



Disponibile online all'indirizzo www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/itjm



ARTICOLO ORIGINALE

Studio della cistatina C (Cys C) in relazione al calcolo del filtrato glomerulare e a parametri bioimpedenziometrici in soggetti obesi affetti e non affetti da diabete tipo 2

Study of cystatin C (Cys C) in relation to the calculation of the glomerular filtration rate and bioelectrical impedance analysis parameters in obese patients with and without type 2 diabetes

Mario Liani^{a,*}, Ernesto Trabassi^a, Ettore Tresca^b, Giulia Ciantra^b,
Rossella Liani^c

^a UO Nefrologia e Dialisi, Presidio Ospedaliero Penne, AUSL Pescara

^b Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia, Presidio Ospedaliero Penne, AUSL Pescara

^c Centro Scienze dell'Invecchiamento, Fondazione Università G. d'Annunzio, Chieti

Ricevuto il 3 settembre 2010; accettato il 27 luglio 2011
disponibile online il 16 novembre 2011

KEYWORDS

Cystatin C;
GFR;
Obesity;
MDRD;
Creatinine.

Summary

Introduction: Assessment of renal function based on quantification of the glomerular filtration rate (GFR) is essential for early detection of damage and progression of renal diseases. The purpose of our study was to determine the value of cystatin C (Cys C) assays in the calculation of the GFR and bioelectrical impedance analysis parameters in obese subjects aged 30-70 years with moderately damaged renal function.

Materials and methods: Cys C levels were measured with a new immunoturbidimetric kit (Roche Diagnostics) and an automated Cobas c6000 analyzer. In the GFR calculation, creatinine and Cys C levels were included. The GFR calculated with the equation that included Cys C in obese and normal-weight patients is not affected by changes in the lean body mass.

Results: Obese patients (N = 70) had a mean (\pm SD) serum creatinine level of 1.52 ± 1.0 mg/dL and a mean Cys C level of 1.28 ± 0.59 mg/L. In this group, the GFR calculated on the basis of MDRD, Cys C, and creatinine clearance values showed similar filtered values between MDRD and Cys C and a DS value smaller in the case of Cys C. The correlation (R^2) between GFR and its

* Corrispondenza: Manzoni 9-66020 San Giovanni Teatino (CH).
E-mail: mario.liani@tin.it (M. Liani).

metabolite is higher in the case of Cys C when somatotype parameters (measured with bioelectrical impedance analysis) were introduced into the equation.

Conclusions: When Cys C is included in calculations of GFR, the result shows a higher correlation degree compared to the MDRD system. Given that Cys C shows less intra-individual variability than creatinine, it can be applied in routine diagnostics in a larger number of patients.

© 2011 Elsevier Srl. All rights reserved.

Introduzione

La determinazione della funzione renale rappresenta un indispensabile strumento per l'identificazione precoce del danno e della progressione delle malattie renali.

La misura della velocità di filtrazione glomerulare (GFR) è il test più accurato per valutare la funzione renale ed è fondamentale per la diagnosi e per monitorare la risposta al trattamento terapeutico. Un'accurata valutazione della GFR è basata sulla clearance di sostanze esogene, come inulina, ioexolo, acido dietilen-triamino-pentacetico (TcDTPA) [1]. Tuttavia la complessità dei metodi e, in particolare, la necessità di ricorrere al cateterismo vescicale, così come i costi, non rendono proponibili le varie metodiche nella comune pratica clinica, riservandoli a situazioni particolari [2].

Per semplicità di esecuzione, il dosaggio della creatinina è il metodo più frequentemente utilizzato per la stima della funzionalità renale. Tuttavia la creatinina non può essere considerata un marcatore ideale poiché è scarsamente sensibile soprattutto nell'iniziale riduzione della GFR; essa, infatti, comincia a fornire un segnale quando la funzione renale è ridotta del 40% [3]. Inoltre la creatinina è un parametro con elevato indice di individualità essendo fortemente influenzata da massa muscolare, nutrizione, età, sesso, razza e stato febbrile [4–7]; ciò significa che, essendo la creatinina un metabolita di origine muscolare, per uno stesso valore di creatinina possono sussistere categorie di malati renali con differenti filtrati glomerulari, specie se si confrontano soggetti giovani con anziani o quelli, anche se coetanei, con differente massa muscolare. La cistatina C (Cys C) potrebbe essere un marker di riferimento per la nefropatia diabetica, anche se il limite di riferimento più appropriato per la definizione dei livelli normali di Cys C, nella pratica clinica geriatrica, deve essere ancora individuato con ulteriori ricerche [8].

La clearance della creatinina, che stabilisce una relazione tra plasma e urine, è considerata un imperfetto marker di GFR [9,10]. Il metodo richiede la raccolta delle urine delle 24 ore, che risulta non accurata nella maggior parte dei casi o inattuabile in soggetti incontinenti, nei bambini o in coloro che sono impegnati per lavoro.

Le linee guida internazionali raccomandano, per la valutazione della GFR, l'impiego di formule generalmente basate sul valore della creatinina sierica (Cockcroft-Gault, Modification of Diet in Renal Disease – MDRD ecc.) che valorizzano parametri quali il peso, l'età, il sesso e la razza [11]. Tuttavia l'equazione di Cockcroft-Gault presenta alcuni limiti e, benché escluda la raccolta delle urine delle 24 ore e valorizzi il peso come riferimento di massa muscolare, in alcune situazioni atipiche – come nelle sindromi edematose, nel

sovrappeso e nell'obesità – sovrastima i valori di clearance della creatinina [11].

L'equazione MDRD è stata inizialmente sviluppata con inclusione dell'urea ematica e dell'albuminemia ma essa, così strutturata, risulta complessa. Le formule MDRD successive valorizzano la creatinina plasmatica (espressa in milligrammi per decilitro), l'età, il sesso e la razza. Il vantaggio dell'equazione MDRD è che essa esclude il peso corporeo, mentre un suo limite è di porre come dato di riferimento la superficie corporea. I limiti riconosciuti dell'equazione MDRD emergono negli individui anziani e nelle minoranze etniche [12].

Inoltre, tutte le equazioni che sfruttano la creatinemia devono tener conto dell'estrema variabilità dei metodi di dosaggio della creatinina sierica, che possono differire l'uno dall'altro fino al 14% secondo la tecnica di dosaggio. Un ulteriore e non trascurabile limite delle equazioni per la caratterizzazione del filtrato glomerulare, condiviso dai più e fonte di notevole imprecisione, è rappresentato dalla stima indiretta di parametri somatotipici che compaiono nelle equazioni.

La Cys C è stata proposta come marker di funzionalità renale; è una proteina a basso peso molecolare e risulta più sensibile della creatinina [13–15]. A favore della maggiore affidabilità di questo nuovo metodo, uno studio longitudinale volto a determinare i livelli di Cys C in neonati a termine, nel primo mese di vita, ha dimostrato che la Cys C neonatale non è influenzata dalla Cys C materna e diventa stabile a partire dal terzo giorno di vita [16].

Generalmente tutte le cellule nucleate dell'organismo sono in grado di produrre e rilasciare Cys C [17,18]. Essa viene prodotta a un ritmo costante e rimossa dalla filtrazione glomerulare. La Cys C è influenzata da patologie epatiche, disfunzioni tiroidee, patologie maligne, reumatiche e dall'utilizzo terapeutico di farmaci immunosoppressori (glucocorticoidi, ciclosporina) [19–22]. La Cys C è ritenuta un marker della funzione renale ed è indipendente dal sesso e dalla massa muscolare [23]. È presente in quasi tutti i fluidi biologici [24]. Nel siero, la sua concentrazione varia con l'età; nell'adulto è accettato come range normale una concentrazione di 0,5-1,0 mg/L [25]. Può essere dosata sia nel siero, sia nel plasma da eparina o da EDTA. Il suo catabolismo avviene principalmente a livello renale: la proteina è completamente estratta dalla circolazione mediante la filtrazione glomerulare a causa del suo basso peso molecolare e della carica positiva a pH fisiologico. Il tubulo prossimale ha la capacità di riassorbire completamente la Cys C, pertanto, dopo la filtrazione, la Cys C non ritorna nella circolazione nella sua forma originaria e la sua concentrazione nelle urine è trascurabile [26].

La Cys C, rispetto ai marcatori generalmente utilizzati, come la creatinina sierica da cui la clearance della creatinina, ha una maggiore sensibilità alle variazioni, anche minime, del filtrato glomerulare e permette, quindi, la rilevazione tempestiva dell'insufficienza renale acuta.

Scopo del lavoro

Poiché alcuni autori considerano, attualmente e nell'immediato futuro, l'equazione CKD-EPI come la presumibile equazione di scelta nella misurazione della GFR e poiché la Cys C e le equazioni da essa derivate offrono indubbi vantaggi rispetto alla creatinina plasmatica nella misurazione della GFR – con l'unico limite dei costi che non ne giustificano, secondo taluni, l'uso finché non emergeranno evidenze importanti che suggeriscano che essa possa consentire migliori decisioni cliniche [27] – il nostro studio ha inteso testare un metodo di dosaggio automatico della Cys C, nell'intento di verificarne prima la sensibilità e successivamente di ridurre i costi. Scopo del nostro studio, quindi, è stato determinare la concentrazione di Cys C in un gruppo di soggetti obesi con funzione renale moderatamente danneggiata.

Materiali e metodi

Sono stati valutati 70 campioni ematici di pazienti obesi (45 maschi e 25 femmine), di età compresa fra 30 e 70 anni. Il dosaggio della Cys C è stato eseguito con analizzatore automatico Cobas c6000 utilizzando reagenti, controlli e calibratori Roche Diagnostics (Mannheim, Germania). Inoltre con il medesimo analizzatore sono state dosate la creatinina con metodo enzimatico, l'urea, la creatinuria ed è stata calcolata la clearance della creatinina. La Cys C è stata valutata anche in 80 soggetti sani (età media 43 ± 7 anni). Sono stati valutati inoltre, i parametri bioimpedenziometrici riguardanti la composizione e l'idratazione corporea.

Sono stati esclusi dallo studio gli individui edematosi, in quanto il Body Mass Index (BMI) è influenzato dal peso dell'acqua in eccesso. Nella stima dello stato nutrizionale si è attribuito valore alla massa grassa per valutare il grado di obesità. Inoltre, nei soggetti obesi, nei quali risulta difficile quantificare la massa magra contenuta nella massa grassa, l'esame bioimpedenziometrico ha estrapolato il contenuto effettivo di massa magra.

Per la valutazione della GFR è stata applicata la formula riferita alla Cys C [28]; tale formula intende per volume di

diffusione della Cys C la massa magra e non valorizza del tutto il volume (litri) di acqua corporea totale di ciascun individuo, che non è del tutto rapportabile alla massa magra. Nel nostro studio l'acqua corporea totale è stata ricavata dall'esame bioimpedenziometrico.

Formula originale :

$$\text{GFR(mL/min)} = 2,222 + (-0,802 \times \text{Cyst } C^t) + (0,009876 \times \text{LM})$$

dove LM è la massa magra (nella formula proposta dall'autore) misurata con assorbimetria a doppio raggio fotonico, mentre l'apice "t" corrisponde alla radice quadrata della concentrazione della Cistatina C [28].

Formula modificata :

$$\text{GFR(mL/min)} = 2,222 + (-0,802 \times \text{Cyst } C^t) + (0,009876 \times \text{H}_2\text{O totale})$$

dove la variabile LM è sostituita da:

- volume di acqua corporea totale
 - massa magra
 - massa muscolare
- ottenuti con esame impedenziometrico.

È stata quantificata anche la velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) mediante la MDRD:

$$\text{GFR(mL/min/1,73 m}^2) = 175 \times \{[\text{Creatinina sierica (mg/dL)}]^{-1,154} \times \text{età}^{-0,203}\} \times 0,742 \text{ nelle femmine e } \times 1,21 \text{ negli afroamericani}$$

dove l'età è espressa in anni.

L'affidabilità delle equazioni per il calcolo della GFR è stata ricercata mediante il calcolo dell'indice di correlazione (R^2) tra la GFR e la concentrazione del suo metabolita. I risultati sono riassunti nella *tabella 1*.

Risultati

In questo studio sono stati arruolati 70 pazienti obesi con BMI ≥ 30 kg/m². Il valore della creatinina (media \pm deviazione standard, DS) è risultato pari a $1,52 \pm 1,0$ mg/dL e quello della Cys C pari a $1,28 \pm 0,59$ mg/L. Il valore medio di GFR misurato mediante MDRD è risultato di $70,27 \pm 36,53$ mL/min/1,73 m² con un range compreso tra 12,62 e 146,99 mL/min/1,73 m². La GFR calcolata con la sola Cys C è risultata, invece, di $69,22 \pm 27,7$ mL/min ($R^2 = 0,933$) con un range compreso tra 18,59 e 138 mL/min. La clearance della creatinina nelle urine

Tabella 1 Analisi dei dati.

Metodo	Marker sierico	Variabile somatotipica	Normopeso R^2	Obesi R^2
Clearance della creatinina	Creatinina		0,5793	0,4957
Cockcroft-Gault	Creatinina	Peso, età, sesso	0,7532	0,7409
MDRD	Creatinina	Età, sesso, razza	0,9128	0,9016
Macdonald et al.	Cistatina C	Massa magra	0,9399	0,9138
		Massa muscolare	0,9432	0,9236
		Acqua corporea totale	0,9458	0,9346

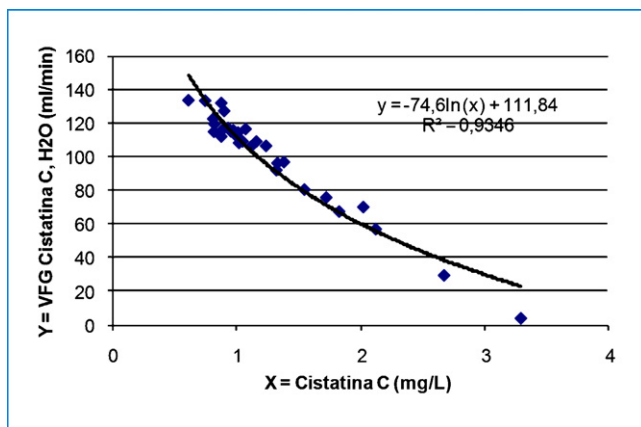


Figura 1 Soggetti obesi. Correlazione tra velocità di filtrazione glomerulare, calcolata mediante formula che include cistatina C e acqua corporea totale, e cistatina C ($R^2 = 0,9346$).

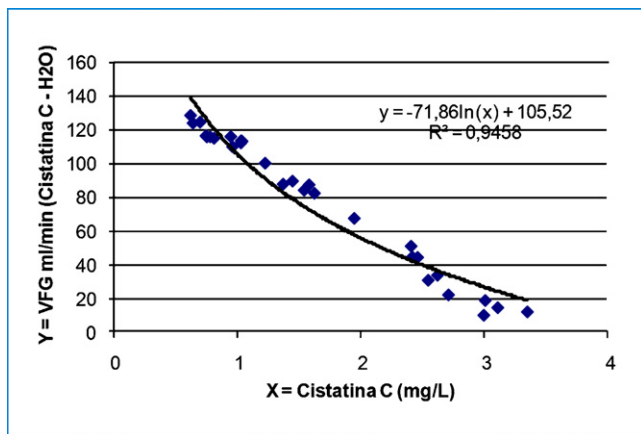


Figura 2 Soggetti normopeso. Correlazione tra velocità di filtrazione glomerulare, calcolata mediante formula che include cistatina C e acqua corporea totale, e cistatina C ($R^2 = 0,9458$).

delle 24 ore è risultata di $103,11 \pm 58,74$ mL/min con un range compreso tra 20 e 232 mL/min.

Dall'analisi dei dati (*tab. 1*) si evince che, nei pazienti obesi inclusi nella coorte, il calcolo della stima della GFR mediante l'applicazione della formula MDRD correla bene solo con il dosaggio della creatinina ($R^2 = 0,90$) e non con gli altri marcatori uremici, quali per esempio la Cys C ($R^2 = 0,51$) (*tab. 1*). Al contrario la GFR calcolata con la Cys C e l'acqua corporea totale risulta avere una buona correlazione con la Cys C (obesi $R^2 = 0,93$; normopeso $R^2 = 0,94$) (*figg. 1, 2*), mentre non correla con la creatinina sierica ($R^2 = 0,54$).

I dati raccolti mostrano una scarsa correlazione tra clearance della creatinina e creatinina, in parte imputabile all'elevata inaccuratezza nella raccolta delle urine delle 24 ore ($R^2 = 0,49$).

Nel contempo è stato inserito nel calcolo della GFR (Cys C) il valore della massa magra ($R^2 = 0,91$) e della massa muscolare ($R^2 = 0,92$) per una più completa valutazione dei parametri bioimpedenziometrici.

Dal confronto della GFR calcolata con la Cys C nei pazienti obesi e normopeso, la Cys C risulta non influenzata dalla variazione della massa magra e muscolare stimata mediante bioimpedenza. I risultati ottenuti dimostrano una migliore correlazione con la valorizzazione del volume idrico corporeo totale.

Conclusioni

I metodi di stima della funzione renale, comunemente basati sull'uso della creatinina, mostrano molteplici e importanti difetti, uno dei quali, tipico, è costituito dall'assoluta mancanza di accuratezza per tutti i gradi di valori di GFR e dalla sottostima dei valori di $GFR > 60$ mL/min/1,73 m². In contrasto con ciò, recenti studi hanno suggerito che la stima della GFR basata sulla concentrazione della Cys C sierica potrebbe rappresentare un metodo semplice e accurato per evidenziare e monitorare un iniziale declino della funzione renale [29].

La stima della GFR calcolata con la formula MDRD include il dosaggio della creatinina; l'apporto dietetico, la differenza di sesso e la massa muscolare sono variabili che interferiscono con il valore diagnostico dell'esame. In individui con caratteristiche somatotipiche e abitudini alimentari identiche l'utilizzo di alcuni farmaci, largamente diffusi nella popolazione e assunti proprio per la nefroprotezione, possono modificare il livello della creatinina sierica [30]. I metodi di valutazione indiretta di caratteristiche somatotipiche, previste dalle equazioni, introducono un ulteriore fonte di errore. La validazione dei metodi indiretti si basa, ovviamente, su metodi di misura diretti, ma questi ultimi sono generalmente costosi o pericolosi e, quindi, inutilizzabili nella pratica clinica corrente. Secondo alcuni autori, nel caso di pazienti in Terapia Intensiva la GFR, calcolata utilizzando la Cys C, fornisce valori marcatamente più bassi di quelli che si ottengono impiegando la creatinina plasmatica e la MDRD-GFR. Molti farmaci sono eliminati dal rene e il loro dosaggio è aggiustato in relazione alla funzione renale. Di conseguenza, le differenze nella stima della GFR tra i due metodi usati potrebbero influenzare in maniera determinante il trattamento dei pazienti in Terapia Intensiva [31]. Secondo altri autori, le condizioni cliniche dei pazienti in Terapia Intensiva influenzano il livello di Cys C e quindi ne renderebbero inaffidabile l'uso nella valutazione della GFR [32]. A nostro parere, nei pazienti in Terapia Intensiva sono necessarie ulteriori indagini. Nel caso di individui di aspetto obeso e con insufficienza renale cronica è difficile distinguere quanto il sovrappeso possa attribuirsi alla massa grassa o alla ritenzione idrica. Nel nostro studio, l'esame impedenziometrico ha facilitato il compito: è un esame di valutazione diretta, non invasivo, di uso facile, ripetibile e innocuo. Nel nostro caso, su queste basi, la GFR calcolata con la Cys C non ha mostrato differenze apprezzabili di sensibilità fra pazienti obesi e normopeso affetti o non affetti da insufficienza renale.

L'inadeguata correlazione tra clearance della creatinina e creatinina sierica avvalora ulteriormente l'utilizzo della Cys C come buon marker di funzionalità renale soprattutto nella fase iniziale della diminuzione della GFR.

La Cys C può essere utilizzata come test alternativo alla creatinina per valutare e monitorare disfunzioni renali specie

nei casi in cui il dosaggio della creatinina risulti problematico (obesi, diabetici ecc.).

L'analisi dei dati bioimpedenziometrici ci ha permesso di dimostrare che la GFR calcolata con la Cys C nel caso della valorizzazione dell'acqua corporea totale ($R^2 = 0,93$), della massa magra ($R^2 = 0,91$) e della massa muscolare ($R^2 = 0,92$) presenta un maggior grado di correlazione rispetto al sistema MDRD ($R^2 = 0,90$).

Lo studio da noi condotto ha confermato che il dosaggio della Cys C, mediante l'analisi automatica (Cobas c6000), risulta un metodo valido e che tale parametro è di rapida determinazione e di grande aiuto al clinico quando si cercano segni precoci di disfunzione renale. Tale semplice test immunoturbidimetrico può essere pertanto incluso, in virtù della praticità, nella routine diagnostica. Inoltre, avendo la Cys C una minore variabilità intraindividuale rispetto alla creatinina, può essere applicata per una diagnosi tempestiva sia nel singolo caso sia in un più ampio numero di pazienti e può essere utilmente integrato con l'esame impedenziometrico per la valutazione della composizione e dell'idratazione dell'organismo.

Conflitto di interessi

Gli autori dichiarano di essere esenti da conflitto di interessi.

Bibliografia

- [1] Perrone RD, Steinman TI, Beck GJ, Skibinski CI, Royal HD, Lawlor M, et al. Utility of radioisotopic filtration markers in chronic renal insufficiency: simultaneous comparison of 125I-iothalamate, 169Yb-DTPA, 99mTc-DTPA, and inulin. The Modification of Diet in Renal Disease Study. *Am J Kidney Dis* 1990;16(3):224–35.
- [2] Prigent A. Monitoring renal function and limitations of renal function tests. *Semin Nucl Med* 2008;38(1):32–46.
- [3] Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem* 1992;38(10):1933–53.
- [4] Mohler JL, Barton SD, Blouin RA, Cowen DL, Flanigan RC. The evaluation of creatinine clearance in spinal cord injury patients. *J Urol* 1986;136(2):366–9.
- [5] Hsu J, Johansen KL, Hsu CY, Kaysen GA, Chertow GM. Higher serum creatinine concentrations in black patients with chronic kidney disease: beyond nutritional status and body composition. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3(4):992–7.
- [6] Ward MM. Laboratory abnormalities at the onset of treatment of end-stage renal disease: are there racial or socioeconomic disparities in care? *Arch Intern Med* 2007;167(10):1083–91.
- [7] Ceriotti F, Boyd JC, Klein G, Henny J, Queraltó J, Kairisto V, et al., IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL). Reference intervals for serum creatinine concentrations: assessment of available data for global application. *Clin Chem* 2008;54(3):559–66.
- [8] Dabla PK. Renal function in diabetic nephropathy. *World J Diabetes* 2010;1(2):48–56.
- [9] Grassi G, Abdelkawy H, Barsotti M, Paleologo G, Tregnaghi C, Rizzo G, et al. Living kidney transplantation: evaluation of renal function and morphology of potential donors. *Transplant Proc* 2009;41(4):1121–4.
- [10] Friedman R, De Azevedo MJ, Gross JL. Is endogenous creatinine clearance still a reliable index of glomerular filtration rate in diabetic patients? *Braz J Med Biol Res* 1988;21(5):941–4.
- [11] Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16(1):31–41.
- [12] Levey AS, Greene T, Kusek J, Bech G. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:155A.
- [13] Madero M, Sarnak MJ, Stevens LA. Serum cystatin C as a marker of glomerular filtration rate. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006;15(6):610–6.
- [14] Bandaranayake N, Ankras-Tetteh T, Wijeratne S, Swaminathan R. Intra-individual variation in creatinine and cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 2007;45(9):1237–9.
- [15] Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2002;40(2):221–6.
- [16] Novo AC, Sadeck Ldos S, Okay TS, Leone CR. Longitudinal study of Cystatin C in healthy term newborns. *Clinics (Sao Paulo)* 2011;66(2):217–20.
- [17] Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsbäck M, Lundwall A, Jansson O, et al. Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 1990;268(2):287–94.
- [18] Lignelid H, Collins VP, Jacobsson B. Cystatin C and transthyretin expression in normal and neoplastic tissues of the human brain and pituitary. *Acta Neuropathol* 1997;93(5):494–500.
- [19] Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 2003;63(5):1944–7.
- [20] Chu SC, Wang CP, Chang YH, Hsieh YS, Yang SF, Su JM, et al. Increased cystatin C serum concentrations in patients with hepatic diseases of various severities. *Clin Chim Acta* 2004;341(1–2):133–8.
- [21] den Hollander JG, Wulkan RW, Mantel MJ, Berghout A. Is cystatin C a marker of glomerular filtration rate in thyroid dysfunction? *Clin Chem* 2003;49(9):1558–9.
- [22] Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber AR. Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients. *Clin Chem* 2001;47(11):2055–9.
- [23] Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Li L, Beck GJ, Joffe MM, et al. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int* 2009;75(6):652–60.
- [24] Mussap M, Plebani M. Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2004;41(5–6):467–550.
- [25] Finney H, Newman DJ, Price CP. Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance. *Ann Clin Biochem* 2000;37(Pt 1):49–59.
- [26] Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol* 1992;38(Suppl 1):S20–7.
- [27] Florkowski CM, Chew-Harris JS. Methods of estimating GFR—Different equations including CKD-EPI. *Clin Biochem Rev* 2011;32(2):75–9.
- [28] Macdonald J, Marcora S, Jibani M, Roberts G, Kumwenda M, Glover R, et al. GFR estimation using cystatin C is not independent of body composition. *Am J Kidney Dis* 2006;48(5):712–9.
- [29] Macisaac RJ, Premaratne E, Jerums G. Estimating glomerular filtration rate in diabetes using serum cystatin C. *Clin Biochem Rev* 2011;32(2):61–7.
- [30] Arici M, Erdem Y. Dual blockade of the renin-angiotensin system for cardiorenal protection: an update. *Am J Kidney Dis* 2009;53(2):332–45.
- [31] Lipcsey M, Furebring M, Rubertsson S, Larsson A. Significant differences when using creatinine, modification of diet in renal disease, or cystatin C for estimating glomerular filtration rate in ICU patients. *Ups J Med Sci* 2011;116(1):39–46.
- [32] Chao CT. Creatinine and cystatin C: shooting at a flying target. *Ups J Med Sci* 2011;116(3):221–2.