

ЦИСТАТИН С И ПРОТЕИНИ МАЛЕ МАСЕ МОЛЕКУЛА КАО НОВИ МАРКЕРИ ЗА ПРОЦЕНУ ЈАЧИНЕ ФИЛТРАЦИЈЕ У ГЛОМЕРУЛИМА

Дијана Б. ЈОВАНОВИЋ

Нефролошка клиника Института за урологију и нефрологију Клиничког центра Србије, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ: Јачина гломерулуске филтрације (*JGF*) сматра се најбољом мером функције бубрега, без обзира што бубрег обавља и многе друге функције, као што су екскрециона, метаболичка, ендокрина и хематолошка. *JGF* се може процењивати мерењем концентрације уреје и креатинина у серуму, израчунавањем клиренса инулина (што није изводљиво у рутинској пракси), уреје, креатинина и различитих радионуклеидних маркера (што је везано за специфично руковање и излагање радијацији). Међутим, сваки од ових начина процене *JGF* има своје предности, али и мане, тако да се идеални маркер за мерење *JGF* још увек тражи. Протеини мале масе молекула, као бета-два-микроглобулин, ретинол-везујући протеин, алфа-један-микроглобулин, проучавани су као могући маркери за процену *JGF*, али се ни један од њих није показао корисним; на њих утичу небубрежни фактори, као што су инфекције, дијета, болести јетре, имунолошка и неопластична обољења. Цистатин С, инхибитор цистеин-протеиназа, такође је један од протеина мале масе молекула, који стварају готово све ћелије с једром. Непрекидно стварање у организму и независност од пола, старости, инфекција, различитих обољења, као и функције бубрега, чине га добрим маркером за мерење *JGF*. Осим тога, једноставност и брзина испитивања чине га готово идеалним маркером за мерење *JGF*. Иако су потребна даља испитивања, не може се искључити да ће мерење нивоа цистатина С у серуму можда заменити мерење нивоа креатинина у серуму за рутинску процену *JGF*.

Кључне речи: јачина гломерулуске филтрације, цистатин С, бета-два-микроглобулин, алфа-један-микроглобулин. (СРП АРХ ЦЕЛОК ЛЕК).

Јачина гломерулуске филтрације (*JGF*) сматра се најбољом мером функције бубрега, упркос чињеници да бубрег има и многе друге улоге, као у регулацији баланса воде и соли, еритропоези, метаболизму костију, хомеостазе електролита и регулацији притиска крви [1]. Јачина филтрације у гломерулима смањује се рано, с настанком болести бубрега, тако да је њено тачно мерење значајно за испитивање прогресије болести бубрега, као и за одлучивање о врсти терапије, како би се избегло даље оштећење функције бубрега и других органа.

Идеални маркер за мерење *JGF* требало би да буде ендогена супстанција, која се налази у плазми у константној концентрацији, слободно се филтрује у гломерулима, не реапсорбује нити излучује у тубулима бубрега и не елиминира другим путем осим бубрезима. Осим тога, идеална ендогена супстанција не треба да зависи од реакција акутне фазе (запаљења), нити на њу треба да утичу друге ендогене супстанције; она не треба да утиче на аналитичке факторе, а њена употреба треба да буде рутинска и цена доступна [1, 2]. Пошто идеални маркер још увек није откривен, наводимо постојеће начине испитивања *JGF*.

Концентрација уреје у серуму

Употреба уреје као мере *JGF* ограничена је. Стварање уреје зависи од количине беланчевина које се унесу храном у току дана (егзогени фактор) [3, 4] и од стања метаболизма (ендогени фактор) [1]. Ако особа уноси исту количину беланчевина, и ако је њен метаболизам нормалан, тада он ствара и излучује кон-

стантну количину уреје у току дана. Према томе, само тада је производ концентрације уреје у плазми и у урину константан ($P_u \times C_u = const$). Због свега тога, концентрација уреје у серуму није добро мерило функције бубрега.

Концентрација креатинина у серуму

Креатинин је специфичан маркер за мерење *JGF*, али је слабе сензитивности. Помоћу њега није могуће открити благу редукцију *JGF* због нелинеарне корелације између концентрације креатинина у серуму и *JGF*. Креатинин је метаболички производ креатинина и фосфокреатинина из мишића, те одражава масу мишића и варира у зависности од година и пола [5], а не зависи од уноса хране. Креатинин је мали молекул који се не везује за протеине у крвотоку, слободно се филтрује у гломерулима, али се излучује путем тубула. Ова секреција тубула расте са слабљењем функције бубрега. Неколико супстанција може интерферисати с лабораторијским мерењем креатинина (гликоза, мокраћна киселина, кетони, протеини плазме, цефалоспорини), те могу лажно повећати ниво креатинина када се испитује Јафевим колориметријским методом [3, 4, 6]. Креатинин постаје добро мерило *JGF* тек после слабљења функције бубрега за 50 посто.

Клиренс (C) неке супстанције представља запремину плазме очишћену од те супстанције у јединици времена. Клиренс супстанције представља излучену количину супстанције мокраћом у јединици времена (*JD*), подељену концентрацијом супстанције у плазми. Ако се супстанција плазме филтрује у гломеру-

лима, и не реасорбује нити екскретује у тубулима, клиренс супстанције показује јачину гломерулске филтрације. Код човека не постоји ниједна природна супстанција у плазми која се излучује само филтрацијом у гломерулима. Међутим, инулин (полимер фруктозе), супстанција страна организму, излучује се, после парентералног уношења, само филтрацијом у гломерулима [6]. Тако, клиренс инулина показује *JGF* и при нормалној функцији бубрега износи 125 *mL/min*. Међутим, он није идеалан за рутинску употребу [7, 8].

Клиренс уреје (*C_u*)

Уреја се филтрује у гломерулима и пасивно реасорбује у тубулима ($C_u < C_{in}$) и не зависи од концентрације у плазми. Клиренс уреје зависи од јачине диурезе: ако је јачина диурезе већа, клиренс уреје је већи, и обрнуто. Самим тим, клиренс уреје не може бити поуздано мерило функције бубрега код здравих особа, јер јачина диурезе варира од 0,46 до 15 *mL/min*. Код развијене хроничне инсуфицијенције бубрега, распон јачине диурезе смањује се од 1,5 до 2,5 *mL/min* и тада клиренс уреје мање варира, те постаје боље мерило функције бубрега [7, 8].

Клиренс креатинина (*C_{cr}*)

Креатинин се филтрује у гломерулима и активно екскретује у тубулима. Та екскреција има свој максимум ($C_{cr} > C_{in}$) и зависи од концентрације у плазми. Добро је мерило функције бубрега и у широкој је употреби као неинвазивни метод за испитивање *JGF* у пракси. Пошто с оштећењем *JGF* долази до изражаја зависност клиренса креатинина од концентрације креатинина у серуму, неки аутори сматрају да ни клиренс креатинина није добро мерило функције бубрега. С оштећењем функције бубрега и оштећењем тубула повећава се екскреција путем тубула, с једне стране, а с друге, разне супстанције, о којима је већ било говора, повећавају концентрацију креатинина у крви за приближно сличан проценат, тако да је концентрација креатинина тачна. Међутим, и даље остаје проблем скупљања мокраће у току 24 сата, које може имати утицај на појаву грешке [2, 9].

Клиренс различитих радионуклеидних маркера

Радиоактивни технецијум (^{99m}Tc)-диетилен-триаминопента-ацетилна киселина (*DTPA*), ^{51}Cr -етилен-диаминотетра-ацетилна киселина (*EDTA*) и ^{125}I јод-таламат, користе се за мерење *JGF*. Међутим, њихова употреба у рутинској, свакодневној пракси ограничена је из техничких, економских и организационих разлога. Осим тога, употреба радионуклеида, осим специфичног руковања, захтева и излагање радијацији [1].

Прошени мале масе молекула

Бубрег игра важну улогу у метаболизму већине протеина мале масе молекула, јер се ови протеини филтрују у гломерулима и реасорбују и катаболишу у ћелијама проксималних тубула или екскретују у урину [10–13]. Мале количине се елиминишу преузимањем у перитубулима [14]. Пошто су синтеза, дистри-

буција волумена и други катаболички путеви протеина мале масе молекула релативно стабилни, концентрације у серуму ових протеина могу бити добро мерило *JGF* [15].

Протеини мале масе молекула, као бета-два-микроглобулин, ретинол-везујући протеин (*retinol-binding protein, RBP*), алфа-један-микроглобулин (протеин *HC*) проучавани су као могући маркери за испитивање *JGF* [16, 17]. Ни један од њих се није показао корисним, јер на њихову концентрацију утичу небубрежни фактори, као што су инфекције, дијета, болести јетре [16, 18], имунолошка и неопластичка обољења [15]. Тако, нпр., елиминација бета-два-микроглобулина гломерулском филтрацијом расте код имунолошких поремећаја, као и у неким случајевима малигних обољења [15], нарочито лимфопрлиферационих [19].

Алфа-један-микроглобулин

Назван још и протеин *HC*, алфа-један-микроглобулин је хумани комплекс гликопротеина, хетерогеног наелектрисања. Састоји се од једног полипептидног ланца са 183 аминокиселинских остатака, масе молекула 20667. Протеин *HC* стварају ћелије јетре и његово стварање је непромењено у запаљењу (није протеин акутне фазе). Може бити у плазми слободан или у комплексима с *HC+IgA* и *HC+албумин*. Комплекса нема у урину здравих људи, а ретко га има у патолошком. Протеин *HC* је стабилан у урину [18].

Нормалне концентрације слободног *HC* су 0–42 *mg/L*, а *HC-IgA* су 36–620 *mg/L*. Нивои слободног *HC* у урину су 3–10 *mg/L* [20, 21]. Има га и у цереброспиналној течности, али нису утврђене стабилност и концентрација.

Пошто се протеин *HC* ствара у јетри, у болестима јетре (фулминантни хепатитис и декомпензована цироза) ниво у плазми слободног *HC* опада, као и екскреција протеина уопште [20, 22]. Ниво слободног *HC* у плазми расте у свим умањеним *JGF*. Бољи је индикатор за мало смањене *JGF* него креатинин. Група истраживача је утврдила да је повећана екскреција слободног *HC* урином веома сензитиван маркер за све испитане врсте оштећења проксималних тубула [18, 21, 22].

Бета-два-микроглобулин

Протеин мале молекулске масе (11815 *D*), саставни је део лаког ланца антигена *HLA* класе *I*. Бета-два-микроглобулин синтетишу и ослобађају готово све ћелије човека (мембране свих ћелија с једром) и налази се у свим течностима тела. Код здравих особа синтетише се у константним количинама и ослобађа у течностима тела за време нормалне регенерације ћелија. Као и остали протеини мале масе молекула, бета-два-микроглобулин се слободно филтрује у гломерулима и више од 99 посто реасорбује и катаболише у проксималним тубулима. Концентрација бета-два-микроглобулина у серуму условљена је синтезом и степеном екскреције и релативно је стабилна [23].

С обзиром да се екскретује путем бубрега, оштећења гломерула и/или тубула доводе до промене кон-

центрације бета-два-микроглобулина у серуму [15]. Повишене концентрације бета-два-микроглобулина нађене су код болесника с инфективним, аутоимунским, неопластичним, лимфопролиферационим болестима (мултипли мијелом, сида) без оштећења *JGF* [9, 15, 18, 19]. Имуносупресивни лекови мењају обим стварања бета-два-микроглобулина, те је тада неупотребљив за испитивање *JGF* [9].

Пошто концентрација цистатина *C*, протеина мале масе молекула, у серуму зависи само од брзине филтрације у гломерулима, а не и од поремећаја у стварању у ћелијама, однос бета-два-микроглобулина и цистатина *C* много је специфичнији параметар стварања у ћелијама него испитивање само бета-два-микроглобулина [18].

Цистатин *C*

Цистатин *C* (назван и *y-targ* или *post y-globuline*) састављен је од једног негликолизованог полипептидног ланца са 120 остатака аминокиселина, масе молекула 13359 *D*, и високе изоелектричне тачке од 9,3 (низак *pH*) [18]. Цистатин *C* је инхибитор хуманих и нехуманих цистеин-протеиназа. Припада недавно дефинисаној суперфамилији протеина, названој цистатин-суперфамилија, јер су сви њени чланови инхибитори цистеин-протеиназа [24–27]. За сада је познато 9 чланова ове суперфамилије. Хумана цистеинска суперфамилија се може поделити на три протеинске фамилије (Табела 1). Прва је с дистрибуцијом у ћелији, а друга и трећа су углавном с дистрибуцијом изван ћелија и у крвним судовима [18].

Хумане цистеинске протеиназе играју главну улогу у интрацелуларном катаболизму пептида и протеина

ТАБЕЛА 1: Хумана суперфамилија цистатина.

Фамилија 1	Фамилија 2	Фамилија 3
цистатин А	цистатин С	ниска тежина молекула кининоген
цистатин В	цистатин D	висока тежина молекула кининоген
	цистатин S	
	цистатин SU = цистатин SN	
	цистатин SA	

у протеолитичким процесима прохормона, у катаболизму колагена и продирању малигнућ ћелија у здраво ткиво. Цистеин-протеиназе микроорганизама су одговорне за њихово умножавање и продирање у ткива. Верује се да цистатини играју кључну улогу у регулацији и локалној рестрикцији потенцијално штетне протеолитичке активности цистеинских протеиназа. Објашњење за појаву више различитих цистатина у већини хуманих биолошких течности, вероватно је то да сваки цистатин поседује свој специфични инхибициони спектар, па је укупни инхибициони спектар у биолошким течностима веома широк [18].

Цистатин *C* стварају готово све ћелије с једром и његово стварање је константно и независно од старости болесника, пола, врсте обољења, активности болести, инфекције, као и функције бубрега [3, 15, 18, 28–30]. Структура гена за цистатин *C* и његов промотер су одређени, а ген је изгледа типа “housekeep-

ing”, који је компатибилан са стабилним стварањем цистатина *C* у већини ћелија [31]. Протеин мале масе молекула, цистатин *C*, у комбинацији са стабилним стварањем, индукује да је његова концентрација у серуму углавном одређена *JGF* индивидуална, што се описује у неким новијим радовима [1, 3, 4, 18].

Као што је већ речено, цистатин *C* синтетички готово све ћелије с једром, а највише концентрације цистатина *C* су у семенској плазми, цереброспиналној течности и млеку [32]. Мала маса молекула и позитивно наелектрисање, у физиолошком *pH*, омогућавају му лак пролаз кроз филтер гломерула. Ћелије проксималних тубула реасорбују и катаболишу практично све количине филтрованог цистатина *C*, па је његова нормална концентрација у урину веома ниска (0,03–0,3 *mg/L* [3, 33]. Нормална концентрација цистатина *C* у плазми је 0,6–2,5 *mg/L* (1,0 *mg/L*). Ниво цистатина *C* у цереброспиналној течности код здравих одраслих особа је 3,2–12,5 *mg/L* (5,8 *mg/L*) и 5–6 пута је виши од нивоа у плазми. Разлог може бити што се цистатин *C* ствара у високим концентрацијама у специјализованим ћелијама централног нервног система (хорионидни плексус). Изразито високе концентрације (око 22 *mg/L*) могу се открити у ликвору здраве одојчади до 3 месеца [34]. Највише концентрације цистатина *C* су нађене у семенској плазми 41–62 *mg/L* (51 *mg/L*) [18].

Стабилност цистатина *C* у хуманим биолошким течностима. Плазма и серум се могу чувати замрзнути недељама и месецима без разградње цистатина *C*. Међутим, у цереброспиналној течности настаје брза разградња цистатина *C*, вероватно путем серин-протеиназе, коју локално стварају гранулоцити или микроорганизми који су контаминисали узорак. Да би се ово спречило, додају се инхибитори серин-протеиназе (безамидин-хлорид). Цистатин *C* се у урину, такође, разграђује уз помоћ протеолитичких ензима, вероватно пореклом из оштећеног ткива бубрега, или микроорганизама у мокраћној бешици или урину. Разлог релативно добре стабилности цистатина *C* у узорцима крви вероватно су високе концентрације инхибитора протеиназа (алфа-два-макроглобулина, алфа-један-антитрипсина, кининогена) и природних конзерванаса, као што је трансферин [18].

Методи испитивања цистатина *C*. Још 1979. године Лофберг и Граб (*Grubb*) [33] развијају први метод мерења цистатина *C* на бази ензимског имуноесеја, мада недовољно прецизан и осетљив, а чије извођење дуго траје. Каснија појава једноставније и сензитивније радиофлуоресценције, као и такваног “сендитивког” имуноесеја ензима, 1993. године [35], и даље не скраћује трајање мерења, што је далеко од идеалног за рутинску праксу. Године 1994/95. појавили су се брзи, потпуно аутоматизовани турбидиметријски методи “particle enhanced” (*PETIA*) [3]. Фирма Беринг-дијагностика је произвела одговарајући тест заснован на нефелометријском имуноесеју “particle enhanced” (*PENIA*). Полистиренске честице, превучене зечијим антителима за цистатин *C*,

агнутмишу с цистатином *C* из узорка. Интензитет скретања светлосног зрака на нефелометру зависи од концентрације анализата у узорку. Концентрација се процењује поређењем с разблаженим стандардима познатих концентрација [3, 4].

Дијагностичка употреба цистатина *C*. Стабилно стварање цистатина *C* у свим ткивима и катаболизам бубрега индикују да је ниво цистатина *C* у серуму добро мерило *JGF*. И заиста, концентрације цистатина *C* у серуму боље корелишу с *JGF* него концентрације у серуму других протеина мале масе молекула и вероватно је бољи за мерење *JGF* и од креатинина [15, 36]. Предности цистатина *C* над клиренсом креатинина следеће су [9, 28, 37]: потребан је само један узорак серума/плазме; не зависи од масе мишића, површине тела, уноса хране; нема секреције тубула; нема значајног утицаја цефалоспорина, аспирина, циклоспорина *A*, билирубина; идентичан ранг је за одрасле и децу; није потребно скупљање урина.

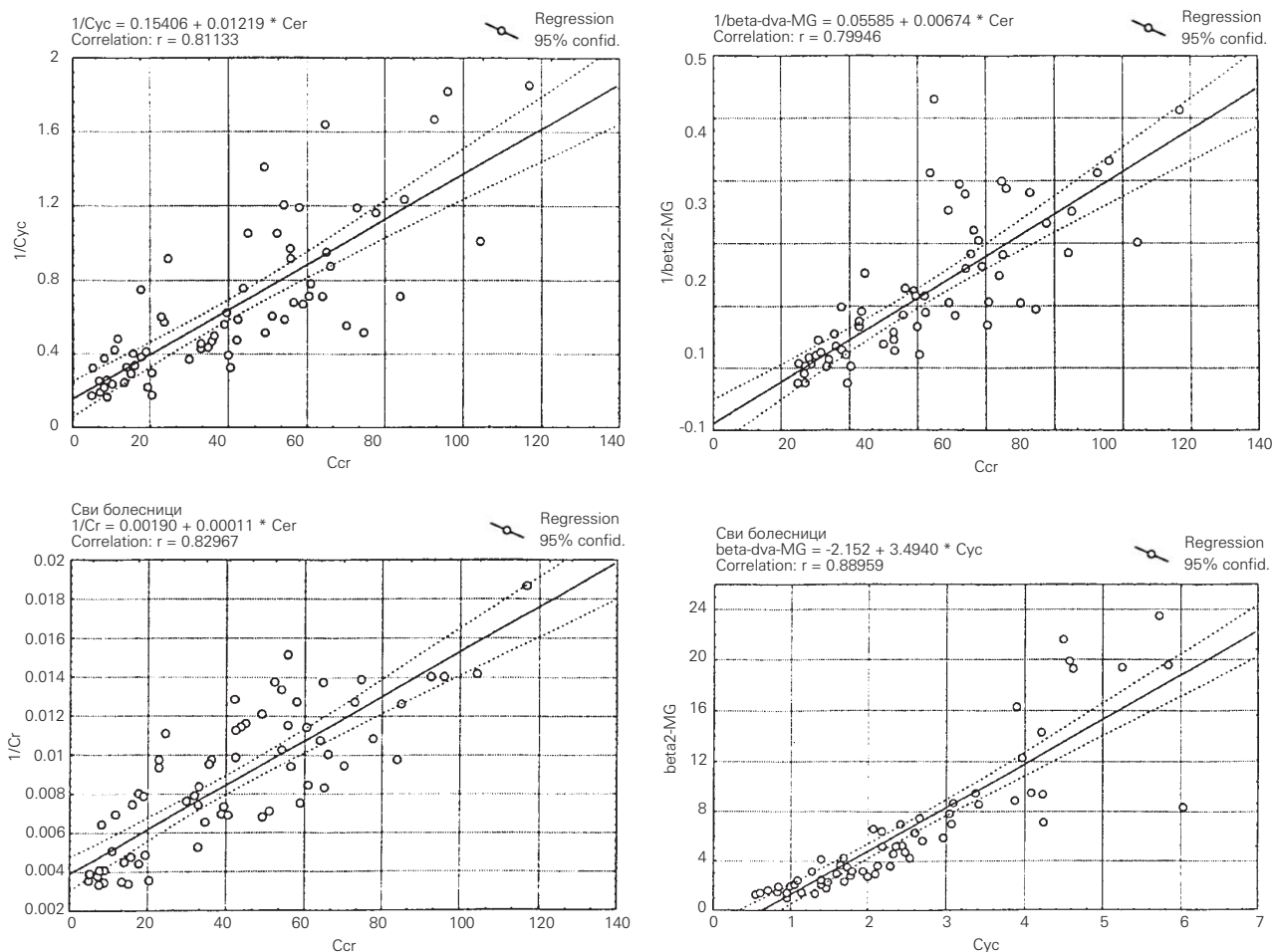
Осим тога, Симонсен и сарадници су објавили да реципрочна величина цистатина *C* у серуму значајно корелише с клиренсом *51Cr-EDTA*, која је једна од најбољих мера за мерење *JGF* [15]. У једном од на-

ших радова приказали смо корелацију између реципрочне величине цистатина *C* с клиренсом креатинина, код болесника с различитом функцијом бубрега и различитим болестима бубрега (Графикон 1) [38].

Концентрације цистатина *C* у урину расту код болесника с оштећењима тубула [33], али његова нестабилност у урину онемогућава употребу у дијагностици.

ЗАКЉУЧАК

Брз развој разних терапијских интервенција код болесника с различитим обољењима, нарочито за ризичне групе болесника, укључујући болеснике у јединицама за интензивну негу, нефролошке болеснике, уролошке болеснике, с трансплантисаним органом, особе с дијабетесом мелитусом, труднице, болеснике који захтевају нефротоксичну хемиотерапију, повећава захтев за брзим, сигурним и једноставним методом за мерење јачине филтрације гломерула. Цистатин *C*, молекул мале масе, један је од нових маркера чије су предности, осим стабилног стварања у организму, независности од старости, пола, различитих обољења и њихове активности, инфекција, као и функције бубрега, да се може једноставно и брзо измерити његова концентрација [1, 9, 23, 38–44]. Тео-



ГРАФИКОН 1. Корелација између реципрочне величине цистатина *C*, бета-два-микроглобулина и креатинина с клиренсом креатинина, за болеснике с различитим обољењима бубрега и различитом функцијом бубрега.

rijski, мерење nivoa cistatina C predstavlja vreden doprinos dijagnostičkoj praksi. Međutim, neophodna su dalja ispitivanja ovog metoda pre nego što njegova uloga u kliničkoj praksi bude validna.

LITERATURA

- Swan KS. The search continuous - An ideal marker of GFR. *Clin Chem* 1997;43:913-4.
- Shemesh O, Golbetz H. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int* 1985;28:830-8.
- Newman JD, Thakkar H, Edwards GR, Wilkie M, White T, Grubb O A et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: A more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 1995;47:312-8.
- 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 (SNA, BN II). *Clin Chemistry* 1997;43:1016-22.
- Hymnsfield 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;37:478-94.
- 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;84:659-64.
- Savin S. Kliničko ispitivanje bubrežne funkcije. U: Ristić SM (Ured.). *Interna medicina. Medicinska knjiga*, Beograd 1994;1328-35.
- Jovanović D. Dijagnozni postupci u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji. XIII kongres lekara Srbije sa međunarodnim učesćem, Vrnjačka Banja. *Knjiga radova* 1996;319-26.
- 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;14:1991-6.
- Evrin PE, Wibell L. The serum levels and urinary excretion of p2-microglobulin in apparently healthy subjects. *Scand J Clin Lab Invest* 1972;29:69-74.
- Wibell L, Evrin PE, Berggard I. Serum p2-microglobulin in renal disease. *Nephron* 1973;10:320-31.
- Fredriksson A. Renal handling of p2-microglobulin in experimental renal disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1975;35:591-600.
- Trollfors B, Norrby R. Estimation of glomerular filtration rate by serum creatinine and serum p2-microglobulin. *Nephron* 1981;28:196-9.
- Ravnskov U, Johansson B, Gotlin J. Renal extraction of 132-microglobulin. *Scand J Clin Lab Invest* 1972;30:71-5.
- Simonsen O, Gribb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (%-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1985;45:97-101.
- Grubb A, Simonsen O, Sturtefelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentration of cystatin C, factor D and p2-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 α 1-microglobulin in the assessment of renal function. *Ann Clin Biochem* 1991;38(Suppl 1):20-7.
- Grubb A. Diagnostic value of analysis of cistatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol* 1992;38(Suppl 1):20-7.
- Norlund L, Fex'G, Lanke J, Von Schenck H, Nilsson E, Leksell H, Grubb A. Reference intervals for the glomerular filtration rate and cell-proliferation markers: serum cystatin C and serum p2-microglobulin/cystatin C ratio. *Scand J Clin Lab Invest* 1997; 57:463-470.
- DeMars DD, Katzmann JA, Kimlinger TK, Galore JD, Russel PT. Simultaneous measurement of total and IgA-conjugated α 1-microglobulin by a combined immunoenzyme/immunoradiometric assay technique. *Clin Chem* 1989; 35: 766-770.
- Yu H, Yanagisawa Y, Forbes MA, Cooper EH, Crocksom RA, MacLennon ICM. Alpha-1-microglobulin: an indicator protein for renal tubular function. *J.Clin Pathol* 1983;36:253-7.
- Itoh Y, Enomoto H, Kawai T. ocl-Microglobulinin cadmium poisoning. *Nephron* 1983;35:211-5.
- Wagner C. Multicentric evaluation of N latex cystatin C for the Behring nephelometer systems, Behring Diagnosis 1997;1-2.
- Barrett AJ, Fritz H, Gribb A, Isemura S, Jarvinen M, Katunuma N et al. Nomenclature and classification of the proteins homologous with the cysteine-proteinase inhibitor chicken cystatin. *Biochem J* 1986;236:312-6.
- Filler G, Witt I, Priem F, Erich HHJ, Jung K. Are cystatin C and p2-microglobulin better markers than serum creatinine for prediction of a normal glomerular filtration rate in pediatric subjects? *Clin Chem* 1997;43:1077-8.
- Kabanda A, Jadoul M, Pochet MJ, Lauwerys R, Van Ypersele de Strihou Ch, Bernard A. Determinants of the serum concentrations of low molecular weight proteins in patients on maintenance hemodialysis. *Kidney Int* 1994;45:1689-96.
- Collie A, Tavera C, Previt D, Leung J, Tack J, Thomas Y et al. Cystatin C levels in sera of patients with human immunodeficiency virus infection. *J Immunoassay* 1992;13:47-60.
- Mussap M, Ruzzante N, Varagnolo M, Plebani M. Quantitative automated particle-enhanced immunonephelometric assay for the routine measurement of human cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998;36 859-65.
- Erlandsen JE, Randers E, Kristensen HJ. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:393-7.
- Strickle D, Cole B, Hock K, Hruska AK, Scott GM. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem* 1998;44:1334-8.
- Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvback M, Lundwall A, Jesson O et al. Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 1990;268 287-94.
- Abrahamson M, Barrett AJ, Salvesen G, Grubb A. Isolation of six cysteine proteinase inhibitors from human urine. Their physicochemical and enzyme kinetic properties and concentrations in biological fluids. *J Biol Chem* 1986;261:11282-5.
- Lofberg H, Grubb A. Quantitation of γ -trace in human biological fluids: indications for production in the central nervous system. *Scand J Clin Lab Invest* 1979;39:619-26.
- Lofberg H, Grubb A, Sveger T, Olsson JE. The cerebrospinal fluid and plasma concentrations of γ -trace and β 2-microglobulin at various ages and in neurological disorders. *J Neurol* 1980;223:159-70.
- Pergande M, Jung K. Sandwich enzyme immunoassay of cystatin C in serum with commercially available antibodies. *Clin Chem* 1993;39 1885-90.
- Grubb A, Simonsen O, Sturtefelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentrations of cystatin C, factor D and p2-microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand* 1985;218:499-503.
- Randers E, Erlandsen EJ. Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function - review. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:389-95.
- Jovanović D, Krstivojević P, Obradović I, Djurdjević V, Djukanović Lj. Serum cystatin C as a measure of GFR in patients with various renal function. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:125.
- Krstivojević P, Jovanović D, Obradović I, Djurdjević V, Djukanović Lj. Serum cystatin C and p2-microglobulin as a measure of GFR in patients with glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:125.
- Obradović I, Krstivojević P, Djurdjević V, Jovanović D, Majkić-Singh N. Serum concentration of cystatin C as a measure of the glomerular filtration rate. *Clin Chem Lab Med* 1999;37(Suppl Special);524.
- Newman JD, Thakkar H, Edwards GR, Wilkie M, White T, Grubb OA et al. Serum cystatin C: A replacement for creatinine as a biochemical marker of GFR. *Kidney Int* 1994;46(Suppl 47):20-1.
- Keevil GB, Kilpatrick SE, Nicholas PS, Maylor WP. Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1998;44:1535-9.
- Tian S, Kusano E, Ohara T, Tabi K, Hoh Y, Kawai T et al. Cistatin C measurement and its practical use in patients with various renal disease. *Clin Nephrol* 1997;48:104-8.
- Randers E, Kristiansen JH, Erlandsen EJ, Danielsen H. Serum cystatin C as a marker of the renal function. *Scand J Clin Lab Invest* 1998;58:585-92.

DIJANA JOVANOVIĆ
 Institut za urologiju i nefrologiju
 Klinički Centar Srbije
 11 000 Beograd, Pasterova 2
 Tel.: 686-740