

Využití stanovení cystatinu C v odhadu snížených hodnot glomerulární filtrace – srovnání se stanovením β -2-mikroglobulinu

Solichová P.^{1,2}, Vašutová I.², Buček P.³, Kubíček Z.⁴, Stejskal D.¹

¹Oddělení laboratorní medicíny Nemocnice Šternberk, p. o.

²Oddělení klinické biochemie Nemocnice ve Frýdku-Místku, p. o.

³Interní oddělení Nemocnice ve Frýdku-Místku, p. o.

⁴Oddělení klinické biochemie Nemocnice Třinec

SOUHRN

Cíl: Stanovení cystatinu C v krvi je v posledních letech rutinně využíváno k odhadu glomerulární filtrace (GFR). Práce srovnává diagnostickou efektivitu hodnot cystatinu C a β -2-mikroglobulinu pro snížené hodnoty GFR.

Materiál a metoda: 71 pacientů, u všech odhadována GFR pomocí kreatininové clearance [1], podle výpočtu Cockcrofta a Gaulta [2] a podle hodnot cystatinu C [3]. Kreatinin byl stanoven v séru i moči enzymatickou metodou, cystatin C a β -2-mikroglobulin v séru imunoturbidimetricky. Byly stanoveny sérové indexy 1/Cystatin C a 1/kreatinin.

Výsledky: Sérové hodnoty cystatinu C i β -2-mikroglobulinu souvisely s koncentrací kreatininu ($r = 0,89$, $r = 0,93$; $p < 0,01$). Byla prokázána pozitivní korelace mezi indexem 1/cystatin C a clearance endogenního kreatininu ($r = 0,81$; $p < 0,01$), indexu 1/cystatin C a GFR podle Cockcrofta a Gaulta ($r = 0,81$; $p < 0,01$) a indexu 1/kreatinin a GFR podle cystatinu C ($r = 0,85$; $p < 0,01$). Byla nalezena porovnatelná diagnostická efektivita stanovení cystatinu C a β -2-mikroglobulinu pro odhad snížených hodnot GFR; senzitivita činila 94,4 %, respektive 91,7 %, specificita byla 88,2 %, respektive 94,1% pro cut-off hodnotu cystatinu C 1,05 mg/l a β -2-mikroglobulinu 2,9 mg/l.

Závěr: Stanovení cystatinu C má uspokojivou diagnostickou efektivitu pro odhad snížených hodnot GFR; u pacientů bez známké nádorových onemocnění, zánětu či katabolismu. Porovnatelnou diagnostickou efektivitu má i stanovení β -2-mikroglobulinu.

Klíčová slova: cystatin C, β -2-mikroglobulin, kreatinin, glomerulární filtrace, renální postižení.

SUMMARY

Solichová P., Vašutová I., Buček P., Kubíček Z., Stejskal D.: Utilization of the determination of cystatin C in estimating reduced values of glomerular filtration – comparison with the determination of β -2-mikroglobulin

Objective: Serum cystatin C measurement is routinely used for glomerular filtration rate (GFR) assessment in last years – comparison of diagnostic efficacy for serum cystatin C and β -2-mikroglobulin for declension of GFR estimation.

Material and Methods: 71 patients, in all of them GFR was estimated from creatinine clearance [1], by Cockcroft and Gault calculation [2] and from cystatin C values [3]. Creatinine was measured in serum and urine with enzymatic method, serum cystatin C and β -2-mikroglobulin with immunoturbidimetry. Sera 1/Cystatin C a 1/creatinin indexes were performed.

Results: Serum cystatin C and β -2-mikroglobulin values correlated with creatinine concentrations ($r = 0.89$, $r = 0.93$; $P < 0.01$). There were positive correlations between 1/cystatin C and creatinine clearance ($r = 0.81$; $P < 0.01$), between 1/cystatin C and GFR by Cockcroft and Gault ($r = 0.81$; $P < 0.01$) and between 1/creatinine and GFR from cystatin C ($r = 0.85$; $P < 0.01$). Comparable diagnostic efficacy among cystatin C and β -2-mikroglobulin measurement with regard to the declension of creatinine clearance was detected; sensitivity 94.4%, or 91.7%, specificity 88.2 %, or 94.1% for the cystatin C cut-off values 1.05 mg/l and for the β -2-mikroglobulin cut-off values 2.9 mg/l.

Conclusion: Cystatin C has good diagnostic efficacy for the reduction of GFR estimation. In individuals without neoplastic disorders, inflammation or catabolism, β -2-mikroglobulin has comparable diagnostic efficacy, too.

Key words: cystatin C, β -2-mikroglobulin, creatinine, GFR, renal disorders.

Úvod

Cystatin C je neglykosylovaný bazický protein s molekulovou hmotností 13 kD, patřící mezi cysteinové inhibitory proteáz [1–3]. Skládá se ze 120 aminokyselin, je produkován jadernými buňkami a obsažen v tělních tekutinách.

Endogenní produkce cystatinu C je konstantní, nezávislá na pohlaví, tělesné hmotnosti, velikosti svalové hmoty či přítomnosti zánětu [4, 18].

Nízká molekulová hmotnost cystatinu C a vysoká hodnota izoelektrického bodu (pI) umožňují volnou filtraci glomerulární membránou a kompletní reabsorpci buňka-

mi proximálního tubulu ledvin. Koncentrace cystatinu C v krvi je proto považována za spolehlivý endogenní ukazatel glomerulární filtrace (GFR) [4–7]. Zdá se, že znalost koncentrace cystatinu C by mohla v řadě případů pomoci v časně diagnostice i monitorování průběhu incipientních i pokročilých renálních poruch u dětí i dospělých [6–15, 28–31].

Podobně se v posledních dekádách hovoří o možnosti stanovení β -2-mikroglobulinu v krvi, kterého lze využít rovněž k odhadu GFR, i když s určitými omezeními.

Cílem naší práce bylo srovnání diagnostické efektivnosti stanovení cystatinu C a β -2-mikroglobulinu u snížených hodnot GFR.

Materiál a metoda

Byla vyšetřena skupina 71 probandů (28 žen, 43 mužů, věkové rozmezí 24–77 let), pacientů nefrologické ambulance, u kterých byla diagnostikována buď primární glomerulopatie s izolovaným postižením funkce ledvin, nebo sekundární glomerulopatie, kde postižení glomerulů bylo pouze jedním z projevů systémového, cévního, metabolického nebo genetického onemocnění. Ani jeden z vyšetřených nebyl sledován pro nádorové onemocnění, neměl klinické známky zánětu, katabolismus ani nebyl dlouhodobě inaktivní. U části pacientů byla provedena biopsie ledvin s následným histologickým vyhodnocením. U všech probandů byly stanoveny na biochemickém analyzátoru Advia 1650 v séru cystatin C (imunoturbidimetrie, DakoCytomation), kreatinin (enzym, Bayer), β -2-mikroglobulin (imunoturbidimetrie, SCIL) a kreatinin v moči (enzym, Bayer).

Glomerulární filtrace byla odhadována z hodnot kreatininové clearance s korekcí na tělesný povrch

$$\{Clcr_1 [ml/s/1,73m^2] = (Clcr/S) \cdot 1,73;$$

kde $Clcr [ml/s] = (\text{kreatinin v moči} \cdot \text{objem moči}) / \text{kreatinin v séru}$; $S = 0,0167 \cdot (m \cdot h)^{1/2}$ [17] a z hodnot kreatininu v séru $\{(Clcr_2)$,

$Clcr_2 = \{(140 - \text{věk [roky]} \cdot \text{hmotnost [kg]}) / 44,5 \cdot \text{kreatinin v séru}$, u žen byl výsledek násoben faktorem 0,85 [16]. GFR z hodnot cystatinu C byla odhadována algoritmem prezentovaným výrobcem

$$\{GFR_{cyst} (ml/s) = 1,485 \cdot \text{cystatin C}^{-1,675}\} [18].$$

Pro zvýšení přehlednosti byli pacienti rozděleni podle hodnot GFR podle clearance endogenního kreatininu na osoby s hypofiltrací (A) ($GFR < 1,15 \text{ ml/s/1,73 m}^2$), normálními hodnotami GFR (B) ($GFR 1,15 - 1,75 \text{ ml/s/1,73 m}^2$) a jedince s hyperfiltrací (C) ($> 1,75 \text{ ml/s/1,73 m}^2$). K hodnocení vztahu cystatinu a GFR byly použity indexy $1/\text{cystatin C}$ a $1/\text{kreatinin}$.

Ke statistickému zpracování dat byly použity programy CBstat, R-plus, SPSS verze 8 a MedCalc. Hodnoty sledovaných parametrů byly udávány pomocí mediánu a interkvartilového rozpětí. Vzájemné souvislosti mezi jednotlivými parametry byly sledovány za použití korelační analýzy (Pearson). Hodnota $p < 0,01$ byla považována za statisticky významnou. Pro odhad diagnostické efektivity byla použita ROC-analýza.

ním. Z toho u 4 jedinců (17 %) byla diagnostikována neproliferativní glomerulonefritida a u 20 osob chronická proliferativní glomerulonefritida (83 %). U 29 osob se nepodařilo primární glomerulonefritidu blíže specifikovat.

U 14 probandů byla klasifikována sekundární glomerulopatie.

U 1 pacienta byla diagnostikována pyelonefritida a u 3 probandů se jednalo o konečné stadium renální insuficience.

Při rozdělení pacientů podle hodnot clearance endogenního kreatininu ($Clcr_1$) bylo zjištěno, že 39 jedinců mělo snížené hodnoty GFR (55 %), u 17 osob byly hodnoty GFR v normálních mezích (24 %) a 15 jedinců mělo hyperfiltraci (21 %). Rozdělení cystatinu C, β -2-mikroglobulinu, výpočtů GFR i věku bylo ve všech 3 skupinách normální (tab. 1).

Byly nalezeny korelace mezi sérovými hodnotami cystatinu C a kreatininu ($r = 0,89$, $p < 0,001$) a β -2-mikroglobulinu ($r = 0,93$, $p < 0,001$). Hodnoty indexu $1/\text{cystatin C}$ souvisely s hodnotami $Clcr_1$ ($r = 0,81$; $p < 0,01$) a $Clcr_2$ ($r = 0,81$; $p < 0,01$). Hodnoty $1/\text{kreatinin}$ korelovaly s hodnotami GFR_{cyst} ($r = 0,85$; $p < 0,01$). Ve všech případech nebyly nalezeny žádné neshody mezi $Clcr_1$, $Clcr_2$ a GFR_{cyst} , které by mohly být způsobeny preanalytickou, analytickou či postanalytickou chybou.

Diagnostická efektivita stanovení cystatinu C a β -2-mikroglobulinu byla porovnávána u osob s hypofiltrací ($Clcr_1 < 1,15 \text{ ml/s/1,73m}^2$) oproti zbytku pacientů.

Jako optimální cut-off pro koncentrace cystatinu C podle ROC byly zjištěny hodnoty $> 1,05 \text{ mg/l}$, které vykazovaly 94,4% senzitivitu a 88,2% specifitu (AUC 0,96; 95% interval spolehlivosti 0,89–0,99).

Jako optimální cut-off pro koncentrace β -2-mikroglobulinu byly zjištěny hodnoty $2,9 \text{ mg/l}$, které vykazovaly 91,7% senzitivitu a 94,1% specifitu (AUC 0,97; 95% interval spolehlivosti 0,89–0,99). Diagnostická efektivita obou parametrů pro sníženou GFR se významně nelišila (obr. 1).

Metodou regresní analýzy byl navržen výpočet na odhad GFR z hodnoty β -2-mikroglobulinu (mg/l), který byl $GFR (ml/s) = 2,29 \cdot \beta\text{-2-mikroglobulin}^{-1,675}$. (F-ratio 70,1; $p < 0,0001$).

Výsledky

U 24 pacientů ze sledované skupiny byla provedena biopsie ledvin s následným histologickým vyhodnoce-

Diskuse

Součástí funkčního vyšetření ledvin je odhad glomerulární filtrace. Za zlatý standard k odhadu GFR je

Table 1. Basic statistical data in 3 subgroups of patients

Parameter	Subgroup A		Subgroup B		Subgroup C	
	Median	Interquartile range	Median	Interquartile range	Median	Interquartile range
$Clcr_1^1$ (ml/s/1,73m ²)	0.56	0.39–0.66	1.41	1.23–1.65	2.06	1.98–2.60
$Clcr_2^2$ (ml/s)	0.58	0.43–0.86	1.33	1.15–1.74	2.17	1.79–2.55
GFR_{cyst} (ml/s)	0.55	0.36–0.74	1.84	1.38–2.15	2.30	1.95–2.91
Cystatin C (mg/l)	1.79	1.46–2.29	0.88	0.75–1.03	0.77	0.67–0.85
Creatinine ($\mu\text{mol/l}$)	210.90	158.5 – 274.7	102.20	75.7–121.7	78.90	74.1–84.3
β -2-mikroglobulin (mg/l)	5.97	4.82 – 7.47	2.30	1.94–2.59	2.00	1.75–2.26

$Clcr_1^1$ – according to creatinine value (correction on surface of body)

$Clcr_2^2$ – according to creatinine value (from Cockcroft and Gault)

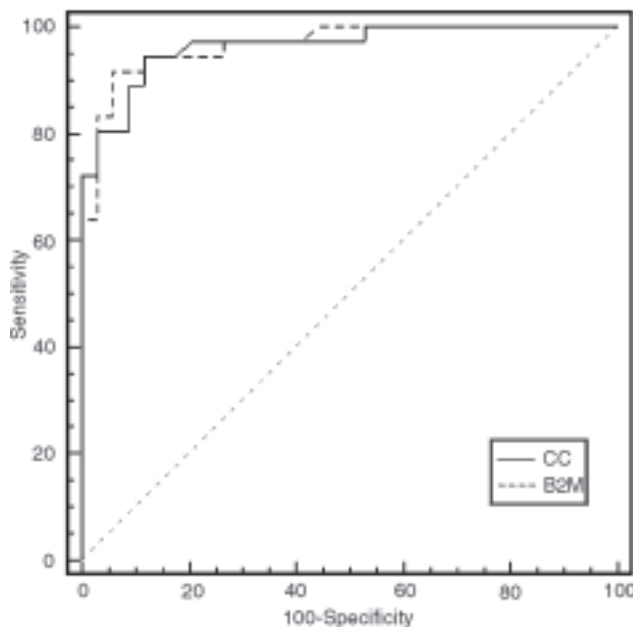


Fig. 1. Comparison of ROCs for sera β -2-microglobulin and cystatin C according to GFR reduction (AUC 0.96 vs. 0.7)

CC – cystatin C

B2M – β -2-microglobulin

považována clearance inulinu nebo ^{51}Cr -EDTA, což jsou látky, které se bez omezení filtrují v glomerulech a přitom nepodléhají tubulární sekreci ani reabsorpci. Z důvodu řady možných problémů se stanovení těchto látek v praxi nevyužívá a odhad GFR se nejčastěji provádí z měření clearance endogenního kreatininu. Ke stanovení kreatininu je přitom v těchto případech doporučováno enzymatické stanovení, které jsme použili i my [7].

V naší práci jsme našli podobně těsné souvislosti mezi cystatinem C, β -2-mikroglobulinem, indexem $1/\text{cystatin C}$ a clearance endogenního kreatininu, jaké popsali i jiní autoři ve studiích, kde byla GFR odhadována z clearance inulinu či ^{51}Cr -EDTA [7, 19–21].

Z ROC-analýzy vyplynula srovnatelná diagnostická efektivita stanovení β -2-mikroglobulinu a cystatinu C pro odhad snížených hodnot GFR.

Na tomto místě je nutno uvést, že β -2-mikroglobulin bývá považován za vhodný ukazatel pro odhad GFR, ale jeho koncentrace v krvi závisí na přítomnosti zánětu, nádorových onemocnění, katabolismu, podávané terapii a řadě dalších faktorů, z čehož vyplývá jeho omezené použití pro tento odhad [22–27]. Domníváme se, že zjištění o srovnatelné diagnostické efektivitě stanovení β -2-mikroglobulinu a cystatinu C pro odhad GFR byly pravděpodobně způsobeny výběrem pacientů ve sledované skupině.

Stejně tak je nutno připomenout, že koncentrace kreatininu v krvi je závislá na pohlaví, věku, svalové hmotě, katabolismu, příjmu potravy, a proto není jeho stanovení pro odhad zcela optimální.

Závěrem lze říci, že předložená práce potvrdila v souladu s literárními údaji možné využití vyšetření cystatinu C v séru pro odhad GFR. Současně z výsledků vyplývá, že ho lze využít u jedinců bez známek zánětu, katabolismu či maligních onemocnění v séru.

Literatura

1. Grubb, A., Löfberg, H. Human γ -trace, a basic microprotein: amino acid sequence and presence in the adenohypophysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982, 79, 9, p. 3024–3027.
2. Barret, A. J., Davies, M. E., Grubb, A. The place of human γ -trace (cystatin C) amongst the cysteine proteinase inhibitors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1984, 120, 2, p. 631–636.
3. Barrett, A. J., Fritz, H., Grubb, A., Isemura, S., Jarvinen, M., Katunuma, N., Machleidt, W., Muller-Esterl, W., Sasaki, M., Turk, V. Nomenclature and classification of the proteins homologous with the cysteine-proteinase inhibitor chicken cystatin. *Biochem. J.*, 1986, 236, 1, p. 312.
4. 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 Med. Scand.*, 1985, 218, 5, p. 499–503.
5. 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, 2, p. 97–101.
6. Harmoinen, A. P. T., Kouri, T. T., Wirta, O. R., Lehtimäki, T. J., Rantalaiho, V., Turjanmaa V. M. H., Pasternack, A. I. Evaluation of plasma cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes. *Clin. Nephrol.*, 1999, 52, 6, p. 363–370.
7. Štabuc, B., Vrhovec, L., Štabuc-Šilih, M., Cizej, T. E. Improved prediction of decreased creatinine clearance by serum cystatin C: Use in cancer patients before and during chemotherapy. *Clin. Chem.*, 2000, 46, 2, p. 193–197.
8. Bricon, T., Thervet, E., Benlakehal, M., Bousquet, B., Legendre, C., Erlich, D. Changes in plasma cystatin C after renal transplantation and acute rejection in adults. *Clin. Chem.*, 1999, 45 (12), s. 2243–2249.
9. Bricon, T., Thervet, E., Froissart, M., Benlakehal, M., Bousquet, B., Legendre, C. et. al. Plasma cystatin C is superior to 24-h creatinine clearance and plasma creatinine for estimation of glomerular filtration rate 3 months after kidney transplantation. *Clin. Chem.*, 2000, 46, 8 Pt 1, p. 1206–1207.
10. Helin, I., Axenram, M., Grugg, A. Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin. Nephrol.*, 1998, 49, 4, p. 221–225.
11. Randers, E., Krue, S., Erlandsen, E. J., Danielsen, H., Hansen, L. G. Reference interval for serum cystatin C in children. *Clin. Chem.*, 1999, 45, 10, p. 1856–1858.
12. Bökenkamp, A., Domanetzki, M., Zinck, R., Schumann, G., Byrd, D., Brodehl, J. Cystatin C – A new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics*, 1998, 101, 5, p. 875–881.
13. Finney, H., Newman, D. J., Thakkar, H., Fell, J. M. E., Price, C. P. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates and older children. *Arch. Dis. Child.*, 2000, 82, 1, p. 71–75.
14. Grubb, A. O. Cystatin C – Properties and use as diagnostic marker. *Adv. Clin. Chem.*, 2000, 35, p. 63–99.
15. Herget-Rosenthal, S., Feldkamp, T., Volbracht, L., Kribben, A. Measurement of urinary cystatin C by particle-enhanced nephelometric immunoassay: precision, interferences, stability and reference range. *Ann. Clin. Biochem.*, 2004, 41, Pt 2, p. 111–118.

16. **Cockcroft, D. W., Gault, M. H.** Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.*, 1976, 16, 1, p. 31–41.
17. **Racek, J.** *Klinická biochemie*. Praha : Galén 1999, 225 s.
18. **Grubb, A., Björk, J., Lindström, V., Sterner, G., Bondesson, P., Nyman, U.** A cystatin C-based formula without anthropometric variables estimates glomerular filtration rate better than creatinine clearance using the Cockcroft-Gault formula. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2005, 65, 2, p. 153–162.
19. **Newman, D. J., Thakkar, H., Edwards, R. G., Wilkie, M., White, T., Grubb, A., Price, C.** Serum cystatin C measured by automated immunoassay: A more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int.*, 1995, 47, 1, p. 312–318.
20. **Kyhse-Andersen, J., Schmidt, C., Nordin, G., Andersson, B., Nilsson-Ehle, B., Lindstrom, V., Grubb, A.** Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clin. Chem.*, 1994, 40, 10, p. 1921–1926.
21. **Nilsson-Ehle, P., Grubb, A.** New markers for the determination of GFR: inhexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney Int. Suppl.*, 1994, 47, p. 17–19.
22. **Filler, G., Priem, F., Lepage, N., Sinha, P., Vollmer, I., Clark, H., Keely, E., Matzinger, M., Akbari, A., Althaus, H., Jung, K.** Beta-trace protein, cystatin C, beta(2)-microglobulin and creatinine compared for detecting impaired glomerular filtration rates in children. *Clin. Chem.*, 2002, 48, 5, p. 729–736.
23. **Bökenkamp, A., van Wijk, J. A., Lentze, M. J., Stoffel-Wagner, B.** Effect of corticosteroid therapy on serum cystatin C and beta2-microglobulin concentrations. *Clin. Chem.*, 2002, 48, 7, p. 1123–1126.
24. **Lemann, J., Bidani, A. K., Bain, R. P., Lewis, E. J., Rohde, R. D.** Use of serum creatinine to estimate glomerular filtration rate in health and early diabetic nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.*, 1990, 16, 3, p. 236–243.
25. **Walser, M.** Assessing renal function from creatinine measurements in adults with chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.*, 1998, 32, 1, p. 23–31.
26. **Giovannetti, S., Barsotti G.** In defense of creatinine clearance. *Nephron.*, 1991, 59, 1, p. 11–14.
27. **Coresh, J., Toto, R. D., Kirk, K. A., Whelton, P. K., Massry, S., Jones, C.** Creatinine clearance as a measure of GFR in screenees for the African-American study of kidney disease and hypertension pilot study. *Am. J. Kidney Dis.*, 1998, 32, 1, p. 32–42.
28. **Jabor, A., Hornová, L., Bořil, P., Moravcová, H., Fischlová, D.** Rovnice MDRD: pro a proti. *Klin. Biochem. Metab.*, 2005, 13 (34), s. 172–176.
29. **Jabor, A., Friedecký, B., Hornová, L., Břešťan, D., Fischlová, D.** Cystatin C. Část 2: diagnostická senzitivita a specifická variabilita a použití v dalších diagnostických situacích. *Klin. Biochem. Metab.*, 2002, 10, 314, s. 238–242.
30. **Balik, M., Jabor, A., Waldauf, P., Kolar, M., Pavlišová, M., Brestan, D., Hendl, J., Rychlík, I.** Cystatin C as a Marker of Residual Renal Function during Continuous Hemodiafiltration. *Kidney. Blood Press Res.*, 2005, 28, 1, p. 14–19.
31. **Schuck, O., Teplan, V., Jabor, A., Stollova, M., Skibova, J.** Glomerular filtration rate estimation in patients with advanced chronic renal insufficiency based on serum cystatin C levels. *Nephron. Clin. Pract.*, 2003, 93, 4, p. 146–151.

Do redakce došlo 13. 12. 2005.

Adresa pro korespondenci:
 Mgr. Pavlína Solichová
 OLM Nemocnice Šternberk
 Jívavská 20
 785 16 Šternberk
 e-mail: solichova@nemstbk.cz