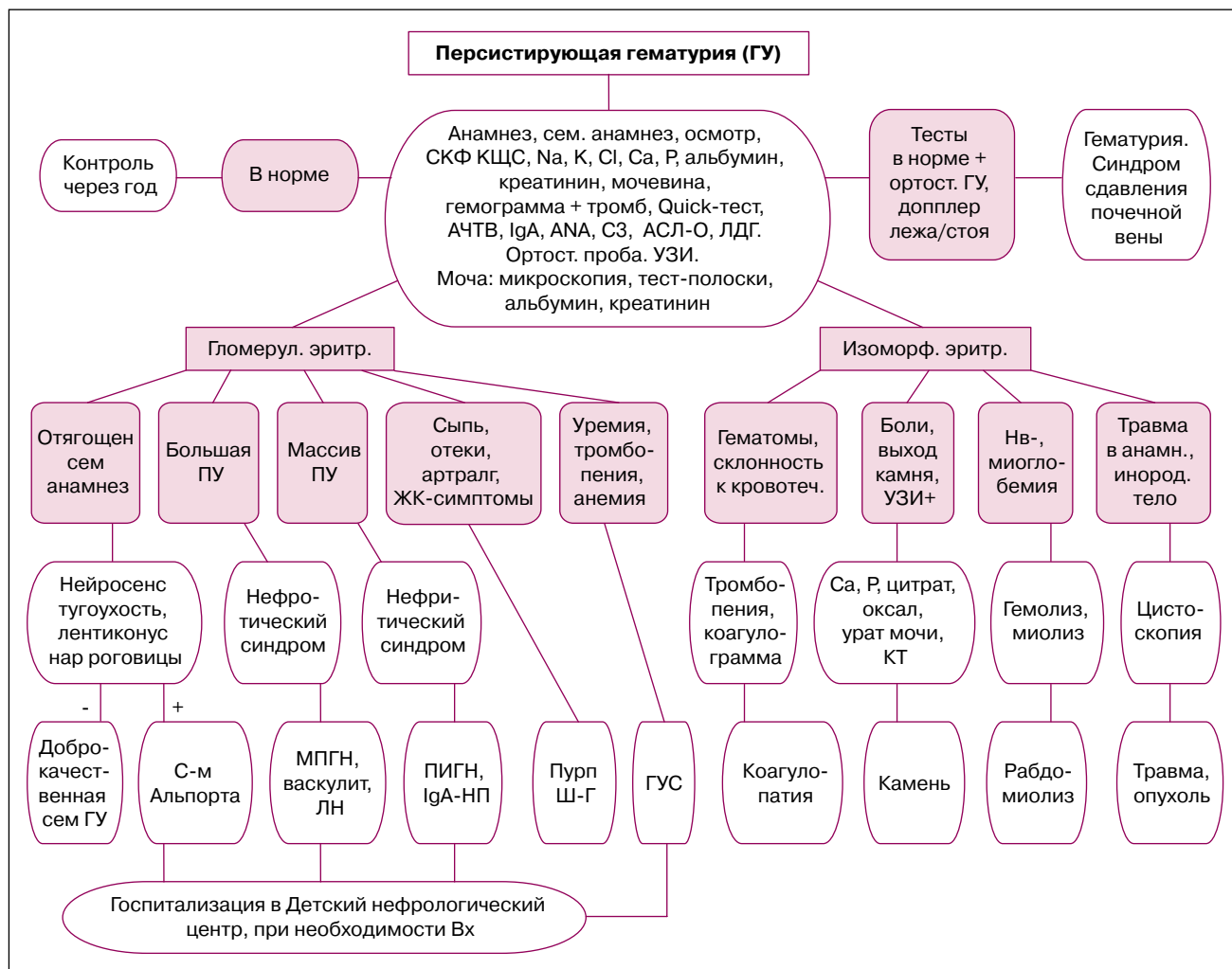


Рис. 21. Алгоритм диагностики при лейкоцитурии

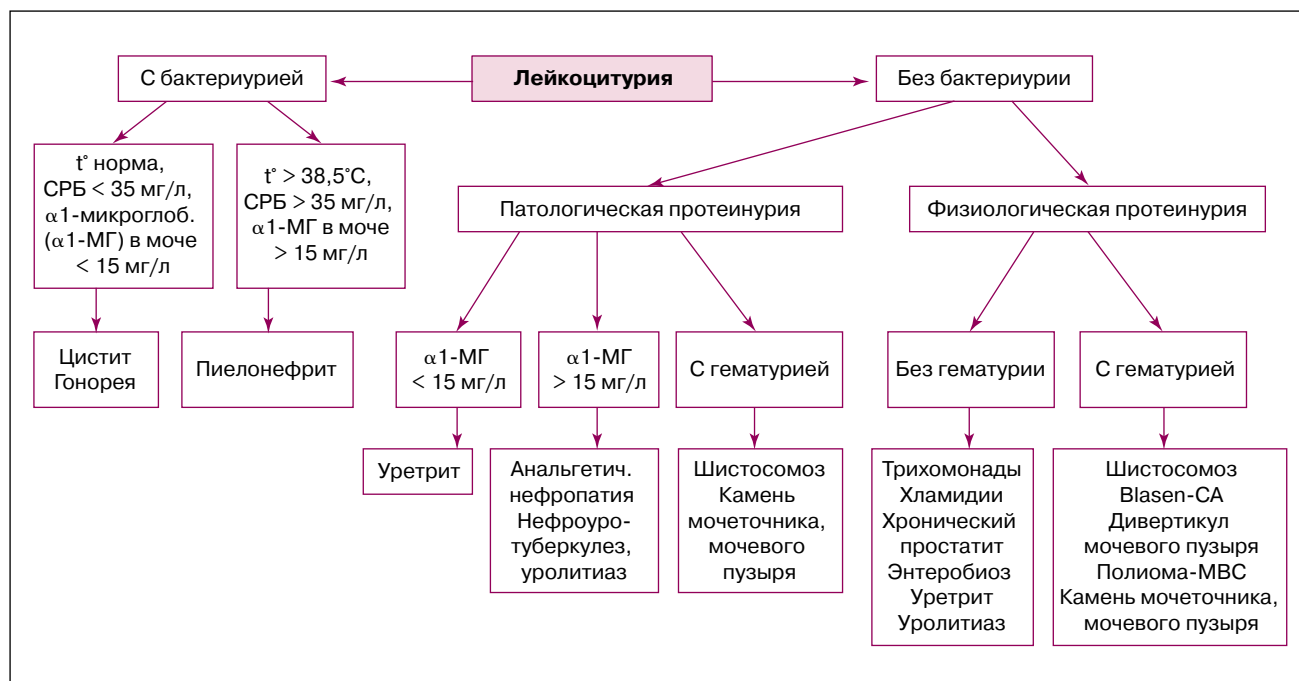


Таблица 19. Алгоритм диагностики при гематурии

Основные исследования:

- Анамнез: семейный анамнез, лекарственная терапия, предшествующие и сопутствующие заболевания
- Физикальный осмотр: пальпация живота, инфекции дыхательных и половых путей, измерение АД
- Анализы мочи: количественная и качественная оценка осадка мочи (цилиндры, редко трехстаканная проба), кальций
- Анализы крови: СОЭ, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺, PO³⁻, гемограмма + тромбоциты, мочевины, креатинин, белок, АСТ, СЗ комплемент, возможна заморозка сыворотки для последующих исследований
- УЗИ почек и мочевых путей

Дополнительные исследования:

- Анализы крови: мочевины, иммуноглобулины, антинуклеарный фактор и т.д.
- Иммунология: Ig, АТ к двухспиральной ДНК, СЗ-нефрит фактор и др.
- Анализ мочи на мочевую, щавелевую кислоты, цистин
- Консультация ЛОР-врача и окулиста для исключения глухоты и других нарушений

Специальные исследования:

- Цистоскопия при макрогематурии и подозрении на односторонний процесс, опухоль, инородное тело
- Клиренс для оценки СКФ, ППТ и ФФ
- Вх при подозрении на гломерулярное заболевание

метров сыворотки крови и мочи позволили получить представление о патофизиологических процессах, лежащих в основе болезней почек. Тем не менее, оценка скорости клубочковой фильтрации с помощью формул, по-прежнему представляет собой слабое звено в диагностике, тогда как более точные методы оценки клиренса инвазивны, требуют затраты времени и средств, либо сопряжены с радиационной нагрузкой. В течение последних лет сужаются показания к биопсии почки в связи с более широким применением информативных неинвазивных методов диагностики. Терапевтический лекарственный мониторинг защищает пациентов от недостаточной или избыточной дозировки медикаментов при иммуносупрессивной терапии или при почечной недостаточности. Молекулярно-биологические исследования (в частности, определение цитокинов) пока остаются на стадии разработки, в связи с чем недоступны для широкого применения. Молекулярно-генетические исследования позволяют диагностировать редкие наследственные заболевания, но они не способны заменить тщательное клиническое и патофизиологическое обследование. Поэтапная диагностика и алгоритмы облегчают постановку диагноза при тяжелых состояниях в нефрологии.

Список литературы см. на стр. 83.

A.Y. Naushabayeva¹, K.A. Kabulbayev¹, A.L. Rumyantsev², V. Brocker³, J. Ehrich⁴

¹ Department of Nephro-Urology, Scientific Center of Paediatrics and Children's Hospital, Almaty, Kazakhstan

² Department of Kidney Transplantation, State Organisation, Russian Children's Clinical Hospital, Federal Agency of Health Care and Social Development, Moscow, Russia

³ Institute of Pathology, Hannover Medical School, Germany

⁴ Department of Pediatric Kidney, Liver and Metabolic Diseases, Children's Hospital, Hannover Medical School, Germany

Rational diagnostic methods and algorithms for detecting kidney diseases in children

Contact information:

Prof. Jochen H.H. Ehrich, Department of Pediatric Kidney, Liver and Metabolic Diseases, Children's Hospital, Hannover Medical School

Address: Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover, Germany, e-mail: ehrich.jochen@mh-hannover.de

Accepted: 07.04.2009, submitted for publication: 14.07.2009 r.

66

This review summarises the basic and essential laboratory tools for identifying and differentiating renal diseases in children. Furthermore, it describes the limits of out-dated techniques and the potential of new diagnostic laboratory methods. Diagnostic algorithms are shown which, together with supplementary methods allow, firstly, the diagnosis of the location of renal damage levels; secondly, clarification of the etiology of the disease and, thirdly, the characterisation of the stage of the renal function disorder.

Key words: kidney diseases, diagnostics, symptoms of renal damage, children.

Inherited and acquired renal diseases occur frequently in childhood. About 10% of girls and 5% of boys under 18 years of age have experienced one or more renal diseases of varying nosology (see Table 1).

The outcome of chronic renal diseases is end-stage renal disease (ESRD), which presents serious therapeutic, economic and social problems. The mortality rate among patients with ESRD is 10 times higher than the mortality rate in the general population [1]. In most European countries, the renal replacement therapy for one patient costs €20,000–50,000 per year. Patients with ESRD represent 0.025% of the general population of the European Community countries, but governments spend up to 1.8% of the state medical care budget on treatment [2]. Therefore, the main aim of modern nephrology is the maximum prolongation of own-kidney function. Thus, it is essential to optimise nephrological care, as this depends on a variety of factors (Fig. 1). In Table 2, the ratio of specialist per child population in Europe and Russia receiving nephrological treatment is shown.

Progress in modern diagnostics in pediatric nephrology allow for improved nephrological care for children. As a rule, the new tools are very expensive, and they should only be applied when indicated. Routine methods are less expensive but their capabilities are limited in that they

may not present a complete picture of the renal damage. Additionally, unfortunately, their potential is often not fully used. The comprehensive nephrological care of children is only possible if standardised laboratory diagnostics and treatment methods are used. It is important to remember that new and expensive may not always be the best.

Diagnostics in pediatric nephrology

As well as a comprehensive history and clinical examination, the following is recommended:

- Urine tests.
- Blood tests.
- Instrumental investigations.
- Kidney biopsy + morphological investigations.
- Drug monitoring.
- Molecular biology (biomarkers).
- Molecular genetics.

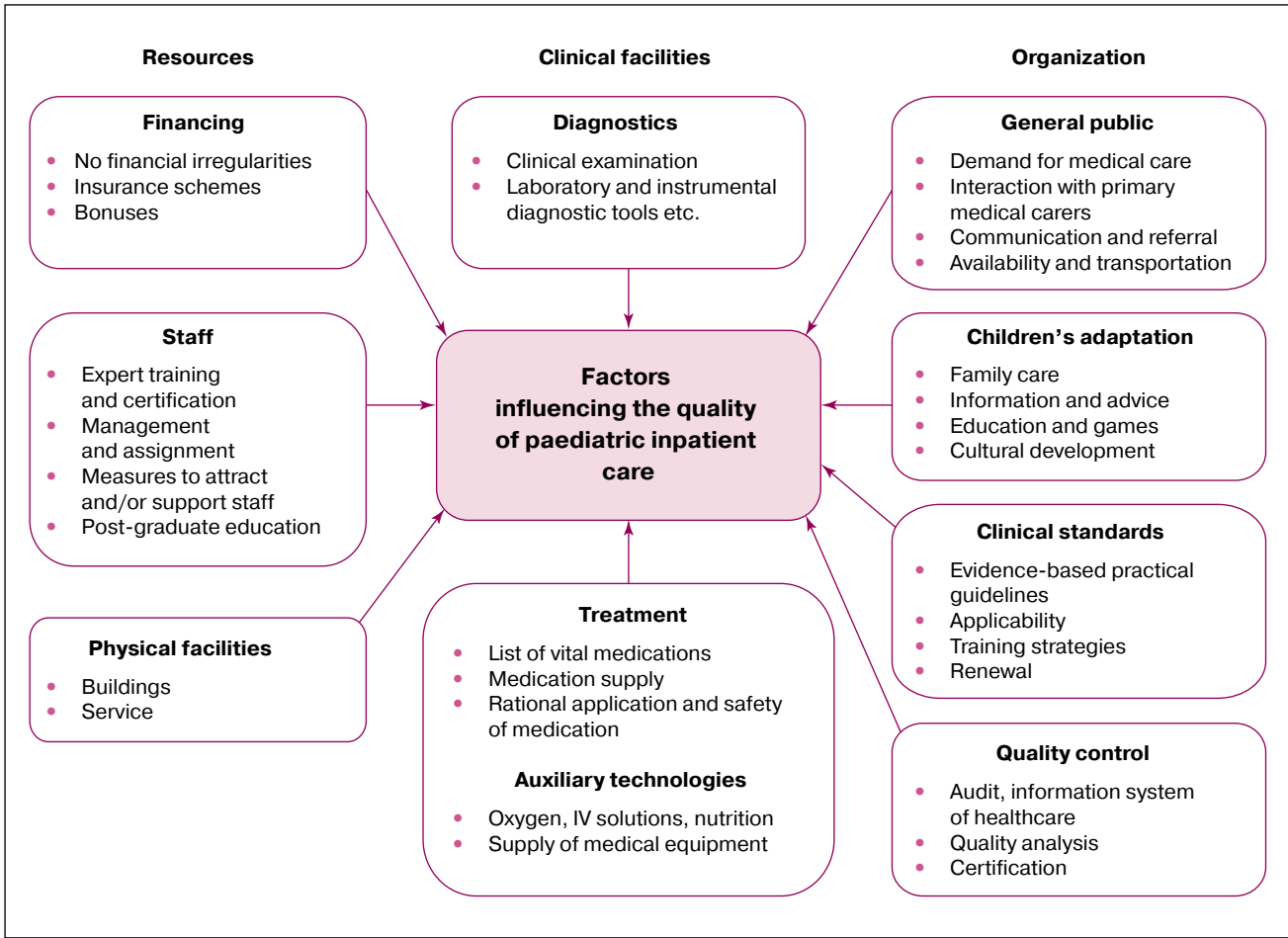
The main extrarenal manifestations of renal diseases are oedema (the diagnostic algorithm is presented below) and arterial hypertension (AH). To identify AH the age-dependent values (Table 3) and daily monitoring of arterial blood pressure are required.

As clearly seen from Table 4, the variety of clinical symptoms associated with renal diseases is poorly pathognomonic. In this case it is impossible to diagnose

Table 1. The frequency of the renal diseases in childhood

Diseases	Frequency
Congenital abnormalities of the kidney and urinary tract	About 1% of all the newborns, more often boys
Bacterial infections of the urinary tract	7.8% of girls and 2.5% of boys under 7 years
Inherited and acquired glomerular diseases	The frequency of the nephrotic syndrome is 16 per 100,000 children. The nephritic syndrome or isolated haematuria and proteinuria occur more frequently than the nephrotic syndrome
Tubulopathies	Rare
Renovascular diseases	Rare
Acute renal failure	15–20 new cases per 1 mio. children per year
End-stage renal disease (outcome of the above-mentioned diseases)	7–9 new cases per 1 mio. children per year

Fig. 1. Optimisation of pediatric nephrological care (it is essential to apply the approved and standardised diagnostic tools to exclude under- or overdiagnosis). Adapted from Campbell H. et al., 2008 [3]



the patient without special laboratory and instrumental diagnostic methods.

1. Urine investigations

For analysis, it is essential to use the middle portion of the second freshly-voided morning urine without using

stabilizers. However, if there is no possibility of getting an early morning urine sample any urine obtained during the day may be used. Stabilisers are rarely justified, for example, when collecting urine for detection of oxalate excretion. Do not delay the urine collection, as it could be the last urine, which the patient is able to void.

Table 2. Demographic indices of pediatric nephrological care in Europe and Russia in 1998 [4]

Specialty	Per 1 mio. children	
	Russia	Other Europe
Paediatric nephrologists	4.4	4.9
Paediatricians with a special interest in nephrology	6.0	5.8
Number of nephrologists per paediatrician	1/446	1/145
Paediatricians with an interest in nephrology per paediatrician	1/335	1/123

Table 3. Mean 24h arterial blood pressure measurement in children [5]

Boys						
Height cm	24h		Daytime (08:00–20:00)		Nighttime (08:00–20:00)	
	50 th percentile	95 th percentile	50 th percentile	95 th percentile	50 th percentile	95 th percentile
120	105/65	113/72	112/73	123/85	95/55	104/63
130	105/65	117/75	113/73	125/85	96/55	107/65
140	107/65	121/77	114/73	127/85	97/55	110/67
150	109/66	124/78	115/73	129/85	99/56	113/67
160	112/66	126/78	118/73	132/85	102/56	116/67
170	115/67	128/77	121/73	135/85	104/56	119/67
180	120/67	130/77	124/73	137/85	107/56	122/67
Girls						
Height cm	24h		Daytime (08:00–20:00)		Nighttime (08:00–20:00)	
	50 th percentile	95 th percentile	50 th percentile	95 th percentile	50 th percentile	95 th percentile
120	102/65	113/73	111/72	120/84	96/55	107/66
130	105/66	117/75	112/72	124/84	97/55	109/66
140	108/66	120/76	114/72	127/84	98/55	111/66
150	110/66	122/76	115/73	129/84	99/55	112/66
160	111/66	124/76	116/73	131/84	100/55	113/66
170	112/66	124/76	118/74	131/84	101/55	113/66
180	113/66	124/76	120/74	131/84	103/55	114/66

Table 4. The clinical symptoms of renal diseases

General symptoms	Polydipsia, loss of appetite, pallor, weakness, fatigue, fever, oedema, ascites, exsiccosis, gastrointestinal symptoms, skin changes (systemic lupus erythematosus, vasculitides), arterial hypertension, hearing loss
Changes in diuresis, urinary sediment	Oliguria/anuria, polyuria, dysuria, pollakisuria, nycturia, enuresis, urine retention, (macro-) haematuria, foamy urine (proteinuria), leukocyturia
Symptoms of endocrine system disorder	Short stature, developmental retardation
Nervous system damage symptoms	Acute attacks (syncope, seizures), visual impairment, headache
Pains	Abdominal pain, loin pain, osteoalgia
Dysembryogenetic stygmata	Congenital abnormalities of the face, auricles, hands, spine, feet and lateral cervical fistulas

Using urinary dipsticks (qualitative analysis) is cheap and accurate for urine screening. Sticks can be used even in tropical conditions [6]. It is not necessary to perform microscopic investigations of the urine if there is no haematuria/haemoglobinuria or leukocyturia on dipsticks. If a pathological finding is found on dipsticks, further quantitative biochemical and microscopic investigation is required. Liters are the units of measurement for the chemical substances in urine (for example, the upper limit of albumin in urine is 20 mg/l), while microliters are the units for cell count. In order to neutralise the different concentrations of substances in the urine, it is recommended to use the ratio of their level to the level of a substance, of which excretion is stable during the day. Creatinine is such a substance. The ratio of the levels of the identifiable substance and creatinine in urine may be expressed by mmol of substance/mmol of creatinine (Table 5).

Most children older than 2 years have 5 ± 4 mmol/l of creatinine in urine with a normal fluid intake regimen. There might be an error of «urine dilution» when urine creatinine is about 2 mmol/l or «urine concentration» if the concentration is about 12 mmol/l. In these cases, the creatinine coefficient (CC) differs from the true one by 2–3 times. CC calculation is not required if the albumin concentration in urine is 1 g/l which means a 50-fold increase. CC of all substances is higher in infants in comparison with older children which is not due to their increased excretion but to smaller muscle mass. Normal CC indices in newborns are 4 times higher than in older children. Once the CC is calculated, it is not necessary to further determine the daily excretion of substances.

For the correct interpretation of the urinary excretion of electrolytes (Na, K, Ca, Mg, Cl, P), a knowledge of their serum levels or of their daily intake is essential. The last factor is rarely available except in cases with parenteral electrolyte infusion. For example, in a case of hypokalemia 3.0 mmol/l and kaliuria of < 20 mmol/l reflects the normal excretory renal function. In case of hyperkalemia 6.5 mmol/l a kaliuria < 20 mmol/l is a sign of renal failure with the retention of K, because the healthy kidneys should excrete K in increased amounts of ca 80 mmol/l and higher. Special attention should be paid to the calcium excretion, as its increase is associated with the higher risk of nephrocalcinosis and nephrolithiasis. Excretion of the organic acids (citrates, oxalates, urates) should be defined in special laboratories (as it is a very expensive method) in case of suspected hyperoxaluria, hypo- or hypercitraturia, hypouricosuria. For detection of pH and relative urine density the quantitative methods (pH-metry and osmolality detection) are recommended as urinary dipsticks are of little use poorly informative in this case.

1.1 Proteinuria, including urinary proteomics

Proteinuria is a sign of renal disease and a marker for localisation and severity of renal damage. There may be a transient elevation of albumin in urine in conditions such as fever, considerable physical exertion, haematuria and urinary tract infection. The activity of proteases in urine is also important in diagnostic errors (the temperature of 8°C reduces their activity, thus, the urine can be stored for a couple of hours prior to analysis). Normal values of the PU are given in Table 6.

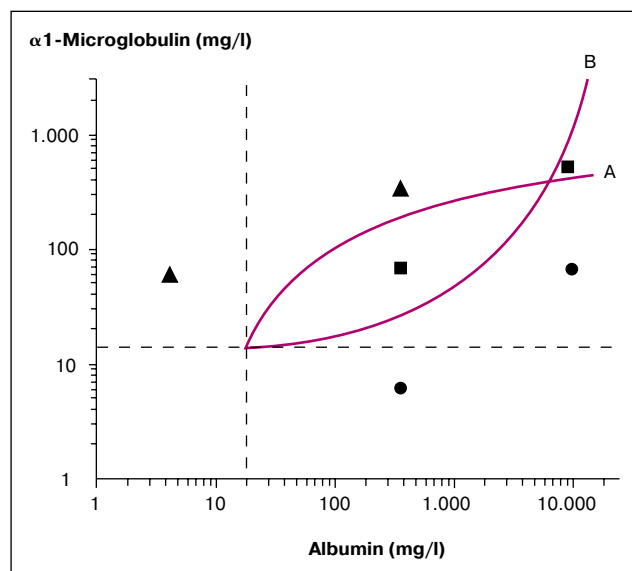
Table 5. Age-dependent urinary excretion of substances by the creatinine coefficient (95th percentile) [7, 8]

Substance/Creatinine, millimoles/millimoles	Age, years							
	1/12–1	1–2	2–3	3–5	5–7	7–10	10–14	14–17
Sodium/creatinine	54	58	56	57	51	42	34	28
Potassium/creatinine	74	68	63	48	33	22	15	13
Calcium/creatinine	2,2	1,5	1,4	1,1	0,8	0,7	0,7	0,7
Magnesium/creatinine	2,2	1,7	1,6	1,3	1,0	0,9	0,7	0,6
Phosphate/creatinine	19	14	12	18	5	3,6	3,2	2,7
Oxalate/creatinine	0,17	0,13	0,1	0,08	0,07	0,06	0,06	0,06
Uric acid/creatinine	1,5	1,4	1,3	1,1	0,8	0,56	0,44	0,4

Table 6. Normal ranges of proteinuria

Healthy children > 2 years	Protein			Albumin			α -1-microglobulin		
	in urine	/creatinine in urine		in urine	/creatinine in urine		in urine	/creatinine in urine	
	mg/l	mg/g	mg/mmol	mg/l	mg/g	mg/mmol	mg/l	mg/g	mg/mmol
	< 100	< 100	< 10	< 20	< 20	< 5	< 10	< 5	< 1

Fig. 2. Diagram for diagnostics of pathologic proteinuria using albumin levels and alpha-1-microglobulin excretion



Note.

The region above the A line corresponds to tubular proteinuria (triangles), while the region below the B line corresponds to glomerular proteinuria (dots) and the region between the A and B lines, corresponds to the glomerular-tubular proteinuria (squares). The dashed lines represent the upper limits of normal values (for albumin less than 20 mg/l and for α 1-microglobulin — less than 15 mg/l).

PU could be studied by various methods [9]:

- Total protein.
- Protein-markers: albumin, α -1-microglobulin, transferrin, IgG.
- Electrophoresis: cellulose-acetate, SDS-PAGE [11].
- Enzymuria: NAG, AAP etc.
- Proteomics.
- Biomarkers (enzymes, NGAL).

Notice: the low-cost method for semiquantitative identification of proteinuria in children with nephrotic syndrome at home — using 20% solution of sulphosalicylic acid (2 g of sulphosalicylic acid should be dissolved in 8 ml distilled water). Method of detection: 3–4 drops of the solution should be added to 2–3 ml of urine and mixed well. Interpretation of findings:

- Urine remains clear: negative.
- Light clouding (smoke in the room): 1+.

- Moderate clouding (milk in water): 2+.
- Intense clouding (cheese), sediment 3+.

The solution can be stored for long periods.

Estimation of the protein/creatinine ratio in urine replaced the 24 h collection of urine without loss of diagnostic sensitivity and specificity. Detection of the level of the total protein in urine without proteins-markers does not provide any information for us, particularly it does not allow differentiation between glomerular and tubular proteinuria, whereas the new electrophoresis methods for separation of the urinary proteins depending on their molecular weight allow for this [10]. By contrast, the cellulose-acetate-gel electrophoresis should not be used because it is an out-of-date method. The nephelometric method to define the proteins-markers by means of AAA algorithm (Table 7) quickly distinguishes between the glomerular and tubular dysfunction (Fig. 2).

Slight albuminuria about 20–100 mg/l (so-called microalbuminuria) is of clinical importance as an early indicator of renal damage (for example, in case of diabetic nephropathy, cardiovascular disorders in essential hypertonia). Urine enzymes such as N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and others allow detection of toxic tubular damage. The study of urinary enzymes does not distinguish between different tubular disorders and diseases and for this reason are not used in routine practice.

Urinary proteomics, a new noninvasive diagnostic method, is invaluable in pediatric practice. In Fig. 3, there is an example of the urinary proteomics in patients with Fanconi syndrome. It has been discovered that the biomarker gelatinase-associated lipocalin is considerably activated in cases of tubular damage and may allow definition of the level of renal damage [13].

On the basis of distinguishing various proteom patterns in urine, this method allows differentiation of various glomerulopathies, for example, IgA-nephropathy from focal-segmental glomerulosclerosis or minimal change disease, however proteomics have not replaced renal biopsy.

1.2 Microscopy of the urine.

If the urinary dipsticks are positive for erythrocytes and leukocytes, microscopic investigation of the freshly voided non-centrifugated urine is required. The Neubauer counting chamber containing one microliter (Fig. 4) is usually used. The upper normal limits are 10 erythrocytes/ μ l in girls

Table 7. Albumin — α 1-microglobulin algorithm (AAA) [12]

A/urine creatinine, mg/g	α -1-MG/urine creatinine, mg/g	Proteinuria
< 20	< 5	Normal
> 20	< 5	Glomerular
< 20	> 5	Tubular
> 20	> 5	Calculations according to the formula: $\frac{\alpha 1\text{-MG} \times 100}{(\alpha 1\text{-MG} + A)}$ > 15% — glomerular; < 15% — tubular

Note.

α 1-MG — α 1-microglobulin.

and boys, and 50 leukocytes/ μl in girls and neonates, and 10 leukocytes/ μl (in boys).

The prevalence of asymptomatic microscopic haematuria in school-aged children is 0.5–2.0% (more frequently in girls than in boys), macrohaematuria occurred in 0.13%. During the urinary microscopy the identified erythrocytes should be differentiated into renal or glomerular, (dysmorphic) and postrenal (unchanged), which is possible using the phase-contrast microscopy. An experienced nephrologist can detect dysmorphic erythrocytes even using a common light microscope with 400 times magnification. Further differentiation of dysmorphic erythrocytes into different subgroups is a relatively time consuming method and thus should not be used routinely. An example of the dysmorphic erythrocyte «Mickey Mouse erythrocyte» is given in Fig. 5. Glomerular haematuria is established if there is a sufficient number (> 5 –10 percent) of dysmorphic erythrocytes in a total of e.g. 200 erythrocytes/ μl . In our clinics the detection of the erythrocyte casts as a routine investigation is used only in unclear cases. Quantitative calculation of cells in the daily urine by Addis's method is not informative due to the errors in urine collection and spontaneous cell destruction. It is important to differentiate between the haematuria and hemo- and myoglobinuria, if, for example, the dipstick test is positive, however, there are no erythrocytes on microscopy.

The main index of the bacterial urinary tract infection is leukocyturia. However, not every leukocyturia is a sign of bacterial urinary tract infection, for example, sterile leukocyturia is found in tubulointerstitial nephritis, or nephrolithiasis, or urinary candidiasis. Leukocyturia may be absent in adenoviral urinary tract infection.

During the microscopic urine investigation there is no need to differentiate leukocytes by morphology. Detection of podocytes and parietal epithelial cells of the Bowman's capsule in urine is an expensive method to detect glomerular damage, and requires a specially equipped laboratory [15].

In case of nephrolithiasis, it is recommended to measure Ca, cystine and oxalate in urine; the microscopic differentiation of crystals is not very informative when looking for hypercalciuria.

In case of bacteriuria the quantitative evaluation of bacteria by microscopy is possible, however the microbiological investigation yields more accurate data on the amount and properties of microorganisms. Detection of fungi in urine indicates a candida urinary tract infection.

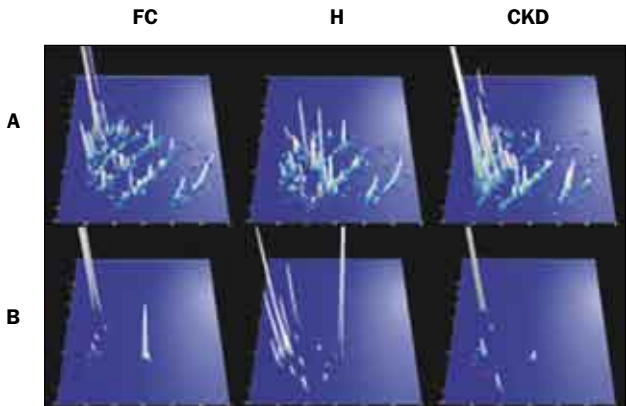
2. Blood tests

Na, K, Cl, Ca, Mg levels in serum do not depend on age, while the phosphate level is age-dependent: it is higher in infants in comparison with school-aged children (Fig. 6).

Urea levels (it is necessary to take into account the protein intake, catabolism, severe or chronic diseases) and C cystatin (after the first year of life) do not depend on age, while the serum creatinine changes with age (rises) due to increase of the muscle mass (Table 8).

This brings up the question: how to evaluate GFR? During the initial examination of a child with renal disease,

Fig. 3. The panel depicts 24 polypeptides, which define Fanconi Syndrome — a specific polypeptide pattern, distinguishing them from healthy children and patients with CKD [14]



Note.
FC — Proteomic urine profile in patients with Fanconi syndrome;
H — age-matching healthy controls;
CKD — patients with chronic kidney disease;
A — proteomic profile showing all peaks;
B — showing the disease-characteristic peaks only.

Fig. 4. Neubauer counting chamber for the quantitative evaluation of the urinary cells

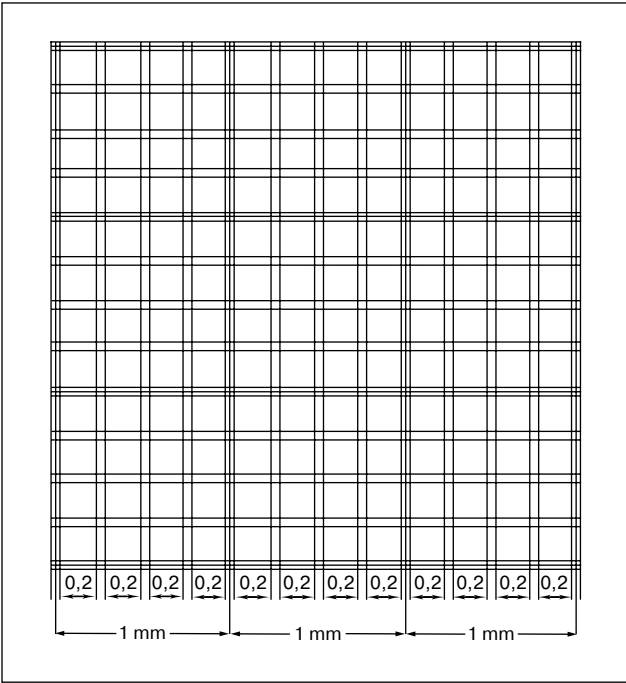
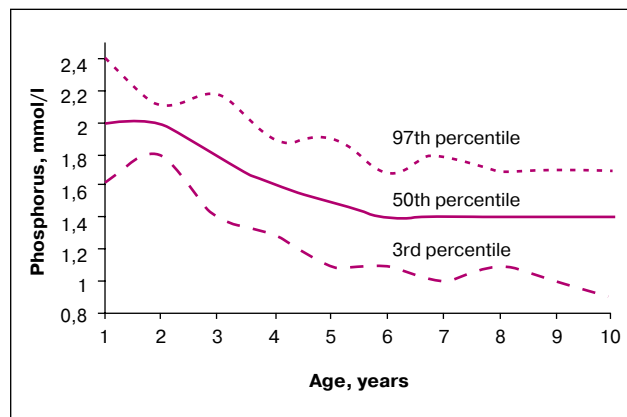


Fig. 5. Mickey Mouse dysmorphic erythrocyte in glomerular haematuria



Fig. 6. Normal levels of the serum phosphorus in dependence on age [16]



we assess all three above-mentioned parameters. In newborns, infants or extremely dystrophic children with chronic renal failure (CRF) (for example, in case of myelomeningocele or hepatic failure), the falsely low levels of creatinine could occur, related to small muscle mass, while the cystatin C is elevated [17]. For the purpose of evaluation of severe CRF progression, the creatinine level dynamics is more informative than that of cystatin C. Urea concentration depends not only on GFR, but also on diuresis and protein metabolism (increases in cases of catabolism or steroid therapy). It's level is important for determination of indications for dialysis (> 50 mmol/l), since the risk of the hyperosmolar state and cerebral complications is very high, whereas the creatinine and cystatin C in the concentrations, which is common for CRF, are not toxic.

It is essential to determine the creatinine levels regularly for evaluation of GFR in chronic kidney diseases (CKD).

Definition and criteria of CKD

A patient with CKD should comply with the following criteria:

- Structural or functional renal damage of more than 6 months duration with reduced GFR or without it; and, in addition, one of the following abnormal changes:

- 1) in blood or urine tests
 - 2) in renal imaging
 - 3) in renal biopsy
- or

- GFR less than $60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$

CKD stages are given in Table 9.

Homer H. Smith created the «Clearance» term, which is the plasma volume completely purified from a certain substance in unit of time (ml/min/1.73 m^2 of the body surface). Clearance or GFR, as well as the renal plasma flow (RPF) are the key parameters of the renal excretory function. Inulin and para-amino-hippuric acid (PAA) clearances are the gold standard for GFR evaluation. Inulin is freely filtered, not reabsorbed by the tubules and completely excreted by kidneys. PAA is also freely filtered, almost completely secreted in the proximal tubules and not reabsorbed, i.e. completely suitable for RPF estimation. Filtration fraction (FF) is defined by GFR/RPF ratio and in a normal state is 17–23%. FF declines in glomerulonephritis and increases in tubulointerstitial disorders. The Children's Hospital of Hannover Medical School carried out 999 inulin and PAA clearance assessments from 1972 to 1996. Due to significant cost and discomfort for patients (two vein punctures and 4 hours of waiting period), this laboratory and chemical method was stopped 10 years ago. Instead, a

Table 8. Age-dependent values of serum creatinine, cystatin C and glomerular filtration rate (GFR) (it is important to know the method of assessment used in your laboratory and thus create your own normal values)

Age	Creatinine		Cystatin C, mg/l	GFR, ml/min/1.73m^2
	$\mu\text{mol/l}$	mg/dl		
3 days	80–130	0,8–1,5	1,2–2,4	20–30
7 days	30–40	0,4–0,6	1,0–2,2	20–30
1 month – 1 year	25–40	0,4–0,6	0,8–1,6	70–100
2–8 years	40–60	0,5–0,7	0,6–1,4	90–130
9–18 years	50–80	0,6–0,9	0,6–1,4	90–130

Table 9. Stages of the chronic kidney disease in childhood [18]

CKD stages	GFR, ml/min/1.73m ²	Clinical implications
1	> 90	<i>Normal renal function</i> Irreversible glomerular-tubular dysfunction and/or congenital abnormalities
2	60–90	<i>Compensated renal insufficiency</i> There are often no symptoms or signs except for reduced GFR (even in normal serum creatinine), but extrarenal comorbidity has already commenced
3	30–60	<i>Renal failure</i> Distinct anemia, bone abnormalities, growth failure, acidosis etc.
4	15–30	<i>Renal failure</i> + hypertension, physical inability
5	< 15	<i>Renal replacement therapy</i> All mentioned above + hypervolemia, hyperkalemia, hyperazotemia, requiring dialysis or transplantation

new radionuclide GFR identification method was developed by means of Chrome-51-ethylenediaminetetraacetic acid and Iodine-123-hippuric acid. This method allows accurate data collection with minimal radionuclide load (40–80 kBq/kg of body weight), which amounts to less than 1/20 of the natural annual radiation exposure in the environment (approx. 2.4 mSv)! Thus this method can be used repeatedly without risk of irradiation in routine diagnostics. Oberhausen algorithm allows accurate assessment of GFR by two-sample or Russel methods (blood samplings 2 and 4 hours after injection). Some paediatric nephrologists refuse to use the radionuclide clearance methods and estimate GFR with creatinine clearance using, for example, Schwartz equation. All these equations have significant deviations in comparison with the standard clearance assessment method. For example, GFR assessed using the creatinine clearance is up to 10% different from inulin clearance due to tubular secretion of creatinine. During progressive renal failure there is an increased tubular secretion of creatinine, and falsely elevated values of GFR are found.

In order to detect the disturbances in aminoacid reabsorption assessment of plasma and urine levels is required. By means of a special mathematical programme (such as the Albers programme) it is possible to identify different aminoacidurias. Fig. 7 shows an example of a child with De Toni-Debre-Fanconi syndrome in cystinosis with generalised aminoaciduria, while in Fig. 8, there is an example of a child with cystinuria and renal stones and partial aminoaciduria, so-called COLA type — increased excretion of cystine, ornithine, lysine and arginine.

1.3 Formulas in paediatric nephrology

Glomerular filtration rate

GFR estimation measuring the serum creatinine level, height and coefficient C (Table 10) according to the Schwartz formula.

$$GFR, \text{ ml/min} = \frac{\text{Height (cm)} \times C}{\text{Serum creatinine } (\mu\text{mol/l})}$$

Where «C» is the coefficient related to age.

Fig. 7. The percentage of aminoacid reabsorption in a case of generalised hyperaminoaciduria in cystinosis

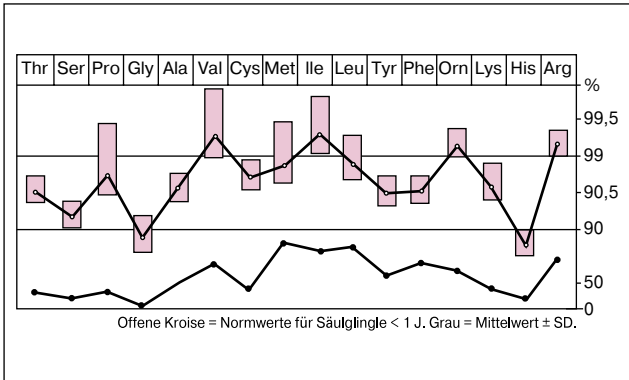


Fig. 8. The percentage of aminoacid reabsorption in a case of partial hyperaminoaciduria (COLA) in cystinuria

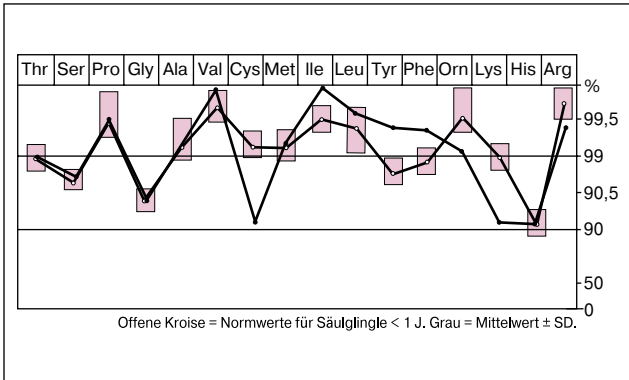


Table 10. Age-dependent values of the coefficient C

Age	Coefficient C in creatinine expressed in:	
	$\mu\text{mol/l}$	mg/dl
Newborns	33–40	0,45
Prepubertal period	38–48	0,55
Postpubertal period	48–62	0,7 (boys)

This formula fails in different stages of the renal failure. The formula is inapplicable in cases of malnutrition (significant loss of the muscle mass) and disproportionately short stature. Cockcroft-Gault formula, which is based on age and body weight, is inapplicable for children under 12 years of age [19].

$$\text{GFR, ml/min} = \frac{[140 - \text{age (years)} \times \text{Weight (kg)} \times C]}{\text{Serum creatinine } (\mu\text{mol/l})}$$

Where C is the coefficient of 1.23 for men and 1.05 for women.

However, it is more appropriate to apply such a blood serum parameter, which does not depend on body constitution and muscle mass. Filler's formula using the level of the serum cystatin C allows an increase in accuracy of GFR estimation.

$$\text{GFR, ml/min} = \text{antilog } 1.962 + [1.123 \times \log \{1 / \text{CysC}\}]$$

Intravascular volume in children with nephrotic syndrome is determined according to the Van de Walle formula:

$$\text{Urinary electrolytes ratio} = [K / \{K + Na\}] \times 100 (\%)$$

Where K is the level of potassium ions and Na is the level of sodium ions in urine.

The necessity for albumin infusions or diuretic therapy depends on the results of the following formula:

«underfill» — underfilled blood volume, «overfill» — overfilled blood volume (Table 11).

Fractionated sodium excretion (FE_{Na}) is calculated for the differential diagnosis of prerenal and postrenal failure. FE_{Na} is less than 0.5 in patients with acute prerenal failure.

$$FE_{Na} = U_{Na} \times S_{Creat} / S_{Na} \times U_{Creat}$$

Whereby U is the concentration of the indicated substance in urine and S — in serum.

Anionic gap is calculated in cases of metabolic acidosis of unknown origin for detection of pathological anions (lactate, ketoacids):

$$\text{Anionic gap} = S_{Na} + S_K - S_{Cl} - S_{HCO_3} \text{ (normal: 8–16 mmol/l)}$$

Whereby S is the concentration of indicated substance in serum

Tubular phosphate reabsorption is calculated according to the Brodehl formula in case of suspected renal losses (Fanconi syndrome, ifosfamide-tubulotoxicity).

$$\text{TPR/GFR} = \frac{\text{serum phosphate} - \text{urinary phosphate}}{\text{serum creatinine/urinary creatinine (mmol/l)}}$$

If serum phosphate is > 1 mmol/l and TPR/GFR is < 1.0 mmol/l — renal phosphate loss can be diagnosed.

Table 11. Treatment of oedema in nephrotic syndrome: when is albumin infusion required? (according to the Van de Walle formula and fractionated sodium excretion (FE_{Na}))

Blood volume	Underfill	Normal	Overfill
Urine electrolytes ratio $[K / \{K + Na\}] \times 100 (\%)$	$> 60\%$	30–60%	$< 30\%$
Fractionated sodium excretion (FE_{Na})	Very low $< 0,5$	Low 0,5–2,0	Low 0,5–2,0
Treatment	Albumin IV + Diuretic	Diuretic	Diuretic

Example 1. $50 / [50 + 100] \times 100 = 33\%$ (normal)

→ Treatment: Furosemide

Example 2. $80 / [80 + 20] \times 100 = 80\%$ (underfill)

→ Treatment: Albumine + Furosemide

3. Instrumental investigations in nephrology

In Table 12, the major visualising methods applicable in paediatric nephrology are presented.

An ultrasound of kidneys and urinary tract should be performed in all patients with renal diseases. If ultrasound reveals hydronephrosis or voiding cystography it is essential to exclude vesicoureteral reflux. Intravenous pyelography is rarely performed today due to its harmful effects and the advantages of uro-MRT. Renal Duplex-sonography is indicated in patients with arterial hypertension and to detect the reasons for kidney transplant dysfunction. Radionuclide methods are applied to identify the scars in renal parenchyma, urodynamically active stenosis and to compare the functions of the left and right kidneys. In postvesical stenosis these diagnostic methods are supplemented by bladder catheterisation. It is necessary to take into account the cost when visualising investigations are performed.

4. Kidney biopsy

The diagnosis of many glomerular and tubulointerstitial diseases is impossible without transcutaneous renal biopsy (Bx). Indications for Bx are: steroid-resistant nephrotic syndrome (NS), acute nephritic syndrome with renal failure, if rapidly progressive glomerulonephritis is suspected (GN) (with the exception of post-streptococcal glomerulonephritis), or tubulointerstitial nephritis and systemic diseases with renal involvement (SLE, Henoch-Schoenlein purpura). Bx is the gold standard for diagnosis of the causes of renal transplant dysfunction. Open Bx is carried out in exceptional cases, for example, if a malignancy is suspected. Bx is not indicated in patients with frequently relapsing NS, only in cases suspected of cyclosporine A nephrotoxicity. Bx is often indicated in patients with long-lasting isolated proteinuria or haematuria. Presently indications for Bx have been narrowed because of progress in non-invasive diagnostic

methods. Contraindications to Bx are: single kidney (facultative), renal ectopia, incurable coagulation disorder or uncontrollable arterial hypertension.

Bx in children should be carried out by an experienced paediatric nephrologist or surgeon in in-patient clinics. The procedure is simple and takes about 15–20 minutes. Complications are rare and the risk of minor bleeding is 5–10%. The Bx protocol is given in Table 13.

Morphological investigations

The biopsy cylinder should contain at least 10 glomeruli and an artery. Morphological investigation of the renal biopsy includes three studies: light (LM), immunohistochemical (IHC) or immunofluorescent and electron (EM) microscopical investigations. For LM and IHC investigations, the renal tissue fixed in the 4% buffered formalin (for at least 2 hours) is put into the homogenised wax with further serial sections of no more than 2–3 µm thick in the rotation microtome. For EM investigation, a section of the biopsy about 1 mm in length containing glomerulus and fixed in 2.5% glutaraldehyde should be used.

Light microscopy

The serial sections are placed onto 16 slides, 3 per each, for further staining using the following methods: Hematoxylin-eosin, Periodic acid-Schiff (PAS), Jones' silver staining. Other uncolored slides will be used for additional histo-investigations (Congo red on amyloid) and immunohistochemical, if necessary.

Immunohistochemistry

The following antibodies should be used: IgG, IgM, IgA, C3, C1 q, C4d (kidney transplant). Additional antibodies: kappa and lambda light chains (to detect the renal involvement in myeloma etc.), SV40 (polyoma-virus in kidney transplant) etc.

Table 12. Old and new visualising techniques in nephrology

Technic	Cost (equipment, materials, human resources)
Ultrasound	Low
Duplex-sonography	Moderate
Ultrasound + levovist	High
X-ray: voiding cystography, IV pyelography	Moderate
Radionuclide: iodine hippuric clearance, MAG3	High
DMSA scanning	High
Scintigraphy with captopril	High
Uro-MRT	High
Uroflowmetry	Low
Urodynamics	High

Table 13. Kidney biopsy protocol. (Children's Hospital, Hannover Medical School)**Arrival day:**

- Positioning of the peripheral catheter and blood sampling: Thromboplastin time, PTT, complete blood count, acid-base balance, creatinine, urea, Ca, P, total protein, C-reactive protein, blood group (in case of Bx of native kidney).
- Signed parental consent form for Bx.

Kidney biopsy day:

- Patient should not be fed for 6 hours prior to Bx (since 2:00 a.m.).
- Premedication: Midazolam 0.1 mg/kg orally.
- For Bx: Ketamine and Midazolam IV, checklist of emergency medication, breathing sack and oxygenator, sandsack (about 0.5–1.0 kg).

Kidney biopsy:

- To be carried out on the ward or ICU.
- The child in prone position with a pillow under the epigastrium (in case of Bx of the renal transplant — in supine position).
- Sedation: Ketamine 0.5–1.0 mg/kg IV, Midazolam 0.05 mg/kg IV.
- Localization: lower pole of the left native kidney or any pole of the transplanted kidney using US, puncture place marking.
- Local anesthesia (on the marked place) with lidocaine and formation of the tunnel for the biopsy needle (in an acute angle to the renal capsule) using a syringe.
- Insertion of the biopsy needle into the formed tunnel (Magnum, Gallini biopsy guns etc., 16–18 gauge diameter needle and 20 cm long) in the same acute angle to provide the maximum volume of the renal cortex, containing glomeruli, and to prevent needle-inflicted damage of medulla and pelvis (large vessels and risk of bleeding) (Fig. 9).
- Checking of the renal tissue (automatically, after a minor puncture of the renal capsule) with an immediate evaluation of the adequacy of the biopsy material using a common light microscope. The cylinder length should be more than 1 cm; glomeruli should be red round formations; renal medulla should be parallel red stripes). As a rule, 1–2 cylinders are enough (Fig. 10).
- Placement of the biopsy material into 1 tube, containing 4% buffered formalin (from the pathology laboratory performing morphological investigations).
- Sterile aseptic dressing, sandbag onto the puncture, transfer of the patient to the ward.

After kidney biopsy:

- 6 hours bedrest with a sandbag placed onto the puncture.
- Next 18 hours – bed rest; compression band should be removed after 24 hours.
- Investigation of every urine sample for gross and microscopic haematuria (urinary dipstick); in case of bleeding: US should be performed.
- *Native kidney:* Blood Pressure and heartrate control: every 15 minutes for the first 2 hours, every 30 minutes for the next 4 hours, and then every 1–2 hours and every 2–3 hours at night. Breathing rate control until the patient wakes completely. 6 hours after Bx, CBC; if it drops by more than 2 points, the doctor on duty should be informed.
- *Renal transplant:* ABP and heartrate control: every 15 minutes for the first 2 hours, every 30 minutes for the next 4 hours, and then every 1–2 hours and every 2–3 hours at night.
- Breathing rate control and oxygen supplementation until the patient wakes completely.

Discharge day: US of the kidney.

Fig. 9. Magnum biopsy gun (USA)**Fig. 10.** Renal biopsy material with a length of about 2 cm**Electron microscopy**

In order to prepare the biopsy for electron microscopy the following steps should be taken: placement into the epoxyde resins, performance of the semithin and ultrathin sections, their placement onto the copper grids with contrasting.

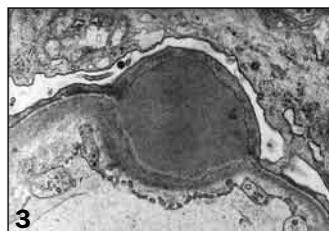
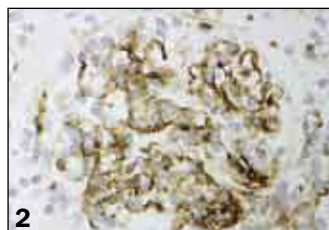
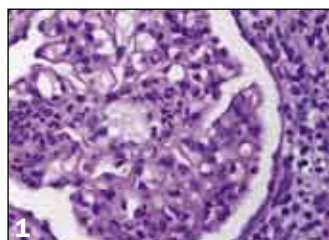
The main morphological changes, which should be taken into account in nephropathologist diagnosis are listed in Tables 14, 15.

Examples of selected glomerular diseases are given in Fig. 11–13.

Table 14. The key morphological changes in renal diseases

1. Light microscopy
 - Glomeruli:
 - Structures (endothelium, mesangium, epithelium, glomerular basement membrane)
 - Distribution: diffuse/focal, total/segmental)
 - Active lesions (necrosis, apoptosis, hypercellularity, proliferation)
 - Chronic lesions (sclerosis, glassy degeneration)
 - Tubules and interstitium
 - Vessels
2. Immunohistochemistry
 - Staining (granular, linear) for IgA, IgM, IgG, C3, C1q
3. Electron microscopy
 - Basement membrane: thickening, lamellation
 - Mesangial matrix: expansion
 - Electron-dense deposits: subendothelial, intramembranous, subepithelial, mesangial
 - Podocytes: foot process effacement
 - Other: tubuloreticular structures, fibrills etc.

Fig. 11. Diffuse proliferative GN (post-infectious GN)



Note.

- 1) LM — enlarged glomerulus with occlusion of the lumens in some capillaries due to significant endocapillary proliferation, mostly neutrophils (PAS).
- 2) IHC — diffuse global granular C3c deposition in the glomerular basement membrane and mesangium.
- 3) EM — a large subepithelial electron-dense deposit («hump»).

The main reasons for renal transplant dysfunction are: acute rejection, calcineurin inhibitor nephrotoxicity and polyomavirus induced tubulointerstitial nephritis (Fig. 14–16).

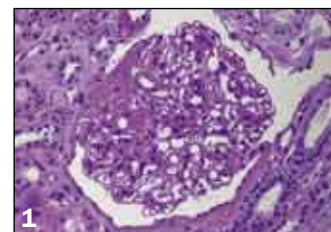
5. Therapeutic drug monitoring

Immunosuppressive therapy is used in the treatment of relapsing steroid-resistant NS, proliferative forms of GN, GN secondary to vasculitides, autoimmune diseases and after kidney transplantation (Tx). Immunosuppressive drugs (cyclosporine A (CsA), mycophenolate mofetil (MMF), Tacrolimus, Rapamycin, Everolimus), as well as some antimicrobial drugs (Tobramycin, Vancomycin) have very narrow therapeutic windows. Furthermore, the significant individual variability in pharmacokinetics, pharmacodynamics and interaction between the drugs have to be taken into account. The congenital

differences in response to drugs is studied by pharmacogenetics. The genetic polymorphism of enzymes and metabolising drugs occurs in 30% of all drugs. For instance, even with a standard dose of azathioprine, an absence or reduction in function of the thiopurine-S-methyltransferase in patients leads to life-threatening hematopoietic toxicity [20]. In Fig. 17, the differences in CsA blood levels in patients receiving the same dose of the oral CsA/kg are demonstrated.

Thus, in order to achieve the optimal individual dose in the form of a sufficient immunosuppressive response and absence of toxicity, it is essential to monitor the levels of medication in the blood on a regular basis. The gold standard for therapeutic drug monitoring is AUC (area under the curve concentration), which is rarely applied in clinical practice because multiple blood samplings are required. The drug level in the blood is more often defined only once — prior to drug intake (C0) or at the peak of concentration in blood (C2, i.e. 2 hours after intake of CsA). In the calculation of the drug dosage, it is important to take into account the renal function, since some medication is eliminated by the kidney. Therapeutic drug monitoring is a very expensive procedure. The monitoring of antibiotics (Tobramycin, Vancomycin) and anticonvulsants (Oxcarbazepine, Valproate, Phenobarbital, Phenytoin) in pa-

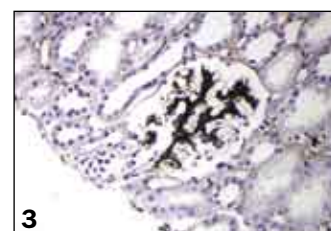
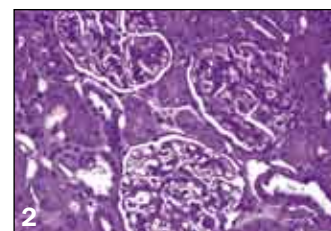
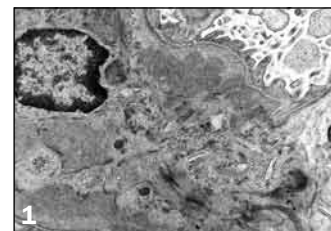
Fig. 12. Focal segmental glomerulosclerosis



Note.

- 1) LT — enlarged glomerulus with segmental sclerosis and hyalinosis, mild mesangial proliferation and widening of the mesangial matrix (PAS).
- 2) ET — podocyte foot process effacement.

Fig. 13. IgA-nephropathy



Note.

- 1) LT — diffuse moderate expansion of the mesangial matrix and mesangial proliferation (PAS).
- 2) IHC — strong positivity for IgA in mesangium.
- 3) ET — electron-dense deposits within the mesangium.

Fig. 14. Severe acute vascular rejection Banff III. Prominent intimal and transmural arteritis (PAS)

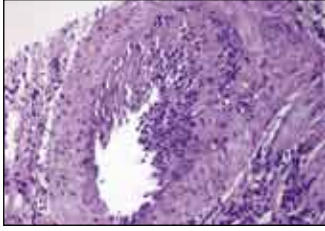
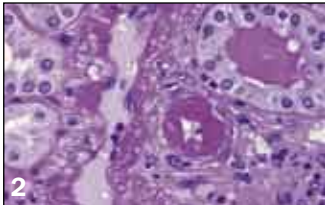
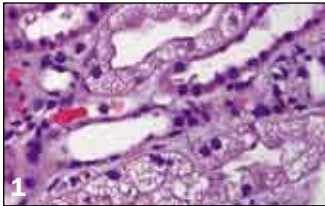


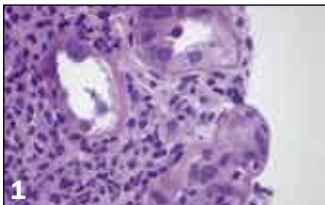
Fig. 15. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity



Note.

- 1) Acute: isometric vacuolation of the tubular epithelium (G-E).
- 2) Chronic: nodular hyalinosis of a small artery (PAS).

Fig. 16. Polyomavirus induced tubulointerstitial nephritis



Note.

- 1) LM — enlarged nuclei of tubular epithelial cells with typical inclusion bodies, significant interstitial infiltration with mononuclear cells (PAS).
- 2) IHC — significant positivity for polyomavirus antigen (SV40).

tients with renal failure costs about €1,000 per year.

6. Molecular biology

In recent years, molecular methods, which allow the diagnosis of genetic renal diseases prior to their clinical manifestation, to identify pathophysiological mechanisms of their development (genomics), to differentiate between etiologically similar clinical and histopathological phenotypes (transcriptomics) and to evaluate individual sensitivity to drugs (insufficient effect or toxicity / pharmacogenetics) are more frequently used in nephrology. There are many traps in molecular biological diagnostics, which are partially related to the significant differences in the clinical symptoms of the disease within one family (no correlation genotype-phenotype). It is important to take the possibility of two co-existing independent renal diseases in one patient into account, for example, the nephrotoxicity of cytostatic agents after Wilms tumor treatment; interstitial nephritis caused by treatment with herbs in patient with nephrotic syndrome, or postinfectious GN in an Alport gene carrier etc. In many inherited diseases the typical mutations have not been identified yet.

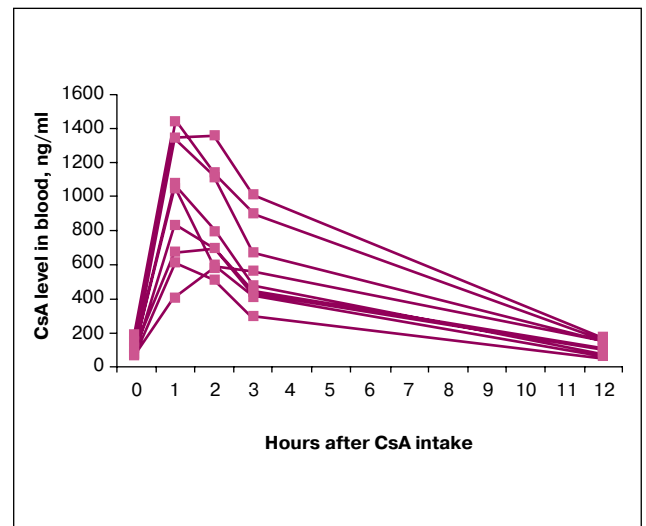
7. Molecular genetics

The sensitive method of molecular quantitative analysis of the viral DNA and RNA is more widely used, as it allows the detection of new or reactivated

Table 15. Morphological types of glomerulonephritides (GN)

- Minimal change disease (minimal change nephrotic syndrome)
- Focal segmental glomerulosclerosis
- Mesangioproliferative GN: with or without IgA deposits
- Membranoproliferative GN: 3 types
- Diffuse endocapillary proliferative GN
- Extracapillary proliferative (crescentic) GN
- Membranous GN
- Thrombotic microangiopathy

Fig. 17. Individual differences in CsA pharmacokinetics (the levels in whole blood) between 8 children receiving the same dose of oral CsA 200 mg/m²/day [20, 21]



chronic infection (cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, herpes simplex virus, polyoma virus (BK) etc.) weeks before the immunological response has developed. In addition, the reproducibility, sensitivity and comparability of methods, mutation-related changes and interpretation of titer dynamics during treatment are topics of constant debate. Analyses of gene expression show the differences in dependence on the material investigated (blood, biopsy), time and influence of the external factors. (The Michigan University, USA (www.renalgenes.org) offers testing for mutation analysis of genes in certain renal diseases free of charge. An isolated DNA sample is preferable to whole blood.) The methods of gene activation with quantitative RNA identification give data on immune-inflammatory processes in kidneys (urine, biopsy) and in organisms in general (blood), allow one to detect the exacerbators of the disease (graft rejection, SLE, focal segmental glomerulosclerosis etc.). It is possible to obtain information on the existence of the so-called surrogate markers even prior to the onset of the morphological changes, in the case of inefficient therapy. The study of the individual gene activation, which is currently in the research stage, should be discussed. Table 16, shows the capabilities of molecular genetics in the diagnosis of different hereditary renal diseases.

Table 16. The capabilities of the molecular genetics in diagnostics of the different hereditary renal diseases

Hereditary renal disease	Gene (Omim#) / Localization	Coded protein Function
Glomerular diseases		
Alport syndrome	Col4A5 (301050) / Xq22.3	α 5 collagen chain, type 4
	Col4A4 (203780) / 2q36–q37	α 4 collagen chain, type 4
Nephroses	NPHS1 (602716) / 19q13.1	Nephrine
	NPHS2 (604766) / 1q25–q31	Podocin
Tubular diseases		
Bartter's syndrome	Bartter1 — SLC12A1 (601678) / 15q15–q21	Barttin
	Bartter2 — KCNJ1 (241200) / 11q24	
Cystinosis	CTNS (219800) / 17p13	Cystinosin
Cystinuria	SLC3A1 (220100) / 2p16.3	Protein-amino acid transporter
Dent's disease	CLCN5 (300008) / Xp11.22	CLCK2-chloride channel
Oxalosis	AGXT (259900) / 2q36–37	Alanine-glyoxylate aminotransferase
Nephrogenic diabetes insipidus	NDI1 (304800) Xq28 / NDI2 (125800) 12q13	V2-receptor, aquaporin-2
Renal tubular acidosis a) proximal, autosomal-dominant b) distal, autosomal-recessive	SLC9A1 (182307) / 5p15.3 SLC4A4 (604278) / 4q21	
Cystic diseases		
Nephrophthisis	NPHP1 (256100) / 2q13	Nephrocystin
	NPHP2 (602088) / 9q31	Inversine
Polycystic kidney disease	PKD1 (601313) / 16p13.3–p13.12	Polycystin
	PKD2 (173910) / 4q21–q23	Polycystin 2
Medullary cystic kidney disease	MCKD 1(174000) 1q21	
	MCKD 2 (603860) 16p12	
Syndromes		
Wilms tumors and Denys-Drash syndrome	WT1 (607102) / 11p13	Zinc-Finger Transcription gene
Branchia-oto-renal	EYA1 (113650) / 8q13.3	?
Laurence–Moon–Bardet–Biedl	BBS1–BBS8 (209900) / 20p12, 16q21, 11q13 u.a.	BBS, function ?
Lowe (oculo-cerebro-renal)	OCRL1 (309000) / Xq26.1	?
Nail-Patella	LMX1B (161200) / 9q34.1	Transcription factor LIM
Schimke's disease	SMARCA1 (242900) / 2q34–q36	Chromatin regulator, DNA recovery

Nevertheless, molecular diagnostics does not relieve us from the need to identify a clear clinical and histopathological picture. The prognosis of the disease, based on genetic investigations during pregnancy requires the critical approach based on human genetics laws. As soon as this method is expensive, the coordination of pediatricians with pediatric nephrologists and geneticists in order to

maximum targeted usage of the molecular diagnostics is required.

Practical recommendations

Example:

In a child with acute renal failure (ARF), hospital admission during the first 12 hours is essential to establish the level

of renal damage: prerenal, renal or postrenal. This requires an evaluation of the fractionated sodium excretion, type of haematuria, proteinuria and US of kidneys and urinary tract. If it proves difficult to diagnose the renal disease, it is vital to sample and freeze blood and urine samples

for later investigation by further methods. In case of first referral, it could be difficult to differentiate between ARF and CRF. CRF may be suspected in cases of short stature, hypertonic changes in fundus, osteopathy, decreased physical activity (tiredness) over a long period, anemia,

Table 17. Diagnostic algorithm in acute renal failure

Blood tests:
Basic tests:

- K, Na, Ca, Cl, P, urea, creatinine
- C-reactive protein, Alanine-amino-transferase, creatine kinase, protein
- CBC

In addition, if haemolytic-uremic syndrome is suspected:

- LDH and free haemoglobin
- Blood smear (fragmentocytes)

In addition, if acute GN is suspected:

- C3, C4, CH50 complement
- ANA, ANCA, anti-streptolysine, double-stranded DNA

Urine investigation: Osmolarity, creatinine, Na, K, albumin, α1-microglobulin, oxalate, hemoglobine, myoglobine, erythrocytes, leucocytes.

Differential diagnosis of ARF based on urine analyses

Prerenal	Renal
Osmolarity > 500 mmol/l	Osmolarity > 300 mmol/l
FE _{Na} < 1 *	FE _{Na} > 2*
α1-microglobulin refl	α1-microglobulin ↑

* $FE_{Na} = (U_{Na} \times P_{crea} / U_{crea} \times P_{Na}) \times 100$

Table 18. Diagnostic algorithm in proteinuria

Basic tests:

- Family history, drug therapy, preceeding diseases and co-morbidity
- Physical examination: oedema, ascites, exudate in pleural space, blood pressure
- Urinalyses: Dipsticks, quantitative determination of albumin, α1-microglobulin, potassium, sodium, amount of cells in µl of urine.
- Blood tests: Erythrocyte sedimentation rate, blood count, electrolytes, urea, creatinine, albumine, cholesterol, glucose, complement, anti-streptolysin O titer, cholinesterase
- Orthostatic test
- US of kidneys and urinary tract

Additional tests:

- Infections: Serologies for hepatitis
- Immunology: Ig, antibodies to double-stranded DNA, C3 nephritic factor etc.
- Coagulogramm

Special tests:

- Bx with light, immunohistochemical and electron microscopy of biopsy;
- Clearance for GFR, RPF and FF estimation
- Molecular genetics, for example, mutations of podocyte genes

Fig. 18. Diagnostic algorithm in acute renal failure

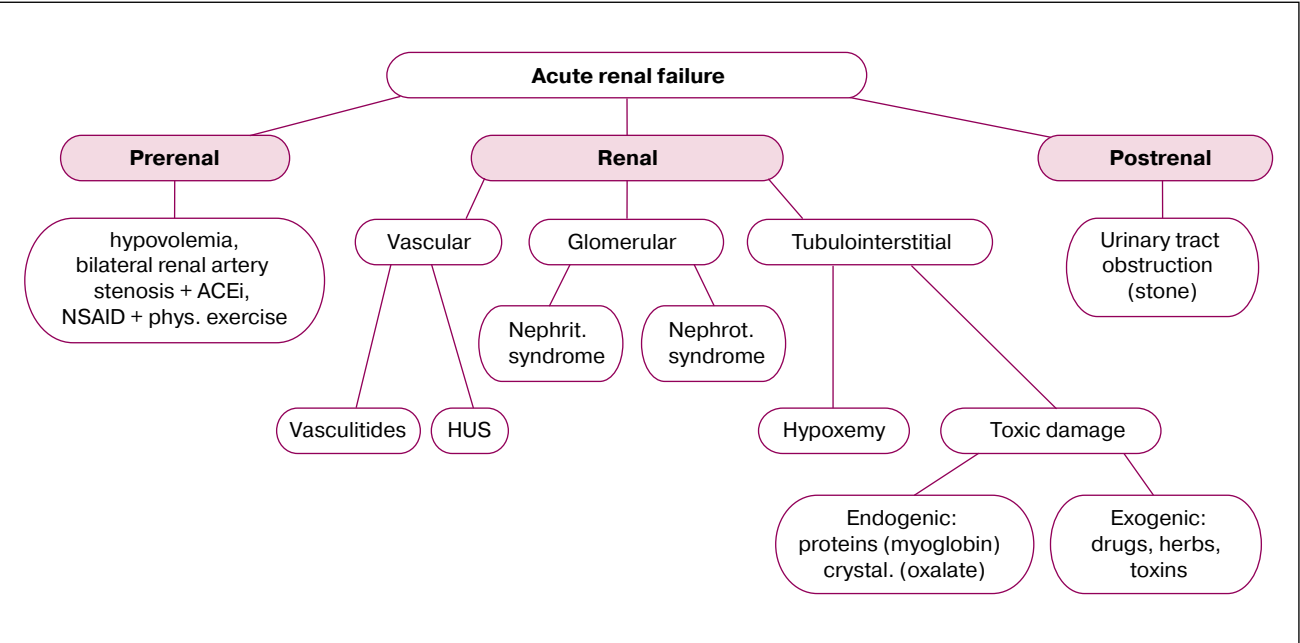


Fig. 19. Diagnostic algorithm in proteinuria

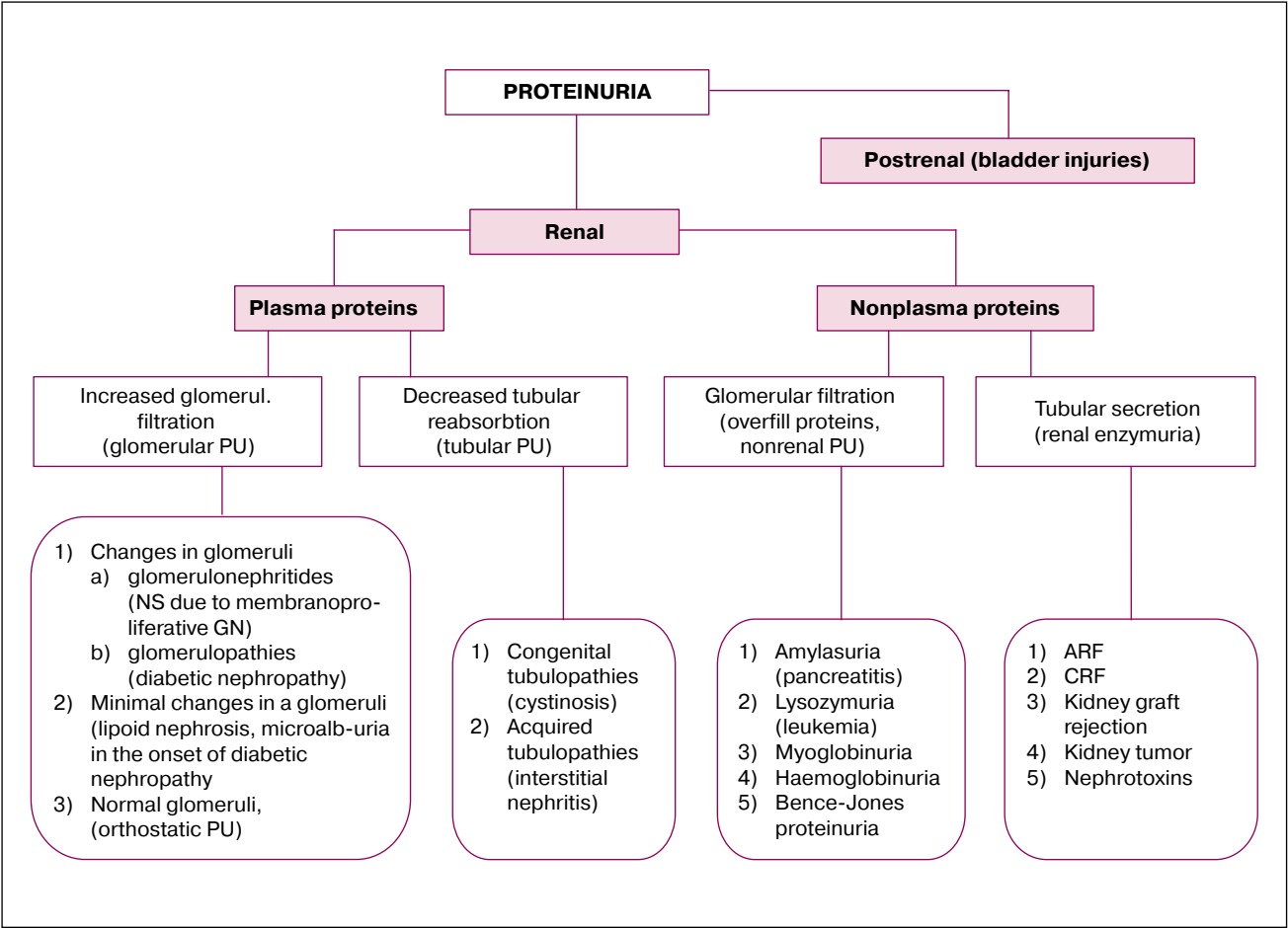


Table 19. Diagnostic algorithm in haematuria

Basic tests:
• Family history, drug therapy, preceeding diseases and co-morbidity
• Physical examination: Abdominal palpation, respiratory and genital tracts, ABP measurement
• Urinalysis: Quantitative and qualitative evaluation of the urine (casts, rarely three-glass test), calcium
• Blood tests: Erythrocyte sedimentation rate, Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻ , Ca ²⁺ , PO ³⁻ , blood count + platelets, urea, creatinine, protein, aspartate aminotransferase, C3 complement, perhaps serum freezing for further investigations
• US of kidneys and urinary tract
Additional tests:
• Blood tests: Uric acid, immunoglobulins, antinuclear factor etc.
• Immunology: Ig, antibodies to double-stranded DNA, C3 nephritic factor etc.
• Urine test for uric and oxalic acids, cystine
• Consultations of otolaryngologist and ophtalmologist to exclude deafness and other disorders
Special tests:
• Cystoscopy in case of gross haematuria and suspected unilateral process, tumor, foreign body
• Clearance for GFR, RPF and FF assessment
• Bx in case suspected as glomerular disease

polyuria and weight loss. The diagnostic algorithms were developed for fast, targeted, rational and low-cost diagnostics of renal diseases. Diagnostic algorithms in cases of ARF are given in Table 17 and in Fig. 18, for proteinuria — in Table 18 and in Fig. 19, for haematuria — in Table 19 and in Fig. 20 and for leukocyturia — in Fig. 21. There has been steady progress in diagnostic approaches in pediatric nephrology for the last 20 years. Urinary dipsticks have proven to be informative in urinary screening. The methods of diagnostics of haematuria and proteinuria, identification of electrolytes in the blood serum and urine were simplified and standardised. Methods for the detection of serum creatinine and urea have been supplemented with detection of Cystatin C. Developed formulas and diagrams of blood serum and urine parameters allow us to understand the pathophysiological processes, underlying the renal disease. However, the formula-based estimation of the glomerular filtration rate is still a weak link in the diagnostics chain, while more accurate clearance evaluation methods are invasive, time-consuming and expensive, or related to radiation exposure. In recent years, indications for kidney biopsy have been narrowed, due to a wider use of the informative non-invasive diagnostical methods. Therapeutic drug

Fig. 20. Diagnostic algorithm in haematuria

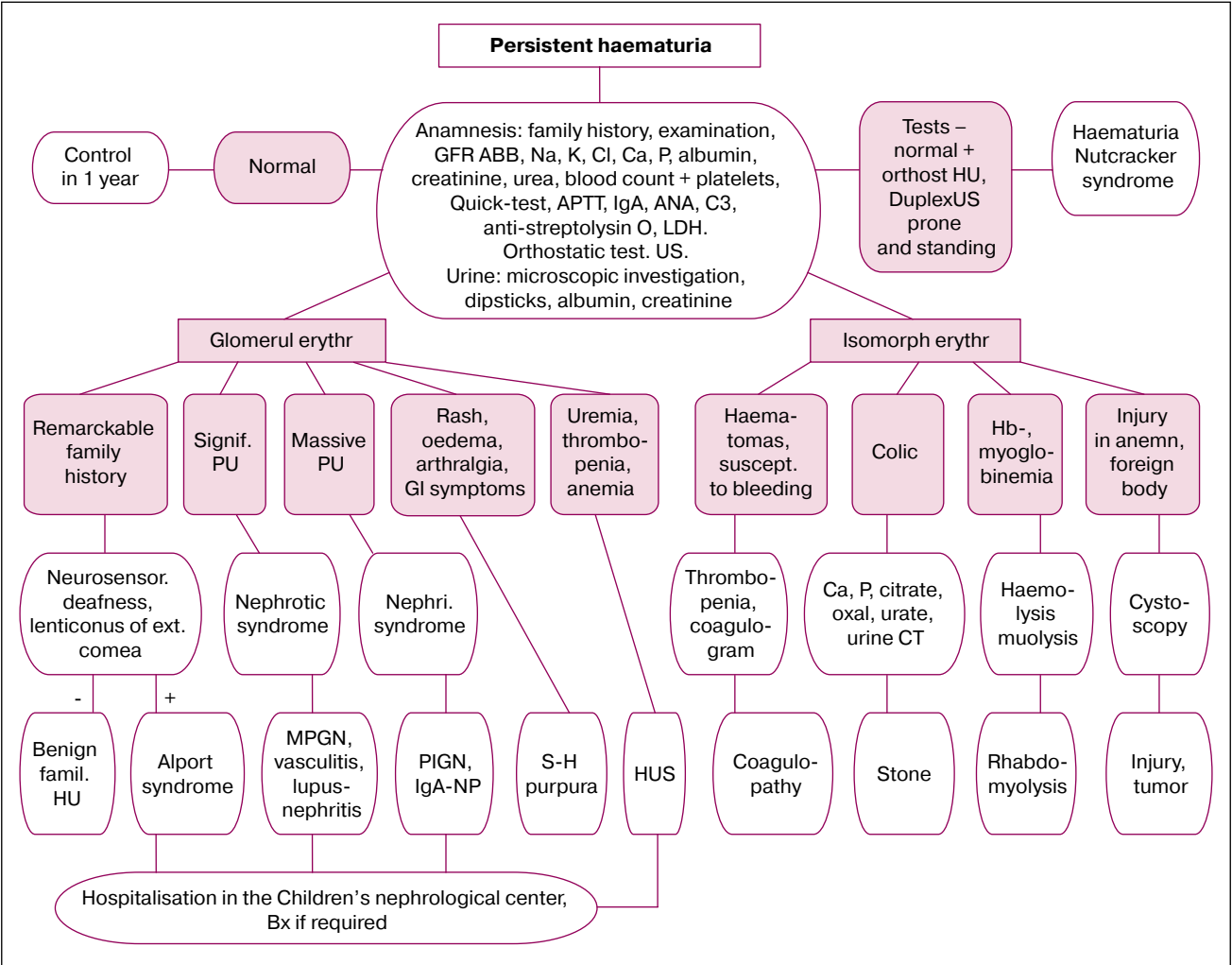
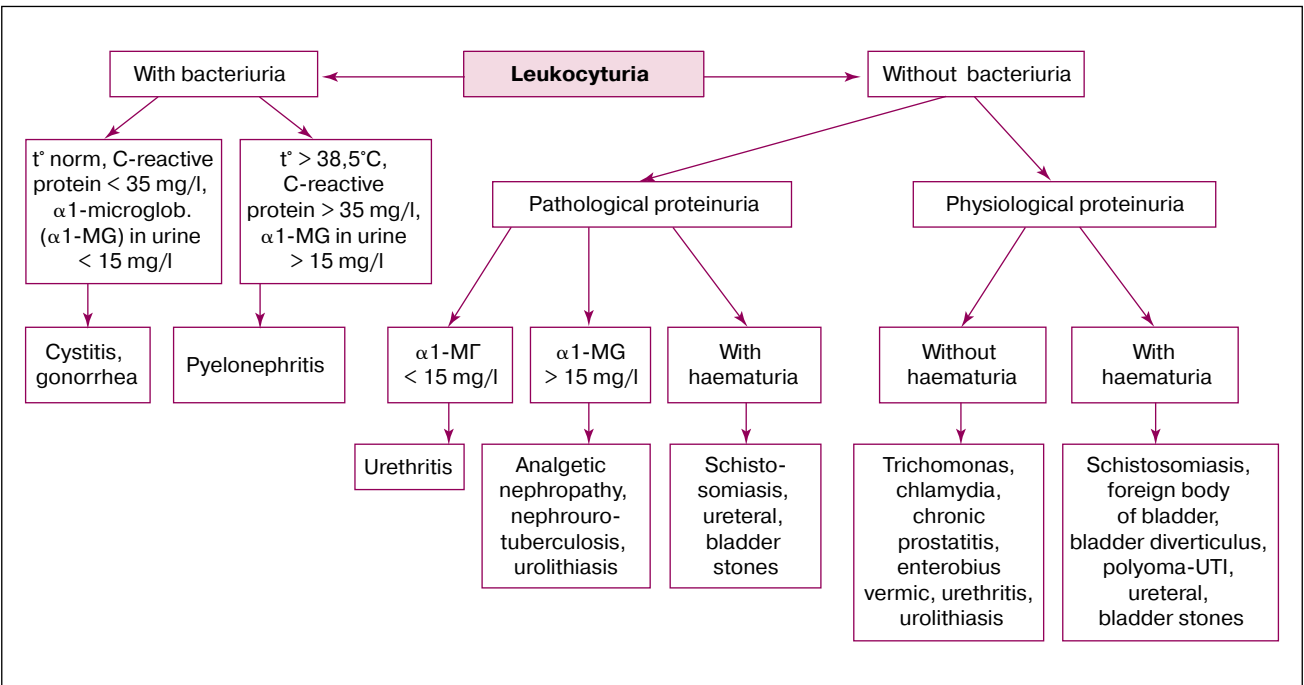


Fig. 21. Diagnostic algorithm in leukocyturia



monitoring protects patients from insufficient or excessive dosage of medication during immunosuppressive therapy or renal failure. Molecular and biological investigations, particularly, cytokine identification, are still in reasearch and thus are unavailable for wider introduction. Molecular

genetic investigations allow for the detection of rare hereditary diseases but cannot replace a thorough clinical and pathophysiological examination. In the event of severe cases in nephrology, step-by-step diagnostics and algorithms simplify diagnostics.

REFERENCES

1. Sarnak M.J. Cardiovascular disease and chronic renal disease: a new paradigm. Am. J. Kidney Dis. (2000) 35 (Suppl. 1): S117–131.
2. Perico N., Codreanu I., Schieppatti A. and Remuzzi G. The future of renoprotection. Kidney International (2005) 68: S95–S101.
3. Campbell H., Duke T., Weber M. et al. Global initiatives for improving hospital care for children: State of art and future prospects. Pediatrics (2008) 121: 984–992.
4. Ehrich J.H.H., El Gendi A.A., Drukker A. et al. Demography of paediatric renal care in Europe: organisation and delivery. Nephrol Dial Transplant (2005) 20: 297–305.
5. Soergel M., Kirschstein M., Busch C. et al. Oscillometric twenty-four-hour ambulatory blood pressure values in healthy children and adolescents: a multicenter trial including 1141 subjects. J. Pediatr. (1997) 130: 178–184.
6. Kaiser C., Bergel F., Doebling-Schwerdtfeger E. et al. Urine test strips: reliability of semi-quantitative findings under tropical conditions. Pediatr Nephrol (1992) 6: 145–148.
7. Matos V., van Melle G., Boulat O. et al. Urinary phosphate / creatinine, calcium / creatinine, and magnesium / creatinine ratios in a healthy pediatric population. J. Pediatr. (1997) 131: 252–257.
8. Matos V., Werner D., Bardy D., Guignard J.P. Urinary oxalate and urate to creatinine ratios in a healthy pediatric population. Am. J. Kidney Dis. (1999) 34: 1–6.
9. Ehrich J.H., Kirschstein M., Kehring N. et al. Proteinuria and enzymuria as leading symptoms of renal and extrarenal diseases in childhood. Monatsschr Kinderheilkd (1993) 141: 59–69.
10. Ehrich J.H., Wurster U. Differentiation of proteinurias with electrophoresis. Pediatr Nephrol (1991) 5: 376–8.
11. Lun A., M. Suslovych, J. Drube, R. Ziebig, L. Pavicic, and J.H. Ehrich. Reliability of different expert systems for profiling

- proteinuria in children with kidney diseases. Pediatr Nephrol (2008) 23: 285–90.
12. Lun A., Ivandic M., Priem F. et al. Evaluation of pediatric nephropathies by a computerized urine protein expert system. Pediatr Nephrol (1999) 13: 900–906.
13. Schmidt-Ott K.M., Mori K., Li J.Y. et al. Dual action of eutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin. J Am Soc Nephrol (2007) 18: 407–413.
14. Drube J., Schiffer E., Mischak H. et al. Urinary proteome in children with renal Fanconi syndrome. Nephrol Dial Transplant (2009) Epub ahead of print.
15. Achenbach J., Mengel M., Tossidou I. et al. Parietal epithelial cells in the urine as a marker of disease activity in glomerular diseases Nephrol Dial Transplant. (2008) 23: 3138–3145.
16. Brodehl J., Gellissen K., Weber H.P. Postnatal developmenbt of tubular phosphate reabsorption. Clin Nephrol (1982) 17: 163–171.
17. Filler G., Witt I., Priem F. et al. Are cystatin C and beta 2-microglobulin better markers than serum creatinine for prediction of a normal glomerular filtration rate in pediatric subjects? Clin. Chem. (1997) 43: 1077–1078.
18. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Am. J. Kidney Dis. (2002); 39: S1–S266.
19. Filler G., Foster J., Acker A., Lepage N., Akbari A., Ehrich J.H.H. The Cockcroft-Gault formula should not be used in children. Kidney International (2005) 67: 2321–2324.
20. Eichelbaum M., Ingelman-Sundberg M., Evans W.E. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. Annu Rev. Med. (2006) 57: 119–137.
21. Pape L., Ehrich J.H., Offner G. Cyclosporine in pediatric kidney transplantation. Transplant Proc (2004) 36 (Suppl. 2): 203–207.

Письмо в редакцию

Уважаемый профессор Баранов!

Пишу Вам, чтобы поблагодарить за приглашение быть членом Научного Комитета, а также и за возможность внести свой вклад в IV Европейский конгресс педиатров EUROPAEDIATRICS-2009 в качестве докладчика.

У меня нет никаких сомнений, что Конгресс прошел с большим успехом. Он останется для многих из нас незабываемым событием, и определенно большим

шагом для укрепления здоровья детей в разных странах.

Спасибо за Вашу превосходную инициативу и большую работу.

Надеюсь на продолжение контактов в будущем.

С наилучшими пожеланиями
профессор V. Usonis,
руководитель Университетского
центра педиатрии
(Вильнюс, Литва)

Уважаемый профессор Баранов!

Большое спасибо.

Это была честь для меня принять участие в IV Европейском конгрессе педиатров, который был отлично организован.

Я с нетерпением жду будущего сотрудничества.

С наилучшими пожеланиями,
Franco Chiarelli,
Президент Европейского общества
эндокринологов, Италия