

## ЦИСТАТИН С КАО МЕРА ЈАЧИНЕ ГЛОМЕРУЛСКЕ ФИЛТРАЦИЈЕ КОД БОЛЕСНИКА СА ТРАНСПЛАНТИРАНИМ БУБРЕГОМ

Дијана ЈОВАНОВИЋ<sup>1</sup>, Павле КРСТИВОЈЕВИЋ<sup>3</sup>, Ивана ОБРАДОВИЋ<sup>2</sup>,  
Весна ЂУРЂЕВИЋ<sup>2</sup>, Радмила БЛАГОЈЕВИЋ-ЛАЗИЋ<sup>1</sup>, Љубица ЂУКАНОВИЋ<sup>1</sup>

1. Нефролошка клиника, Клинички центар Србије, Београд; 2. Институт за медицинску биохемију,  
Клинички центар Србије, Београд; 3. Здравствени центар, Ваљево

**КРАТАК САДРЖАЈ:** Одређивање бубрежне функције је од посебног значаја у клиничкој пракси, нарочито код болесника са трансплантираним бубрегом код којих су неопходне честе контроле. Како идеални маркер за одређивање јачине гломерулске филтрације (ЈГФ) још није пронађен, и даље се праве напори да се пронађе прецизан и једноставан метод за његово одређивање. Концентрација цистатина С (СуС) у серуму протеина мале молекулске масе и стабилне продукције предлаже се као нова мера ЈГФ, али подаци о његовој употреби код Тх нису бројни. Зато је циљ ове студије био да се упореди концентрација СуС и  $\beta$ 2-микроглобулина ( $\beta$ 2-MG) са клиренсом креатинина (Сср), као мером ЈГФ код болесника са трансплантираним бубрегом. У студију је укључено 20 болесника са трансплантираним бубрегом (12 мушкараца и осам жена) старости од 22 до 63 године ( $40,4 \pm 10,1$ ) са Сср од 7,1 до 77,7 ml/min и 16 болесника контролне групе (пет мушкараца и једанаест жена) са различитим бубрежним болестима, старости од 24 до 63 године ( $41,5 \pm 12,5$ ), са Сср од 60,5 до 116,8 ml/min. Сср је упоређен са реципрочном вредности СуС (1/СуС) и реципрочном вредности  $\beta$ 2-MG (1/ $\beta$ 2-MG) коришћењем методе линеарне регресије. Код болесника са трансплантираним бубрегом постоји значајна корелација између Сср и 1/СуС у серуму ( $r=0,828$ ;  $p<0,001$ ), односно 1/ $\beta$ 2-MG у серуму ( $r=0,791$ ;  $p<0,001$ ), што је виђено и у контролној групи болесника (СуС:  $r=0,603$ ;  $p<0,05$ ), ( $\beta$ 2-MG:  $r=0,627$ ;  $p<0,05$ ). Корелација између Сср и 1/СуС је већа него између Сср и 1/ $\beta$ 2-MG, али без статистичке значајности. Коефицијент корелације између СуС и  $\beta$ 2-MG био је  $r=0,839$  ( $p<0,001$ ) код болесника са трансплантираним бубрегом, односно  $r=0,835$  ( $p<0,05$ ) код болесника контролне групе. Није било разлике између ових показатеља у две испитане групе болесника. Могло би се закључити да је концентрација СуС у серуму нешто боље мерило ЈГФ него  $\beta$ 2-MG код болесника са трансплантираним бубрегом у стабилној фази, што није случај код контролне групе болесника. Ово захтева даље испитивање код болесника са трансплантираним бубрегом и акутним погоршањем функције графта.

**Кључне речи:** цистатин С,  $\beta$ 2-микроглобулин, јачина гломерулске филтрације, болесници са трансплантираним бубрегом.

### УВОД

Одређивање бубрежне функције је од великог значаја у клиничкој пракси. Нарочито је код болесника са трансплантираним бубрегом значајно често и брзо одређивање бубрежне функције у непосредном постоперативном току, а и касније, у току праћења болесника и посебно у току компликација. Као најбоља мера глобалне бубрежне функције сматра се јачина гломерулске филтрације (ЈГФ). Уобичајене методе за одређивање ЈГФ су често недоступне или недовољно прецизне, тако да се чине напори за проналажење прецизног и једноставног метода са одређивање ЈГФ.

У последње време се испитују могућности коришћења концентрација протеина мале молекулске масе као што су  $\beta$ 2-микроглобулин ( $\beta$ 2-MG), ретинол-везујући протеин (*retinol-binding protein* – RBP) и  $\alpha$ 1-микроглобулин (*protein HC*) у серуму за процену ЈГФ. Међутим, ниједан од ових протеина мале молекулске масе се није показао као довољно поуздан углавном због утицаја небубрежних фактора на њихову концентрацију: инфекција, дијете, обољења јетре итд. [1-7]. Цистатин С (СуС), инхибитор цистеин протеиназа, јесте протеин мале молекулске масе који константно продукују све ћелије са једром, независно од различитих патолошких стања, и који се елиминира из крви искључиво преко гломерула [8-10].

Тако се концентрација СуС у серуму препоручује као ново мерило за одређивање ЈГФ. Међутим, подаци о његовим вредностима код болесника са трансплантираним бубрегом су јако оскудни.

### ЦИЉ РАДА

Циљ овог испитивања је било упоређивање концентрација СуС и  $\beta$ 2-MG са клиренсом креатинина (Сср) као мером ЈГФ код болесника са трансплантираним бубрегом и у контролној групи болесника са различитим болестима бубрега.

### МЕТОД РАДА

У студији је обрађено 36 болесника који су подељени у две групе.

Групу 1 је чинило 20 болесника са трансплантираним бубрегом (12 мушкараца и осам жена) старости од 22 до 63 године ( $40,4 \pm 10,1$ ), са клиренсом креатинина од 7,1 до 77,7 ml/min.

Групу 2 је чинило 16 болесника контролне групе (пет мушкараца и 11 жена) са различитим бубрежним болестима, старости од 24 до 63 године ( $41,5 \pm 12,5$ ), са клиренсом креатинина од 60,5 до 116,8 ml/min.

Концентрације  $CyC$  и  $\beta 2-MG$  одређивани су комерцијалном *Latex* имунонефелометријском (*DADE Behring*) методом на *BNA* анализатору а према упутствима произвођача. Креатинин је одређиван Џефијевом (*Jaffe*) реакцијом у серуму и урину, а клиренс креатинина је израчунаван стандардном формулом. Клиренс креатинина је поређен са реципрочном вредности  $CyC$  и  $\beta 2-MG$  коришћењем методе линеарне регресије. Код оштећења бубрежне функције реципрочна вредност креатинина у серуму код већине болесника опада линеарно, па се узима као боље мерило промене бубрежне функције него сам креатинин, што је случај и са  $CyC$  и  $\beta 2-MG$ .

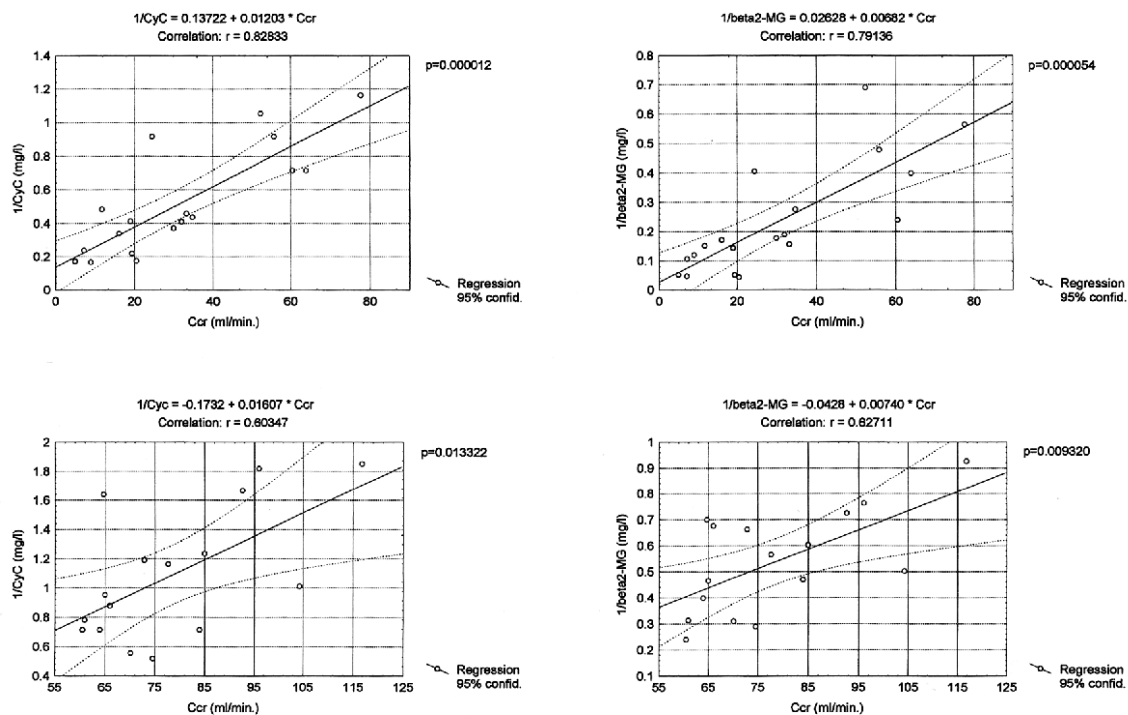
## РЕЗУЛТАТИ

Код болесника са трансплантираним бубрегом постоји значајна корелација између клиренса креатинина и реципрочне вредности  $CyC$  ( $r=0,828$ ;  $p<0,001$ ), као и клиренса креатинина и реципрочне вредности  $\beta 2-MG$  ( $r=0,791$ ;  $p<0,001$ ) (Графикон 1). Корелација између реципрочне вредности  $CyC$  и клиренса креатинина је боља, међутим, није било статистички значајне разлике. Коефицијент корелације између  $CyC$  и  $\beta 2-MG$  у серуму такође је био високо статистички значајан ( $r=0,839$ ;  $p<0,001$ ) код болесника са трансплантираним бубрегом, што је утврђено и у контролној групи болесника ( $r=0,835$ ;  $p<0,05$ ).

## ДИСКУСИЈА

Јачина гломерулске филтрације је мера бубрежне функције која се обично смањује после настанка бубрежне болести. Код болесника са трансплантираним бубрегом тачно одређивање ЈГФ значајно је за процену тежине оштећења функције калема и одлучивање о врсти терапије.

Идеално мерење ЈГФ било би мерење клиренса биолошких, тј. ендогених супстанци, које се налазе у плазми/серуму у константној концентрацији. То би требало да буде супстанца која се слободно филтрује у гломерулима, не реасорбује, нити екскретује у тубулима и не елиминише неким другим путем осим преко бубрега. Осим тога, концентрација идеалне



ГРАФИКОН 1. Корелација између клиренса креатинина и реципрочне вредности цистатина C, односно реципрочне вредности  $\beta 2$ -микроглобулина код болесника са трансплантираним бубрегом (први ред) и болесника контролне групе (други ред).

GRAPH 1. Correlation between creatinine clearance and reciprocal values of cystatin C and creatinine clearance and  $\beta 2$ -microglobulin in renal transplant patients (first row) and controls (second row).

ендогене супстанце не би смела да зависи од реакција запаљења, нити би на њу смеле да утичу друге ендogene супстанце. Та супстанца такође не сме да утиче на аналитичке факторе, њена употреба треба да буде рутинска, а цена доступна [11].

Поред ендogenих користе се и неки екзогени маркери за одређивање ЈГФ, као што су *инулин* и *радионуклеиди*. Међутим, њихова употреба у рутинској, свакодневној пракси је ограничена из техничких, економских и организационих разлога. Поред тога, употреба радионуклеида, поред специфичног руковања, захтева и излагање радијацији [12]. Употреба *уреје*, *креаџинина* и *клиренса креаџинина* као мера ЈГФ је најдоступнија у клиничкој пракси, али је недовољно прецизна [3, 11-16].

У циљу проналажења ендogene супстанце која се синтетише у организму и једноставно одређује, покушано је са одређивањем *γ-траге* *мале молекулске масе*. За разлику од  $\beta 2$ -MG, RBP и  $\alpha 1$ -MG [4-8, 17], цистатин С ( $\gamma$ -траг или пост- $\gamma$  глобулин) константно продукују све ћелије са једром и он има следеће карактеристике: слободно се филтрује кроз гломеруле, не секретује се у тубулима нити елиминише неким другим екстрареналним путем, готово потпуно га апсорбују и катаболишу ћелије проксималних тубула, његова концентрација не зависи од реакција акутне фазе, нити од ендogenих и аналитичких фактора [4, 8-10, 14].

Предности СуС над клиренсом креатинина су следеће: потребан је само један узорак серума/плазме, његова концентрација не зависи од мишићне масе, површине тела или уноса хране, СуС се не секретује у тубулима, нема значајног утицаја цефалоспорина, аспирина, циклоспорина А, односно билирубина на концентрацију СуС, опсег вредности СуС је идентичан за одрасле и децу [11, 16, 18].

Код болесника са трансплантираним бубрегом потребно је брзо одређивање функције трансплантираног бубрега, што омогућава рано откривање одбацивања графта, као и адекватно дозирање имunosупресивних лекова. Концентрација  $\beta 2$ -MG у серуму зависи од његове продукције и ЈГФ [5, 19]. Његова продукција се мења код болесника са лимфопролиферативним синдромима, инфекцијама и аутоимуним болестима [5]. Имunosупресивни лекови мењају продукцију  $\beta 2$ -MG чинећи га неприкладним маркером ЈГФ код болесника са трансплантираним бубрегом [16]. Студија Риша (*Risch*) и сарадника [16] показује да би код болесника са трансплантираним бубрегом и запаљенским процесима или за време акутног одбацивања СуС наставио да прецизно одређује ЈГФ, док би клиренс креатинина варирао, те би он био лошији маркер ЈГФ него СуС. Са овим се слажу и бројни други аутори [20-22].

Код трансплантираних болесника испитаних у овом раду коефицијенти корелације између клиренса креатинина и реципрочне вредности СуС су већи него коефицијенти корелације између клиренса креатинина и реципрочне вредности  $\beta 2$ -MG, али без статистичке значајности ( $p=0,433836$ ) (Графикон 1).

Могло би се закључити да је СуС нешто боље мерило бубрежне функције од  $\beta 2$ -MG код ових болесника, али се мора напоменути да су испитани болесници били у стабилној фази.

## ЗАКЉУЧАК

Цистатин С је нешто бољи маркер за одређивање ЈГФ код болесника са трансплантираним бубрегом него  $\beta 2$ -микроглобулин. Иако су коефицијенти корелације између клиренса креатинина и испитаних протеина мале молекулске масе били већи код болесника са трансплантираним бубрегом него код болесника контролне групе, њихове разлике нису биле статистички значајне. Све је то указало на то да се цистатин С може користити за процену ЈГФ готово с подједнаком поузданошћу као и  $\beta 2$ -микроглобулин код болесника са трансплантираним бубрегом уколико су у стабилном стању и болесника са другим болестима бубрега. Међутим, имајући у виду шта све утиче на продукцију и концентрацију  $\beta 2$ -микроглобулина у серуму, било би од значаја испитати групу болесника са трансплантираним бубрегом и акутним погоршањима функције трансплантираног бубрега.

## ЛИТЕРАТУРА

- Kabanda A, Jadoul M, Pochet MJ et al. Determinants of the serum concentrations of low molecular weight proteins in patients on maintenance hemodialysis. *Kidney Int* 1994; 45:1689-1696.
- Colle A, Tavera C, Previt D et al. Cystatin C levels in sera of patients with human immunodeficiency virus infection. *J of Immunoassay* 1992;13(1):47-60.
- Finney H, Newman JD, Gruber W, Merle P, Price PCh. Initial evaluation of cistatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chemistry* 1997;43(6):1016-1022.
- Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The Blood serum concentration of cystatin C ( $\gamma$ -trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1985;45:97-101.
- Norlund L, Fex G, Lanke J et al. Reference intervals for the glomerular filtration rate and cell-proliferation markers: serum cystatin C and serum  $\beta 2$ -microglobulin/cystatin C ratio. *Scand J Clin Lab Invest* 1997;57(6):463-470.
- Grubb A, Simonsen O, Sturfelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentration of cystatin C, factor D and  $\beta 2$ -microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Medica Scand* 1985;218:499-503.
- Ayatse JO, Kwan JTC. Relative sensitivity of serum and urine retinol binding protein and  $\alpha 1$ -microglobulin in the assessment of renal function. *Ann Clin Biochem* 1991;38 (Suppl):20-27.
- Grubb A. Diagnostic value of analysis of cistatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol* 1992;38(Suppl 1):S20-S27.
- Mussap M, Ruzzante N, Varagnolo M, Plebani M. Quantitative Automated Particle-Enhanced Immunonephelometric Assay for the Routinary Measurement of Human Cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998;36(11):859-865.
- Erlandsen JE, Randers E, Kristensen HJ. Reference Intervals for Serum Cystatin C and Serum Creatinine in Adults. *Clin Chem Lab Med* 1998;36(6):393-397.
- Shemesh O, Golbetz H. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int* 1985;28:830-838.
- Swan KS. The Search Continues - An Ideal Marker of GFR. *Clin Chem* 1997;43(6): 913-914.

13. Hymself SB, Arteage C, McManus C, Smith J, Moffitt S. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr* 1983; 37:478-494.
14. Newman JD, Thakkar H, Edwards GR et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: A more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 1995;47: 312-318.
15. Gerard SK, Kahayam-Bashi H. Characterization of creatinine error in ketotic patients: a prospective comparison of alkaline picrate methods with an enzymatic method. *Am J Clin Pathol* 1985;84: 659-664.
16. Risch L, Blumberg A, Huber A. Rapid and accurate assessment of glomerular filtration rate in patients with renal transplants using serum cystatin C. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(8):1991-1996.
17. Donadio C, Lucchesi A, Ardini M, Giordani R. Cystatin C, beta2-microglobulin and retinol-binding protein as indicators of glomerular filtration rate: comparison with plasma creatinine. *J Pharm Biomed Anal* 2001;24(5-6):835-842.
18. Randers E, Erlandsen EJ. Serum Cystatin C as an endogenous marker of the renal function - review. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37:389-395.
19. Keevil GB, Kilpatrick SE, Nicholas PS, Maylor WP. Biological variation of Cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1998;44: 1535-1539.
20. Bostom AG, Gohh RY, Bausserman L et al. Serum Cystatin C as a Determinant of Fasting Total Homocysteine Levels in Renal Transplant Recipients with a Normal Serum Creatinine. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:164-166.
21. Paskalev E, Lambrea L, Simeonov P et al. Serum cystatin C in renal transplant patients. *Clin Chim Acta* 2001;310(1):53-56.
22. Jovanović D, Krstivojević P, Obradović I, Đurđević V, Đukanović Lj, Blagojević-Lazić R. Serum cystatin C as measure of GFR in renal transplant patients. BANTAO 5th Congress, 30 September – 3 October 2001, Thessaloniki, Hellas, Greece. Book of abstracts: 79.

## SERUM CYSTATIN C AS A MEASURE OF GFR IN RENAL TRANSPLANT PATIENTS

Dijana JOVANOVIĆ<sup>1</sup>, Pavle KRSTIVOJEVIĆ<sup>3</sup>, Ivana OBRADOVIĆ<sup>2</sup>, Vesna ĐURĐEVIĆ<sup>2</sup>,  
Radmila BLAGOJEVIĆ-LAZIĆ<sup>1</sup>, Ljubica ĐUKANOVIĆ<sup>1</sup>

1. Clinic of Nephrology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade; 2. Institute of Medical Biochemistry, Clinical Centre of Serbia, Belgrade; 3. Health Centre, Valjevo

### INTRODUCTION

Assessment of renal function is of great importance in clinical medicine, especially in renal transplant patients requiring frequent controls of renal function. Therefore, continuous efforts have been made in searching precise and simple method for determination of glomerular filtration rate (GFR). Serum level of cystatin C (CyC), protein of low molecular weight, has been proposed as measure of GFR, but the data of its value in renal transplant patients are scarce [8-10].

### PURPOSE

The aim of this study was to compare the serum levels of low molecular weight proteins CyC and  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2-MG) with creatinine clearance, as well known measure of GFR, in renal transplant patients and control group of patients with different renal disease.

### PATIENTS AND METHODS

The study included 36 patients divided into two groups.

Group 1: 20 renal transplant patients (12 men and 8 women) aged between 22 and 63 (40.4±10.1) years with creatinine clearance from 7.1 to 77.7 ml/min.

Group 2: 16 controls (5 men and 11 women) with various renal diseases, aged between 24 and 63 (41.5±12.5) years with creatinine clearance from 60.5 to 116.8 ml/min.

N Latex Cystatin C and  $\beta$ 2-microglobulin for the Behring Nephelometer System was used in this study. Creatinine was determined with Jaffe-reaction in serum and urine.

### RESULTS

In renal transplant patients as well as in control group of patients the significant correlation between creatinine clearance and reciprocal values of the serum CyC ( $r_1=0.828$ ;  $p_1<0.001$ ;  $r_c=0.603$ ;  $p_c<0.05$ ) and reciprocal values of the serum  $\beta$ 2-MG levels ( $r_1=0.791$ ;  $p_1<0.001$ ;  $r_c=0.627$ ;  $p_c<0.05$ ) was found (Graph 1). There was a slightly better correlation between creatinine clearance and reciprocal values of the serum CyC than the one between creatinine clearance and reciprocal values of the serum  $\beta$ 2-MG without statistical significance in renal transplant patients. There was no difference in correlation coefficients between both low molecular weight proteins and creatinine clearance in Group 2.

The correlation coefficient between serum CyC and  $\beta$ 2-MG was  $r=0.839$  ( $p<0.001$ ) in renal transplant patients and  $r=0.835$  ( $p<0.05$ ) in control group.

There were no significant differences in correlation coefficients between reciprocal values of serum CyC and creatinine clearance

( $p=0.2043$ ) as well as reciprocal values of serum  $\beta$ 2-MG and creatinine clearance ( $p=0.3717$ ) between Group 1 and Group 2.

### DISCUSSION

In renal transplant patients rapid assessment of graft function is necessary. This allows early recognition of rejection as well as differential diagnosis of different renal graft disorders. Study of Risch and co [16] suggested that serum CyC was very good marker for GFR in renal transplant patients which was confirmed by the other authors too [20-22]. During inflammatory process or other pathological conditions, especially during acute rejection or infections, CyC also provided precise assessment of GFR while creatinine clearance varied dramatically [16].

Serum concentration of  $\beta$ 2-MG, another low molecular weight protein, also depends both on its production rate and the GFR [5, 19]. Its production is dramatically different in patients with infections [5] as well as while immunosuppressive drugs are used [16]. Therefore,  $\beta$ 2-MG is impractical as GFR marker in patients with renal transplants. So, serum CyC was considered as better marker for GFR than  $\beta$ 2-MG and creatinine clearance in renal transplant patients with different complications [16]. In this study serum CyC was slightly better marker for GFR than  $\beta$ 2-MG, without statistical significance (Graph 1). Renal transplant patients, however, were in the stable condition at the time of the study.

### CONCLUSION

Serum CyC was moderately better marker of GFR than  $\beta$ 2-MG in renal transplant patients when they were in the stable condition. Serum CyC and  $\beta$ 2-MG were the same markers of GFR in control group of patients with various renal diseases.

There was no significant difference in correlation coefficients between reciprocal values of the serum CyC and creatinine clearance ( $p=0.2043$ ) as well as reciprocal values of the serum  $\beta$ 2-MG levels and creatinine clearance ( $p=0.3717$ ) between two examined groups of patients. The studies on renal transplant patients with acute graft rejection or infections are warranted.

*Key words:* cystatin C,  $\beta$ 2-microglobulin, measure of glomerular filtration rate (GFR), renal transplant patients.

Dijana JOVANOVIĆ  
Institut za urologiju i nefrologiju  
Nefrološka klinika  
Pasterova 2, 11000 Beograd  
Tel: 011 686 740

\* Рукопис је достављен Уредништву 26. 3. 2002. године.