

## Cystatine C : point d'étape et perspectives

### Cystatin C: current step and future prospects

S. Séronie-Vivien<sup>1</sup>, P. Delanaye<sup>2</sup>, L. Pieroni<sup>3</sup>, C. Mariat<sup>4</sup>, M. Froissart<sup>5</sup>, J.-P. Cristol<sup>6</sup>, pour le groupe de travail « *Biologie des fonctions rénales et de l'insuffisance rénale* » de la SFBC

<sup>1</sup> Département de biologie clinique, Institut Claudius-Regaud, Université Paul-Sabatier, Toulouse

<sup>2</sup> Université de Liège, Service de néphrologie-dialyse, CHU Sart-Tilman, Liège, Belgique

<sup>3</sup> Service de biochimie métabolique, Groupe hospitalier La Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris

<sup>4</sup> Service de néphrologie, dialyse et transplantation rénale, CHU de Saint-Étienne

<sup>5</sup> Service de physiologie, Hôpital européen Georges-Pompidou, AP-HP et faculté de médecine, Université Paris-Descartes, Paris

<sup>6</sup> Laboratoire de biochimie, Centre hospitalo-universitaire, Montpellier

**Résumé.** La cystatine C est une protéine de bas poids moléculaire présentée comme un marqueur alternatif de la créatinine pour l'évaluation de la fonction rénale, en particulier dans les populations où la relation de la créatinine à la masse musculaire rend ce paramètre particulièrement inopérant. Cet article tente de synthétiser les connaissances actuelles sur la physiologie de la cystatine C et son utilisation comme marqueur de filtration glomérulaire, seule ou au sein de formules d'évaluation du débit de filtration glomérulaire. De plus, il présente les données récentes pouvant augurer d'autres types d'applications, en particulier en cardiologie, en cancérologie et en pharmacologie clinique.

**Mots clés :** cystatine C ; débit de filtration glomérulaire ; insuffisance rénale chronique ; risque cardiovasculaire ; cancer

**Abstract.** Cystatin C is a low molecular weight-protein, which may replace creatinine for the evaluation of renal function, particularly in the clinical settings where the relationship between creatinine production and muscular mass impairs the clinical performance of creatinine. This paper intends to summarize the current knowledge about the physiology of cystatin C and about its use as a renal marker, alone or within formulas developed to estimate the glomerular filtration rate. Moreover, this paper reviews the recent data about potential other applications of cystatin C, especially in cardiology, in oncology and in clinical pharmacology.

**Keywords:** creatinine ; glomerular filtration rate ; chronic renal failure ; cardiovascular risk ; cancer

### HISTORIQUE

En 1961, trois auteurs différents décrivent indépendamment une nouvelle protéine par immunoélectrophorèse. Clausen et MacPherson observent cette protéine dans le liquide céphalorachidien (LCR) de patients sains mais ne la retrouvent pas dans le sang [1, 2]. Butler lui, retrouve cette protéine au niveau des urines de 79 % de 31 patients présentant une maladie tabulaire [3]. Il émet alors l'hypothèse que l'origine de cette protéine est bien plasmatique mais qu'elle n'est simplement pas dosable par manque de sensibilité de la technique. En électrophorèse, cette protéine alcaline et de bas poids moléculaire apparaît après la bande des gammaglobulines, d'où les premiers noms qui lui sont attribués comme « protéine post- $\gamma$  » ou «  $\gamma$  trace ». Différents auteurs confirmeront un peu plus tard la présence de cette protéine au niveau sérique mais aussi dans d'autres liquides (colostrum, salive, liquide séminal et ascite) [4-6]. En 1979, Lofberg et Grubb de l'université de Lund (Malmö, Suède) décrivent le dosage de cette protéine  $\gamma$  trace par immunodiffusion radiale avec un seuil de détection de 300  $\mu\text{g/L}$ . Ils confirment sa présence dans le sang, la salive et le LCR mais en quantité différente : ainsi, la concentration dans le LCR est 5 fois plus élevée que dans le plasma, ce qui explique sa découverte initiale dans le LCR [7]. Chez trois dialysés, les mêmes auteurs constatent des concentrations sériques bien plus élevées que chez des sujets sains ce qui, associé à l'élévation des concentrations urinaires lors des tubulopathies leur fait suggérer, alors que la physiologie de cette protéine est complètement ignorée, qu'elle est soumise à filtration glomérulaire et catabolisée au niveau tubulaire. Ce n'est qu'après la description de sa séquence en acides aminés et de son poids moléculaire en 1982 (13260 Da) [8], que Brzin remarque la similitude entre cette protéine et une protéine inhibiteur des cystéines protéinases faisant partie de la famille des cystatines [9]. Ceci a été, ensuite, confirmé par Barret et Grubb qui renomment la protéine  $\gamma$  trace en « cystatine C » [10].

La cystatine C (CysC) fait partie d'une famille de protéines inhibitrices des cystéines protéinases et décrites pour la première fois au niveau du blanc d'œuf de poulet en 1968 [11]. Les cystéine protéinases (comme les

cathepsines B, H et L et les calpaïnes) exercent un rôle important dans le catabolisme intracellulaire des peptides et protéines, au niveau du processus de protéolyse de prohormones et pro-enzymes, au niveau de la destruction du collagène, dans l'effraction des membranes basales par les cellules cancéreuses. Notons aussi que ces protéinases peuvent être produites par des micro-organismes [12]. L'histoire clinique de la CysC continue en 1984, lorsque Grubb suggère que son dosage dans le LCR peut contribuer au diagnostic d'une hémorragie cérébrale héréditaire avec amyloïdose, les taux dans le LCR étant dans cette pathologie anormalement bas [13]. Mais c'est surtout en tant que marqueur biologique du débit de filtration glomérulaire (DFG) que la CysC va, dès 1985 et deux autres articles de Grubb [14, 15], susciter un vif intérêt. Quoique ces deux articles préliminaires aient été méthodologiquement imparfaits, que les bases physiologiques étayant l'utilisation de la CysC comme marqueur du DFG soient alors faibles et que les auteurs n'aient pas montré de supériorité de la CysC par rapport à la créatinine, l'intérêt pour ce nouveau marqueur était désormais lancé. Vingt ans après, cet article se propose de faire l'état des connaissances sur la cystatine C, avec un propos centré sur quatre points :

- les aspects analytiques ;
- les bases physiologiques de son utilisation comme marqueur de filtration glomérulaire ;
- les applications néphrologiques ;
- les perspectives d'application au-delà de l'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) : pathologies cardio-vasculaires, cancer, pharmacologie clinique.

## ASPECTS ANALYTIQUES

Après la première détermination en immuno-diffusion radiale et de nombreux immuno-dosages avec traceur (RFA, EFA), ce n'est qu'en 1994 qu'ont été mises au point des méthodes rapides et entièrement automatisées, toutes basées sur l'agglutination en milieu liquide de particules de latex recouvertes d'anticorps polyclonaux dirigés contre la CysC. En fonction de la nature du signal mesuré, on distingue la PETIA (*particle-enhanced turbidimetric immuno-assay* : mesure de la lumière transmise) et la PENIA (*particle-enhanced nephelometric immuno-assay* : mesure de la lumière diffusée). La différence technique essentielle entre les deux méthodes réside dans le fait que la PETIA peut être effectuée sur un automate multiparamétrique de biochimie (longueur d'onde de 340 à 650 nm environ en fonction des applications) alors que la PENIA, nécessitant une longueur d'onde infrarouge, ne peut être effectuée que sur un automate dédié à l'immunonéphélométrie. Actuellement, seules les méthodes PENIA et PETIA sont utilisées dans les études cliniques. C'est donc sur celles-ci que nous nous focaliserons.

### Applications PENIA et PETIA disponibles en 2008

Les sources d'anticorps sont peu nombreuses et, si la méthode PENIA de Siemens (ex-Dade-Behring) utilise un anticorps polyclonal qui lui est propre, la grande majorité des autres méthodes utilisent les mêmes réactifs, commercialisés par DakoCytomation, et constitués de particules de latex revêtues d'anticorps polyclonaux de lapin. Les réactifs DakoCytomation sont utilisables en PETIA et en PENIA. Récemment, ont été mis au point et évalués en PETFA des anticorps aviaires commercialisés par Gentian AS [16].

*NB : Il faut bien souligner que si pendant longtemps, la firme Siemens a été la seule à proposer du PENIA, cet acronyme ne doit pas lui être exclusivement associé puisque le kit Siemens peut être utilisé en PETIA [17] et que les réactifs DakoCytomation sont vendus pour pouvoir être utilisées en PETIA et en PENIA.*

La CysC humaine recombinante est disponible, mais il n'existe actuellement pas de matériel de référence pouvant faire office d'étalon primaire. Deux types de matériel de calibration sont utilisés : i) les applications DakoCytomation et Gentian AS utilisent du sérum humain dépourvu de CysC puis enrichi en CysC recombinante ii) l'application Siemens utilise de la CysC urinaire purifiée. Les applications immuno-néphélométriques ne sont disponibles que sur les immuno-néphélomètres de la gamme BN<sup>®</sup> de Siemens et de la gamme IMAGE de Beckman-Coulter. Depuis l'évaluation initiale effectué sur un Cobas Fara<sup>®</sup>, la trousse de DakoCytomation est actuellement utilisée ou en cours d'évaluation en PETIA sur de nombreux automates de biochimie, les procédures d'installation étant disponibles sur le site Internet de DakoCytomation.

### Performances et comparaison des méthodes

Depuis sa description initiale [18], l'application PENIA de Siemens a été la plus largement évaluée et fait actuellement figure de méthode de référence. En effet, les méthodes PETIA utilisant les anticorps DakoCytomation sont développées sur de nombreux automates différents, et n'ont pas fait l'objet d'une évaluation intertechniques. Les seules données de la littérature sont celles d'une évaluation externe de la qualité suédoise rapportée par Flodin *et al.* qui, sans cependant fournir beaucoup de détails, rapporte une gamme de résultats sur un échantillon de contrôle allant de 0,66 à 1,09 mg/L pour 17 laboratoires utilisant le kit DakoCytomation [19]. La méthode Gentian AS, quant à elle, est d'introduction trop récente pour disposer d'un

recul suffisant [16].

Les principaux résultats obtenus pour les évaluations initiales des trois systèmes d'anticorps sont présentés dans le *tableau 1*. Une revue des évaluations publiées en 2002 concluait à une légère supériorité de la méthode PENIA de Siemens *versus* la méthode DakoCytomation en ce qui concerne la limite de détection, la sensibilité aux interférences, la précision intra et inter-essai [20]. La méthode Gentian AS présente, sur l'unique évaluation publiée d'excellentes performances. Il est à noter que comparée à la méthode PENIA de Siemens, elle permet d'obtenir des résultats très proches pour environ 80 sérums humains entre 0,5 et 6 mg/L, que ce soit sur le Modular P (Roche Diagnostics) ou sur l'Architect ci8200 (Abbott), les deux méthodes étant calibrées avec les calibrants fournis par les fabricants [16].

**Tableau 1.** Principales caractéristiques analytiques des trois méthodes lors de leur description initiale.

	<b>Siemens (Dade-Behring)</b>	<b>DakoCytomation</b>	<b>Gentian AS</b>
Référence	Finney 1997 [18]	Kyshe-Andersen, 1994 [35]	Sunde, 2007 [16]
Principe	PENIA	PETIA	PETIA
Automate	BNA 100	Cobas Fara	Architect ci8200 (A) Modular P (MP)
Anticorps	Polyclonaux, lapin	Polyclonaux, lapin	Polyclonaux, poulet
Calibrant	CysC humaine urinaire purifiée	CysC humaine recombinante (E. Coli)	CysC humaine recombinante (E. Coli)
Temps d'analyse	6 min	7 min	≈ 10 min sur les deux instruments
Limite de détection	0,23 mg/L	0,15 mg/L	A : 0,33 mg/L MP : 0,28 mg/L
CV intra-essai	Entre 2 et 3,2 %	<2%	A : non effectué MP: entre 1,7 et 2,2%
CV inter-essai	Entre 3,2 et 4,4 %	< 2,2 %	A : non effectué MP: entre 0,3 et 3,5%
Interférences			
Bilirubine	Aucune jusqu'à 488 μmol/L	Aucune jusqu'à 150 μmol/L Surestimation < 10 % entre 150 et 300 μmol/L	A : aucune jusqu'à 420 mg/L MP : aucune jusqu'à 800 mg/L
Hémoglobine	Aucune jusqu'à 8 g/L	Aucune jusqu'à 1,2 g/L	A : aucune jusqu'à 8 g/L MP : aucune jusqu'à 7 g/L Présente sur les deux instruments à 10 g/L
Triglycérides	Aucune jusqu'à 23 g/L	Aucune jusqu'à 9,4 g/L	A : aucune jusqu'à 11 g/L MP : aucune jusqu'à 16 g/L
Facteur rhumatoïde	Aucune jusqu'à 2000 kUI/L	Aucune jusqu'à 323 kUI/L	Aucune (pas de réactions croisées avec Ig de mammifères)
Equation Passing-Bablok versus PENIA Siemens (r)	Sans objet	PENIA non disponible en 1994	A : Gentian = 0,9693 x Siemens - 0,0527  MP : Gentian = 1,0141 x Siemens - 0,0157
Pourcentage de recouvrement	95 ± 2,2 % (1 ET) pour 0,52 mg/L  109 ± 0,03 % (1 ET) pour 0,93 mg/L	≈ 100% pour des concentrations entre 1,5 et 6,5 mg/L	≈ 100% pour des concentrations entre 1,5 et 6,5 mg/L

Les méthodes PETIA DakoCytomation et PENIA Siemens (ex-Dade-Behring) ont été directement comparées dans deux études donnant des résultats discordants. Dans la plus ancienne, portant sur 120 échantillons allant de 0,5 à 9 mg/L en PENIA [18], les deux méthodes se voient parfaitement corrélées ( $r = 0,97$ ). Mais lorsque chacune est calibrée avec les calibrant fournis par le fabricant, la méthode PETIA (mise en œuvre sur un automate centrifuge Monarch 2000) donne des valeurs bien plus élevées ( $PENIA = 0,76 \times PETIA + 0,15$ ). En revanche, la calibration étant commune, la pente de la droite de Passing-Bablok n'est plus significativement différente de 1. Le travail récent de Flodin portant sur des échantillons allant de 0,5 à 8 mg/L en PENIA rapporte des résultats fort différents [19]. Pour les échantillons sériques (mais pas pour les échantillons de contrôles), la linéarité entre les deux méthodes est perdue au-dessus de 2 mg/L : au-delà de ce seuil, la méthode

DakoCytomation, mise en œuvre sur un Architect ci8200, donne des résultats beaucoup plus bas. En outre, contrairement à ce qui est observé pour les liquides de contrôle et de calibration fournis par DakoCytomation, il existe après dilution un manque de linéarité pour les échantillons sériques aux concentrations > 7 mg/L, évoquant un effet de zone. Ceci semble indiquer une différence de réactivité des anticorps vis-à-vis des liquides de contrôles/calibration et des échantillons sériques. Dans la même étude, ce phénomène n'existe ni pour la méthode PENIA de Siemens, ni pour la méthode PETIA de Gentian AS mise en œuvre sur l'Architect ci8200.

Une dernière étude a comparé le kit N-latex CysC de Siemens (y compris les calibrants) utilisé soit en PENIA sur un BN ProSpec (Siemens), soit en PETIA sur un Architect ci8200. Sur 202 échantillons, les deux méthodes ont montré une excellente corrélation et un biais très faible (PETIA = 1,0072x + 0,0042 ;  $r^2 = 0,987$ ) [17]. Les résultats dont nous disposons actuellement pour comparer les différentes applications permettant de mesurer la CysC sérique ne permettent pas de se faire une idée précise de la transférabilité des résultats. Cependant, les quelques études dont nous disposons et en particulier celle de Flodin pour la CysC [17] et celle de Thuillier pour d'autres protéines spécifiques [21] tendent à prouver que, plus que le type de détection (néphélométrie ou turbidimétrie), c'est la nature des anticorps qui prend la plus grande part dans la variabilité intertechnique. Cette situation plaide donc en faveur d'une large comparaison intertechnique, d'autant plus nécessaire que ce paramètre semble gagner du terrain en clinique.

### **Stabilité de la CysC**

La stabilité de la CysC dans le sérum a été étudiée dans 3 études principales. Elles ont suggéré que la CysC était stable à température ambiante pendant 7 jours, à -20°C pendant 1 à 2 mois, à -80°C pendant au moins 6 mois [18, 22, 23]. Notre expérience personnelle permet de rallonger ce délai de stabilité à -80°C à plusieurs années ; de plus, il a aussi été démontré que les cycles de congélation/ décongélation étaient sans effet sur la CysC.

## **BASES PHYSIOLOGIQUES DE L'UTILISATION DE LA CYSTATINE C COMME MARQUEUR DU DFG**

Le marqueur endogène idéal pour l'estimation du DFG, doit présenter plusieurs caractéristiques dont nous allons vérifier si elles sont applicables à la CysC :

- production constante et concentration plasmatique constante en l'absence de variation du DFG ;
- variabilité intra-individuelle faible ;
- pas de liaison aux protéines plasmatiques pour permettre une filtration complète au niveau glomérulaire ;
- absence de sécrétion, de réabsorption ou de métabolisme tubulaire ;
- absence de clairance extrarénale.

### **La production de la CysC est-elle constante ?**

La CysC est produite par toutes les cellules nucléées de l'organisme chez l'homme. Les études réalisées sur des coupes de tissu humain ou sur des lignées cellulaires ont montré que la protéine, visualisée par marquage immunohistochimique, ou l'ARN messager, détecté par Northern blot, sont présents dans tous les types cellulaires étudiés [24-26]. La CysC est codée par un gène de ménage, c'est-à-dire un gène exprimé de façon constitutive et non régulée, ce qui est l'argument classique étayant la constance de sa production [24, 27].

Cette production constante de CysC a longtemps été considérée comme un dogme car confirmée par des travaux réalisés sur des cohortes importantes qui n'avaient pu relier la production de la protéine à une situation physiopathologique autre que l'atteinte de la filtration glomérulaire [28]. De nombreuses observations, *in vitro* et cliniques, remettent aujourd'hui en cause cette certitude.

### *Déterminants physiologiques de la production de CysC*

Parmi les facteurs extra-rénaux pouvant influencer les valeurs de CysC chez des sujets sains, les travaux les plus récents ont montré que chez les adultes de moins de 60 ans, les concentrations de CysC sont plus faibles chez les femmes que chez les hommes, cette différence disparaissant au-delà de 60 ans [29-31]. Ces résultats contredisent les travaux plus anciens qui ne préconisaient pas l'établissement de valeurs de référence selon le sexe [23, 32-37], à l'exception des résultats de Pergande [38]. L'âge est également un facteur de variabilité de la CysC. Ainsi, des valeurs plus élevées sont retrouvées chez les nouveau-nés quel que soit le sexe, le poids ou la taille des enfants [39-41], y compris les prématurés [34]. Elles déclinent après la naissance pour rejoindre des valeurs identiques à celles de l'adulte à l'âge de 4 ans [29]. Il convient cependant d'être prudent en particulier pour les très jeunes enfants et les prématurés chez qui les valeurs élevées de CysC pourraient refléter un DFG bas dans le cadre d'un processus de maturation rénale [34, 42]. Chez l'adulte, la plupart des études montrent une influence significative de l'âge sur les concentrations de CysC, impliquant des valeurs de référence différentes pour les sujets de plus de 50-60 ans [29, 32, 33, 37]. Il semble important de noter que, pour les adultes comme pour les enfants, les valeurs de référence sont systématiquement plus basses lorsqu'elles ont été déterminées avec la

technique PENIA de Dade-Behring Siemens (*versus* les différentes applications PETIA du kit DakoCytomation) (*tableau 2*).

**Tableau 2.** Valeurs de références enfants et adultes (\*réactif Siemens ; \*\*réactif Dokocytomation ; \*\*\* réactif Gentian AS).

Références	Méthode	Echantillon (n)	Âge (ans)	Valeurs de référence (mg/L)
Filler [254]	PETIA**	216	0,8 à 18	0,18 - 1,38
Bokenkamp [39]	PETIA**	200	1 à 18	0,7 - 1,38
Randers [41]	PENIA*	96	1 à 14,1	0,51 - 0,95
Finney [34]	PENIA*	30	Prématurés	0,43 - 2,77
		79	1 jour à 1 an	0,59 - 1,97
		182	1 à 17	0,5 - 1,27
Harmoinen [255]	PENIA*	58	Prématurés	1,34 - 2,57
		50	Nouveau-nés	1,34 - 2,23
		65	8 jours à 1	0,75 - 1,87
		72	1 à 3	0,68 - 1,60
		162	3 à 16	0,51 - 1,31
Galteau [29]	PENIA*	246	4 à 19	0,58 - 0,92
Fischbach [256]	PENIA*	51	1 mois à 18 mois	0,7 - 1,18
		47	18 mois à 18	0,44 - 0,94
Bahar [42]	PENIA*	98	3 jours	0,72 - 1,98
Norlund [37]	PETIA**	249 (124 hommes, 125 femmes)	H<50	0,79 - 1,05
			H>50	0,88 - 1,34
			F<50	0,75 - 0,99
			F>50	0,85 - 1,35
Sunde [16]	PETIA***	138	Non précisé	0,57 - 1,09
Galteau [29]	PENIA*	1223 (530 hommes, 693 femmes)	H<60	0,64 - 0,84
			F<60	0,565 - 0,735
			> 60 sexe	0,727 - 0,933

#### Variabilité intra-individuelle

En 1998, Keevil *et al.* ont décrit une variabilité intra-individuelle de la cystatinémie très importante, laissant augurer qu'elle ne pourrait être utilisée pour l'évaluation longitudinale de la filtration glomérulaire [43]. Cette première étude a été infirmée récemment dans des travaux qui ont fait état d'une variabilité intra-individuelle de CysC équivalente à celle de la créatinine [44, 45].

#### Influence de la masse musculaire

Le défaut principal de la créatinine est bien la dépendance de sa production à la masse musculaire [46]. Ainsi, pour un DFG identique, une patiente anorexique et une championne de culturisme auront des concentrations de créatinine sérique bien différentes. Dans un premier temps, Vinge *et al.* ont décrit la cystatinémie comme indépendante de la masse musculaire [47]. Néanmoins, cette étude a été récemment critiquée, tant pour la méthodologie clinique que statistique. MacDonald a récemment et de façon plus convaincante (DFG déterminé par mesure de la clairance de l'inuline et masse maigre mesurée par densitométrie) démontré que la cystatinémie était bien, en partie, dépendante de la masse musculaire [48]. Il confirmait ainsi l'hypothèse émise par Knight qui avait trouvé, dans sa cohorte avec mesure de la clairance de la créatinine, une dépendance de la cystatinémie vis-à-vis de la taille et du poids [31]. L'influence de la masse musculaire sur la production de CysC s'explique par le fait que les cellules musculaires sont les plus nombreuses des cellules nucléées de l'organisme [48]. Cependant, il n'en reste pas moins que la variabilité de la CysC expliquée par la masse musculaire est bien moindre que pour la créatinine. L'avantage de la CysC sur la créatinine chez le patient avec une masse musculaire diminuée reste donc important [49-52]. En particulier, il a été montré chez l'enfant que la dénutrition n'affecte pas les formules basées sur les concentrations de CysC, contrairement à la formule de Schwartz basée sur la créatininémie [50].

#### Influences hormonales

*In vitro*, la production de CysC par des cellules Hela en culture a été décrite dès 1995 comme transcriptionnellement stimulée par les corticoïdes [53]. En réponse à ces études *in vitro*, les observations cliniques ne sont pas concordantes. Chez des enfants atteints de syndrome néphrotique traités par des doses élevées de corticoïdes, aucune augmentation des concentrations sériques de CysC n'a été retrouvée [54]. En revanche, chez des patients transplantés rénaux et asthmatiques, une augmentation des concentrations de CysC

dépendante des doses de corticoïdes a été décrite [55, 56]. Si l'existence d'un « effet corticoïde » est aujourd'hui admise, son impact clinique sur l'évaluation du DFG reste incertain et ne pourra être complètement et indubitablement démontrée que par des études interventionnelles (avant et après mise sous corticoïdes) avec mesure concomitante du DFG. L'hyperthyroïdie augmente les concentrations sériques de CysC [57-61]. Sachant que la production de CysC et le DFG varient en sens opposés en réponse aux hormones thyroïdiennes, l'utilisation de la CysC semble inadaptée dans les dysthyroïdies ; de plus, ceci suggère que l'évaluation de la fonction thyroïdienne devrait être réalisée dans toute étude ayant pour objet la validation d'outils diagnostiques intégrant la cystatinémie.

#### *Influence de l'inflammation*

Si l'on a cru que la production de CysC était indépendante de l'inflammation [62], il semble acquis désormais que l'IL6 induit une diminution de l'expression de CysC, au moins dans les cellules dendritiques [63]. Knight a également démontré sur une large cohorte (n = 8 058) que la CRP est un déterminant indépendant de la concentration de CysC en analyse multivariée. Dans cette étude les valeurs de CRP reflètent cependant plus la microinflammation (et le risque cardiovasculaire associé) qu'une inflammation aiguë telle que celle rencontrée en cas d'infection ou de maladie inflammatoire. Notons aussi que le DFG dans l'étude de Knight était mesuré par la clairance de la créatinine, ce qui est critiquable [31]. De toute façon, si l'influence de l'inflammation sur la concentration plasmatique de CysC reste quelque peu débattue, elle semble bien moindre que pour d'autres protéines de poids moléculaire moyen en cas d'inflammation sévère (comme la  $\beta$ 2 microglobuline, par exemple).

#### *Influence d'un processus néoplasique*

L'influence de la présence d'une tumeur sur la production de CysC a été évoquée mais reste cependant largement débattue comme discuté plus loin dans cet article. En effet, aucune des études disponibles n'a bénéficié d'une mesure du DFG par une méthode de référence.

#### *Autres*

L'influence du tabagisme [29-31] et de la consommation d'alcool [30], a été retrouvée dans certaines études et mériterait d'être évaluée comme facteurs de variabilité de la CysC.

### **Quel est le devenir rénal de la cystatine C ?**

Les études physiologiques spécifiques au comportement rénal de la CysC sont relativement peu nombreuses et la principale a été réalisée chez le rat [64]. Après avoir été filtrée sans limitation par les glomérules du fait de sa faible masse moléculaire et l'absence de liaison aux protéines plasmatiques, la CysC est entièrement réabsorbée par les tubules proximaux, où elle est presque totalement catabolisée [25, 26, 64]. La réabsorption tubulaire se ferait par un récepteur, la mégaline, commun à de nombreuses protéines dont l'albumine grâce à un mécanisme d'endocytose [65-67]. Il est couramment admis qu'il n'existe pas de sécrétion tubulaire de la CysC même si une étude chez l'homme a publié des données pouvant indiquer le contraire [68]. Cependant, la méthodologie de cette étude a été largement critiquée et ses conclusions doivent être interprétées avec réserve [69-71].

Les concentrations urinaires physiologiques de CysC sont ainsi très faibles, de l'ordre du dixième de mg/L et peuvent être mesurées par une technique immunonéphélométrique [72, 73]. De plus, l'absence de variation circadienne permet une mesure sur un échantillon et l'obtention de résultats rapides [74]. La présence de concentrations élevées de CysC urinaire serait le témoin d'une anomalie tubulaire [72, 75-77].

Les caractéristiques de l'excrétion urinaire de la CysC, si elles ouvrent des perspectives dans l'utilisation de ce marqueur pour identifier les dysfonctionnements tubulaires, interdisent le recours à sa clairance urinaire pour la mesure du DFG. Cependant, l'utilisation de la seule cystatinémie, corrigée des facteurs de variation de sa production doit théoriquement permettre une estimation du DFG de qualité satisfaisante.

### **Conclusion**

La CysC apparaît donc comme un marqueur intéressant pour l'estimation du DFG. Elle présente en tout cas plusieurs avantages par rapport à la créatinine ou à d'autres protéines de poids moléculaire comparable au sien. L'impossibilité de mesurer une clairance urinaire n'est pas rédhibitoire pour un marqueur endogène de DFG comme la CysC. Ainsi, quoique mesurable, la clairance de la créatinine est progressivement abandonnée par les recommandations internationales au profit des formules d'estimation du DFG. Ce choix est notamment motivé par la grande difficulté à fiabiliser les recueils urinaires.

La CysC n'est pas pour autant un marqueur parfait du DFG au sens strict du terme. En effet, si son devenir rénal correspond à celui d'un marqueur endogène du DFG idéal, sa production semble dépendante de déterminants physiologiques ainsi que de facteurs hormonaux, humoraux ou anthropométriques. Il conviendra de prendre en compte ces facteurs lors de l'interprétation des cystatinémies et lors de l'élaboration et la validation d'une éventuelle formule d'estimation du DFG basée sur la CysC. De manière générale, des études rigoureuses plus

nombreuses pourront encore améliorer notre connaissance physiologique, notamment du devenir rénal de cette protéine.

### UTILISATION NEPHROLOGIQUE DE LA CYSTATINE C SÉRIQUE COMME MARQUEUR DU DÉBIT DE FILTRATION GLOMÉRULAIRE

L'utilisation de la cystatinémie comme marqueur endogène du DFG dans des populations générales d'insuffisants rénaux a été largement évaluée. Deux méta-analyses sont disponibles [78, 79]. Leurs conclusions sont sensiblement identiques et s'accordent sur la meilleure sensibilité de la cystatinémie sur la créatininémie pour la détection précoce de l'insuffisance rénale chronique (IRC). Ici, nous nous attacherons à présenter les études les plus récentes utilisant des algorithmes d'évaluation du DFG basés sur la cystatinémie et nous focaliserons sur les connaissances acquises dans certaines populations particulières, chez qui l'évaluation du DFG est à la fois primordiale et insatisfaisante avec la créatininémie.

#### Algorithmes d'évaluation du DFG incluant la cystatine C

Si la CysC a d'abord été étudiée comme un marqueur de détection précoce de la diminution du DFG, plusieurs auteurs ont rapidement évoqué l'idée d'estimer plus exactement le DFG à partir de formules basées sur la CysC par analogie aux formules basées sur la créatinine sérique (comme la formule de Cockcroft et celle du MDRD) [20, 80]. On a, depuis lors, assisté à une véritable « épidémie » de formules basées sur la CysC [20, 81-86] (tableau 3), d'autant plus que, concomitamment à la découverte d'influences extra-rénales sur la cystatinémie, certains auteurs ont logiquement mis au point des formules d'expression différente selon le type de patient ou des formules exprimant un facteur correctif en fonction de l'âge, du sexe ou de la pathologie [86-88]. Signalons également que certains auteurs ont récemment émis l'hypothèse de l'intérêt d'une formule combinant la créatinine et la CysC [82, 86-90].

**Tableau 3.** Formules d'évaluation du DFG basées sur la cystatine C seule ou en combinaison avec la créatinine. La cystatinémie est toujours exprimée en mg/L, la créatininémie en mg/dL, l'âge en ans, le poids en kilogrammes. CC = cystatine C, SCr = créatininémie. Dans ce tableau, toutes les méthodes PENIA sont celles de Dade-Behring Siemens, toutes les méthodes PETIA utilisent la trousse Dakocytomation adaptée sur divers automates.

Références	Echantillo n (n)	Mesure du DFG	CysC	Population	Formules
Bokenkamp [80]	83	inuline	PETIA	Pédiatrie	$(162/CC)-30$
Tan [147]	40	iohexol	PENIA	Diabétique et sains	$(87,1/CC)-6,87$
Hoek [144]	47	iothalamate	PENIA	Divers	$(80,35/CC)-4,32$
Larsson [104]	100	iohexol	PENIA	Divers	$77,24 * CC^{-1,2623}$ $99,43 * CC^{-1,5837}$
Filler [120]	536	<sup>99</sup> Tc-DTPA	PENIA	Pédiatrie	$91,62*(1/CC)^{1,123}$
Le Bricon [126]	25	<sup>51</sup> Cr-EDTA	PENIA	Greffés	$[(78*(1/CC))+4]$
Sjostrom [257]	381	Iohexol	PETIA	Divers	$(124/CC)-22,3$
Grubb [94]	536	Iohexol	PETIA	Divers + pédiatrie (n = 85)	$84,69*CC^{-1,68*}$ 1,384 si moins de 14 ans
Rule [86]	204	Iothalamate	PENIA	Divers sauf greffés	1) $66,8*CC^{-1,3}$ 2) $[(66,8*CC^{-1,3})*(273*SCr^{-1,22*}$ $\hat{a}ge^{-0,299}*0,738 \text{ si femme})]^{0,5}$
Rule [86]	206			Greffés	$76,6*CC^{-1,16}$
Maclsaac [83]	125	<sup>99</sup> Tc-DTPA	PENIA	Diabétiques	$(84,6/CC)-3,2$
Bouvet [87]	67	<sup>51</sup> Cr-EDTA	PENIA	Pédiatrie	$63,2*(SCr/96)^{-0,35}*(CC/1,2)^{-0,56}*(poids/45)^{0,3}*(\hat{a}ge/14)^{0,4}$
Zappitelli [88]	103	Iothalamate	PENIA	Pédiatrie	1) $7594/(CC^{1,17})*1,2$ si greffé rénal 2) $(43,82*e^{0,003*\text{taille}})/(CC^{0,635}*SCr^{0,547})$
Ma [82]	376	<sup>99</sup> TcDTPA	PENIA	Divers, Chinois	$\{(87*CC^{-1,132})*[175*SCr^{-1,234*}$ $\hat{a}ge^{-0,179}*0,79 \text{ si femme}]\}^{0,5}$

Certaines formules ont cependant parfois été élaborées à partir d'échantillons trop petits et/ou de population trop spécifiques. D'autres sont complexes car mettant en œuvre des paramètres supplémentaires autres que biologiques, sans que cela n'apporte d'avantage évident. En général, on peut également affirmer que ces formules ont été très peu validées dans d'autres populations que celles à partir desquelles elles ont été élaborées [81-86]. L'avantage de ces formules apparaît, au jour d'aujourd'hui, relativement faible par rapport à la formule MDRD basée sur la créatininémie, l'âge, le sexe et la race, en tout cas en ce qui concerne la population générale [81-86, 91, 92]. La précision de ces formules, notamment, semble aussi limitée [49, 81, 84, 87, 93-95]. Comme nous allons le voir, elles pourraient être plus utiles dans certaines sous-populations où les formules basées sur la créatinine se sont révélées particulièrement inexactes, comme en pédiatrie [87, 88, 94], en transplantation [84, 86, 96-98], ou en cancérologie [99]. Cependant, des études de validation sur de larges populations indépendantes semblent nécessaires. Tout comme c'est le cas pour les formules basées sur la créatinine sérique [100, 101], les problèmes de différence de technique et de calibration pour la mesure de la CysC peuvent avoir des conséquences importantes. Ainsi, il est probable qu'une formule construite avec une cystatinémie mesurée par la méthode PENIA de Siemens ne donnera pas une évaluation précise du DFG si on y intègre une cystatinémie mesurée avec des anticorps et/ou des calibrants et/ou un mode de lecture différent(s), et inversement [18, 19, 91, 102, 103]. La relation entre DFG et CysC sérique étant décrite par une fonction exponentielle, les conséquences sur la précision de la formule se révèlent, comme c'est le cas avec les formules MDRD, d'autant moins négligeables que la valeur de CysC est basse. Ce problème a été clairement mis en avant par Larsson qui a publié deux formules distinctes et spécifiques de la technique utilisée pour doser la CysC [104].

### Populations pédiatriques

L'étude de nouveaux marqueurs biologiques du DFG en pédiatrie est, peut-être plus encore que chez l'adulte, une entreprise difficile. En plus des contraintes méthodologiques que l'on peut aussi rencontrer chez l'adulte (utilisation d'une méthode de référence pour le DFG, statistiques rigoureuses, échantillon suffisant et représentatif...), certaines difficultés plus spécifiques à la pédiatrie sont souvent rencontrées. Ainsi, il est éthiquement peu justifiable de réaliser des mesures de DFG avec une méthode de référence chez des sujets sains. Les populations contrôles sont donc généralement, dans les études, des enfants présentant une DFG normale mais qui ont, par ailleurs, une pathologie rénale ou urologique sous-jacente (reflux vesico-urétéral, syndrome néphrotique...). Ils ne peuvent donc pas être considérés *stricto sensu* comme une vraie population contrôle saine [105]. Plus problématique encore pour l'étude des marqueurs du DFG, est l'absence de consensus net sur la définition même des valeurs normales de DFG chez l'enfant. Pour certains auteurs, les valeurs de référence doivent varier en fonction de l'âge, ce qui ne facilite pas les analyses de sensibilité/spécificité des nouveaux marqueurs [106]. L'absence de données simples sur les valeurs normales de DFG en pédiatrie explique que, pour les analyses de courbes ROC, les valeurs considérées comme « normales » pour le DFG varient, selon les auteurs, entre 60 et 100 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> [94, 107]. Le fait que la CysC ne dépende pas, ou en tout cas beaucoup moins, de la masse musculaire [47,48] est, en pédiatrie, un avantage théorique important sur la créatinine. En effet, les valeurs de référence de la créatinine ne peuvent être considérées qu'en fonction de l'âge du patient [108-110]. Or, plusieurs auteurs ont démontré que les valeurs de référence de la CysC sont identiques (ou très proches) pour les adultes et les enfants de plus d'un an (*tableau 2*). Plusieurs études ont évalué la capacité de la CysC à détecter une insuffisance rénale en pédiatrie plus précocement que la créatininémie ou que les formules d'estimation du DFG basées sur la créatinine (la plus connue étant celle de Schwartz qui prend en compte la taille du patient [110]). Les résultats sont contradictoires, certains en faveur de la CysC [52, 80, 105, 111-114] alors que d'autres ne lui reconnaissent aucune valeur ajoutée [107, 114-118]. Ceci peut s'expliquer par les limitations inhérentes à l'étude spécifique des enfants dont nous avons déjà parlé, mais aussi par le fait que beaucoup d'auteurs n'ont pas dissocié les enfants avec ou sans corticothérapie [111, 119]. L'utilisation de différentes méthodes de dosage de la créatinine (Jaffé *versus* enzymatique) et l'utilisation plus ou moins adéquate de la formule de Schwartz (avec ou sans facteur correctif spécifique au laboratoire) pourraient aussi expliquer certaines discordances entre les études [88, 94].

Parmi les études favorables à la CysC, celles de Filler, sont basées sur une importante base de données de mesures du DFG [105]. Outre un avantage dans une population globale [105] et dans une « sous-population » de transplantés [111], cet auteur a montré l'utilité de la CysC chez des patients avec *spina bifida* présentant très souvent une masse musculaire très altérée [52].

Plusieurs auteurs ont mis au point des formules d'évaluation du DFG basées sur la CysC, parfois couplée à la créatinine (*tableau 3*). Les formules de Filler (élaborées avec la méthode PENIA de Siemens) [120] et de Grubb (PETIA Dakocytomation sur Modular P) [94] ont été construites sur la base de l'étude d'un grand nombre de patients (n = 536 pour les deux) mais n'ont pas été validées dans des populations pédiatriques autres que celles où elles ont été élaborées. Seul Zappitelli a validé quelques formules et a obtenu de bons résultats à condition de les corriger pour qu'elle soit applicable à sa propre méthodologie (facteur de régression). Sans correction, les résultats sont beaucoup moins intéressants. Outre ce travail de validation, cet auteur a mis au point deux

formules d'évaluation du DFG, l'une utilisant uniquement la CysC et l'autre utilisant la CysC et la créatinine. Il est intéressant de souligner que cet auteur applique à ces formules des facteurs correctifs en fonction du contexte clinique (présence d'une greffe rénale, d'une *spina bifida*) [88]. Bouvet a également mis au point, sur un nombre plus limité de patients (n = 67), une formule combinant créatinine et CysC et intégrant aussi la taille et le poids, soulignant encore une fois l'importance de facteurs non-rénaux. Cette équation a été validée par les mêmes auteurs sur une population indépendante de 33 enfants [87].

En conclusion, de par ses valeurs de références indépendantes de l'âge et même si toutes les études ne s'accordent pas, la cystatinémie est sans aucun doute un outil de choix pour le dépistage et le suivi de l'insuffisance rénale chez le patient pédiatrique. Contrairement à de nombreuses études effectuées chez l'adulte, sa performance clinique a été évaluée *versus* une méthode de référence de mesure du DFG, ce qui rend les bons résultats obtenus particulièrement robustes. Concernant les formules d'estimation du DFG basées sur la CysC, elles nécessiteraient des études de validation prospective, avant de pouvoir être recommandées en pratique clinique courante [87, 88, 94, 120] et, *a fortiori*, de remplacer une mesure du DFG par une méthode de référence lorsque celle-ci est nécessaire chez l'enfant [88, 93, 94].

### **Intérêt de la cystatine C en transplantation**

La CysC a un intérêt théorique non négligeable en transplantation, lié au fait que les patients transplantés sont à haut risque de dégrader leur fonction rénale en raison, entre autres, de l'utilisation très large des inhibiteurs de calcineurine néphrotoxiques [121]. De plus, la créatinine peut se révéler particulièrement inadéquate car ces patients ont souvent d'importantes comorbidités et sont traités par stéroïdes. Cela qui influence négativement leur masse musculaire [122]. Enfin, la ciclosporine pourrait aussi influencer la sécrétion tubulaire de créatinine [123]. Dans ce contexte, plusieurs équipes ont cherché à déterminer si la CysC pouvait être un marqueur plus sensible que la créatinine plasmatique pour détecter précocement une altération du DFG chez les patients transplantés du rein. Les résultats sont discordants ; certains auteurs, mettent en évidence une meilleure sensibilité de la CysC [124-127], alors que pour d'autres, la performance diagnostique (évaluée par la méthode des courbes ROC) n'est significativement pas différente entre les deux marqueurs notamment pour le seuil critique de DFG de 60 mL/min [49, 128, 129].

Malgré ces résultats contradictoires sur l'intérêt de la cystatinémie isolée, il existe actuellement un regain d'intérêt pour les équations visant à estimer le DFG et intégrant la CysC. Ceci est en partie expliqué par le fait que, en transplantation rénale, les formules basées sur la créatinine surestiment fortement le DFG [130-132]. Globalement, les équations intégrant la CysC semblent apporter une meilleure performance prédictive même s'il reste encore à démontrer que cette amélioration de prédiction est cliniquement substantielle [49, 96, 98, 133, 134]. Elles permettent une évaluation plus juste du DFG que l'équation MDRD [98] ainsi qu'une meilleure classification des patients transplantés rénaux dans les différents stades de maladie rénale chronique [134]. À noter cependant que dans une étude récemment publiée, cette supériorité de l'estimation du DFG basée sur la CysC par rapport à la créatininémie n'a pas été confirmée en transplantation rénale [95]. Il convient toutefois de préciser que cette étude présente certaines limitations méthodologiques qui ont pu influencer ses résultats [102]. En transplantation cardiaque, l'équation de Rule [86] intégrant la CysC, permet d'augmenter significativement la justesse de prédiction du DFG par rapport à l'équation MDRD [49]. Une meilleure performance prédictive des équations basées sur la CysC a également été rapportée en transplantation hépatique [96].

Parmi les différentes équations intégrant la CysC et qui ont été testées en transplantation, celle offrant la meilleure estimation du DFG n'est pas toujours la même d'une étude à l'autre. Il est possible que des équations propres aux patients transplantés restent nécessaires. En effet, confirmant des résultats antérieurs qui avaient déjà suggéré une possible sous-estimation du DFG par la CysC en transplantation [119], Rule *et al.* observe que le DFG est supérieur de 19 % chez les patients transplantés par rapport aux patients insuffisants rénaux à reins natifs [86]. L'explication la plus communément avancée est celle d'une production accrue de CysC induite par l'utilisation des traitements immunosuppresseurs notamment les stéroïdes [56]. Ceci a conduit certains auteurs à élaborer des équations spécifiquement développées pour des patients transplantés, adultes [86, 126] ou enfants [88]. Les équations de Rule et de Le Bricon sont souvent retrouvées parmi les équations les plus performantes en transplantation [84, 98]. Cependant, la démonstration qu'une équation développée spécifiquement pour la transplantation offre une estimation du DFG significativement meilleure, reste encore à faire.

### **Patients diabétiques**

Au vu de l'incidence en augmentation et de la haute prévalence de la néphropathie diabétique [135], il n'est pas surprenant que la CysC ait été étudiée spécifiquement chez les patients diabétiques. Son intérêt est en effet potentiellement important pour ce qui est du dépistage précoce de la néphropathie diabétique, maladie pour laquelle une prise en charge thérapeutique précoce est certainement profitable. Nous discuterons dans ce chapitre des études qui se sont spécifiquement intéressées à la population diabétique, qu'elle soit de type 1 ou 2. Nous insisterons sur les études qui sont le mieux construites au niveau méthodologique (mesure de référence du DFG,

analyse statistique suffisante, population suffisante en terme de nombre de patients et de gamme de DFG étudiés). Dans toutes les études ayant comparé l'intérêt de la CysC par rapport à la créatinine pour la détection précoce de l'insuffisance rénale chez le diabétique (DFG > 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) [136-142], la CysC (ou l'inverse de la CysC) est aussi bien, et parfois mieux, corrélée au DFG que la créatinine. La seule exception est celle d'Ododoze [140], chez qui la performance de la créatinine peut être considérée comme anormalement bonne. Perlemoine lui, ne décrit un avantage de la CysC pour la détection d'un DFG < 80 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> que dans le sous-groupe de patients avec une créatinine inférieure à 1 mg/dl (88 µmol/L) [141]. Parmi ces différentes études, l'étude de Pucci ayant porté sur 288 diabétiques des deux types avec mesure du DFG par la clairance plasmatique de l'iohexol et une gamme de DFG large est sans doute une des plus importantes [142]. Les auteurs ont démontré une corrélation significativement meilleure entre la CysC et le DFG qu'entre la créatinine et le DFG. La CysC montrait un plus grand produit (sensibilité x spécificité) pour la détection d'un DFG inférieur à 90 et 75 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> alors que sa valeur diagnostique n'excédait pas celle de la créatinine pour la détection d'un DFG inférieur à 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Cette observation était prévisible étant donnée la bonne performance de la créatinine à ce niveau d'insuffisance rénale [143]. Le meilleur seuil (valeur prédictive positive de 93 % et valeur prédictive négative de 87 %) pour la détection d'un DFG < 90 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> était de 0,98 mg/L ; c'est-à-dire une valeur très proche de la valeur haute de l'intervalle de référence pour une population générale [29] (tableau 2).

La population diabétique se prête relativement bien à des études de suivi longitudinal de la fonction rénale. Ce type d'études est très important pour comparer la performance de marqueurs biologiques pour le diagnostic précoce. Pour la CysC, trois auteurs ont entrepris ce type d'étude sur des patients diabétiques ; toutes sont favorables à l'utilisation de ce marqueur [144]. L'étude la plus convaincante, tant au plan méthodologique que par ses résultats, est sans doute celle de Perkins [145]. Cet auteur a suivi longitudinalement 30 Indiens Pima diabétiques de type 2, obèses et hyper filtrants (DFG > 120 mL/min) sur 4 ans avec au moins une mesure de DFG par an (clairance urinaire du iothalamate). Sur ces 30 patients à risque de développer une néphropathie au vu de leur statut hyper filtrant [146], 20 en ont effectivement développé une. Chez ces 20 patients, la diminution du DFG a été mieux reflétée par l'évolution de la cystatinémie (même si elle est restée dans les valeurs de référence) que par celle de la créatininémie ou des formules dérivées, qui toutes ont sous-estimé la diminution du DFG [145]. Dans une étude menée sur 20 sujets à DFG abaissé, Beaulieux a montré que les formules d'évaluation du DFG basées sur la CysC reflètent mieux les variations sur 2 ans du DFG mesuré (clairance urinaire du <sup>51</sup>Cr-EDTA) que les formules basées sur la créatinine [81].

La CysC semble donc être un marqueur intéressant dans la population diabétique pour la détection (en transversal ou en suivi longitudinal) de la néphropathie précoce. L'intérêt des formules basées sur la CysC (+/- la créatinine) pour l'estimation du DFG a été peu étudié et les résultats des quelques études publiées sur le sujet paraissent contradictoires et difficiles à comparer [81, 83, 89]. Signalons à ce propos que les formules basées sur la CysC n'ont pas toutes été élaborées, à deux exceptions près [83, 147], à partir d'une population strictement diabétique. Ceci pourrait avoir son importance, quant à l'influence des déterminants extra-rénaux de la CysC.

### **Patients âgés**

Les études épidémiologiques soulignent la forte prévalence des néphropathies chez les sujets âgés. Ainsi les registres américains retrouvent une prévalence de la micro-albuminurie de 18 % chez les sujets de 60 à 69 ans et de 30 % chez les sujets de plus de 70 ans [148]. De la même façon, la prévalence du stade 3 chez les plus de 70 ans (estimation du DFG < 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) est estimée autour de 35 % [149]. Les données françaises confirment l'augmentation de la prévalence de l'insuffisance rénale en fonction de l'âge. Le registre REIN observe en France une prévalence de 2 042 patients dialyses par million d'habitants après 75 ans avec une nette prédominance masculine (registre REIN [www.soc-nephrologie.org/enephro/registres/index.htm](http://www.soc-nephrologie.org/enephro/registres/index.htm)). La prévalence de l'insuffisance rénale chronique avant le stade de la dialyse est moins bien documentée. En pratique, l'estimation des fonctions rénales chez les sujets âgés repose sur la détermination de la créatinine et les équations prédictives qui en découlent. Pourtant la sarcopénie liée au vieillissement entraîne une baisse de la production de la créatinine. Les équations prédictives incluant l'âge et le sexe prennent partiellement en compte cette donnée. Toutefois, la formule de Cockcroft et Gault sous-estime systématiquement le DFG chez le sujet âgé [150]. Le MDRD, plus fiable, ne peut toutefois prendre en compte qu'une baisse moyenne de la masse musculaire et de la créatinine liée à l'âge [151]. L'inflammation, la malnutrition et le déconditionnement musculaire (souvent associés aux pathologies chroniques comme l'insuffisance cardiaque ou les broncho-pneumopathies) peuvent encore accentuer les anomalies du métabolisme musculaire et affecter la valeur des équations prédictives basées sur la créatinine [152-154].

Dès lors, la CysC peut apparaître comme un marqueur alternatif. En population, les valeurs de cystatinémie augmentent avec l'âge surtout au-delà de 70 ans [29, 30, 155, 156]. Ainsi, une élévation de 0,045 mg/L tous les dix ans a été récemment rapportée [30]. Cette élévation peut théoriquement être liée à des facteurs rénaux

(dégradation des fonctions rénales en fonction de l'âge) [29, 155] ou à des facteurs extra-rénaux [157] posant la question de normes spécifiques chez le sujet âgé. Ainsi, chez le diabétique âgé (de 64 à 100 ans), la prévalence de la néphropathie estimée par la CysC est de 64,7 % mais elle n'est plus que de 21,4 % si on utilise des références ajustées sur l'âge [158]. Parmi les facteurs extra-rénaux les plus souvent observés, figurent l'inflammation (mais qui pourrait apparaître comme une conséquence même de l'IRC) [159-161] et les traitements par glucocorticoïdes [157]. Enfin, malgré des résultats contradictoires, un lien entre un polymorphisme sur le gène de la CysC (CST3 sur l'exon 1) et la maladie d'Alzheimer a été fortement suggéré [162-164]. Très récemment, une étude taïwanaise a montré que les concentrations de CysC circulante étaient négativement associées à la présence du polymorphisme CST3 et significativement plus bas chez les sujets Alzheimer [163]. Au total, chez le sujet âgé, la CysC paraît moins sensible aux facteurs métaboliques et extra-rénaux que la créatinine [157]. L'existence de biais potentiels entre ces deux marqueurs doit être prise en compte pour expliquer les discordances observées chez le sujet âgé entre estimation du DFG par CysC, clairance mesurée et équations prédictives [165, 166]. Ces discordances, surtout rencontrées chez le sujet présentant des comorbidités [166], peuvent conduire à des différences de prévalence de l'IRC. Il n'existe encore que trop peu d'études comparant les taux de CysC avec une mesure de référence. Récemment, Hojs a rapporté une meilleure corrélation entre l'inverse de la CysC et la clairance de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  par comparaison à l'inverse de la créatinine ou de la clairance de la créatinine mesurée chez des patients âgés insuffisants rénaux [167]. Cependant, une comparaison simple des corrélations n'est statistiquement pas suffisante pour affirmer la supériorité de la CysC sur la créatinine. La CysC pourrait aussi être un marqueur plus sensible que la créatinine pour dépister les altérations modérées du DFG chez le sujet âgé (69-92 ans) [168, 169] même si des résultats non concluants ont été rapportés [170,171].

En conclusion, la CysC paraît un marqueur prometteur pour dépister précocement les dysfonctions rénales du sujet âgé. Toutefois, les interactions entre les facteurs potentiellement confondants comme l'inflammation ou la présence de pathologies associées comme les maladies neurologiques doivent être mieux définies.

### **Cystatine C et sida**

L'intérêt du dosage de la CysC dans les populations de sujets dont la masse musculaire est altérée a fait, on l'a vu, l'objet de nombreuses études. Cependant, peu de travaux ont été réalisés chez le sujet infecté par le VIH, qui pourtant diffère de la population générale par une dénutrition et des modifications corporelles fréquentes.

L'insuffisance rénale chronique terminale n'est plus exceptionnelle dans cette population et le nombre de patients dialysés et infectés par le VIH augmente aux États-Unis et en Europe [172]. Ainsi, la prévalence de l'IRC dans différentes populations de sujets infectés par le VIH (traités ou non, contrôlés ou non) peut atteindre de 5 à 25 % [173-175]. Le traitement par HAART (*Highly active anti retroviral therapy*) n'a pas fait disparaître l'atteinte rénale spécifique du VIH ou HIVAN (*HIV-associated nephropathy*), responsable de 40 à 60 % des atteintes rénales histologiques [176], ni le besoin de recourir à la transplantation chez les patients infectés [177]. En dehors du rôle spécifique du virus, le sujet infecté par le VIH présente un grand nombre de facteurs de risque d'IRC non spécifiques comme l'âge, l'hypertension artérielle, le diabète non insulino-dépendant, l'exposition à des traitements médicamenteux multiples et prolongés [178].

La Société américaine de maladies infectieuses a publié en 2005 les premières recommandations de prise en charge de la fonction rénale chez le sujet infecté par le VIH. Elle préconise ainsi le dosage de la créatinine si la masse musculaire est normale et les formules d'estimation du DFG dans les autres cas [179]. Il est fréquemment proposé d'utiliser la formule de Cockcroft et Gault pour adapter les posologies à la fonction rénale, car les études ayant conduit aux recommandations utilisaient la plupart du temps cette formule [180, 181]. Cependant, aucune formule ne peut être formellement conseillée car aucune n'est validée dans la population de patients infectés par le VIH. De plus, cette population présentant une baisse significative de la masse musculaire par rapport à des patients séronégatifs [182], il faut rappeler qu'elle entre dans les situations cliniques pour lesquelles les KDIGO ont recommandé une mesure du DFG par une méthode de référence et non pas une simple estimation [148]. Récemment, des études ont montré que les concentrations de CysC sont plus élevées chez les sujets VIH+ par rapport à des patients séronégatifs, et ceci même si les concentrations de créatinine sont normales [183, 184]. Les cystatinémies sont corrélées à la charge virale et inversement corrélées à la durée des traitements anti-rétroviraux (qui ralentissent la progression de la maladie rénale). Ceci suggère que la cystatinémie peut être un bon marqueur de l'évolution de la maladie virale, dans le sens de l'aggravation ou dans celui de l'amélioration. D'ailleurs, les auteurs proposent l'utilisation de la CysC comme marqueur précoce de l'amélioration de la fonction rénale sous HAART [183]. La détermination de la CysC pourrait être donc une alternative intéressante pour l'estimation du DFG chez les patients VIH+ mais cette proposition doit cependant être vérifiée par des études avec mesure de DFG par une méthode de référence.

## Cystatine C et insuffisance hépatocellulaire

La CysC, évaluée dans des populations de patients cirrhotiques, a montré son équivalence [185] par rapport à la créatinine pour l'évaluation de la fonction rénale, voire sa supériorité [84, 186, 187]. Dans une étude récente, seule la CysC était corrélée au DFG mesuré à tous les stades d'insuffisance hépato-cellulaire [188]. Par ailleurs, la cystatinémie semble être un meilleur marqueur que la créatinine et que la formule de Cockcroft pour un diagnostic précoce d'atteinte rénale, en cas d'insuffisance hépatique terminale [189]. Elle est par ailleurs préconisée dans le suivi de la fonction rénale après transplantation hépatique [190]. En effet, les formules de Hoek [144] et Larsson [104] sont au moins aussi performantes que la formule MDRD dans ces populations [96]. Elle serait un meilleur prédicteur de l'insuffisance rénale aiguë après greffe hépatique [191], y compris chez l'enfant [113] et permettrait une meilleure surveillance des changements modérés de la fonction rénale [124].

Sachant que le score MELD (mesurant le degré d'insuffisance hépatocellulaire terminale) inclut une mesure de la créatinine sérique pour évaluer l'impact de la fonction rénale sur le pronostic des patients et qu'il est utilisé pour prioriser les candidats à la transplantation hépatique [192], l'utilisation de la CysC semble prometteuse chez ces patients cirrhotiques. Cela d'autant plus que le dosage de créatinine est sujet à interférences en cas de valeurs hautes de bilirubine (ce qui n'est pas le cas de la CysC) [193].

## CYSTATINE C, MARQUEUR DE RISQUE CARDIOVASCULAIRE

L'insuffisance rénale chronique au stade ultime [194] ou dès le stade 3 des KDOQI [195] est actuellement reconnue comme un facteur de risque indépendant pour les maladies cardiovasculaires. L'émergence d'un marqueur biologique de dégradation des fonctions rénales potentiellement plus précoce et moins dépendant de facteurs extra-rénaux que la créatinine a conduit plusieurs équipes et principalement celle de Shlipak à explorer les relations entre maladies cardiovasculaires, mortalité et taux circulants de CysC [196].

Pourtant, le premier intérêt de la CysC dans les maladies cardiovasculaires était lié à sa fonction d'inhibiteur des protéases et non de marqueur de filtration glomérulaire. En effet, les protéinases et en particulier des cathepsines S et K, ont très tôt été impliquées dans la rupture des tuniques élastiques de la paroi artérielle et l'hypothèse d'un déséquilibre *in situ*, dans la paroi artérielle, entre cathepsines et inhibiteurs a été évoquée. Ainsi, des concentrations tissulaires abaissées de CysC ont été mises en évidence dans des plaques d'athérome, des lésions anévrysmales [197], des lésions d'angioplastie sur des modèles animaux [198], et impliqués dans la physiopathologie des anévrysmes. Ce rôle protecteur de la CysC *in situ* a été confirmé sur des modèles génétiques d'artériopathies. Ainsi des souris ApoE<sup>-/-</sup> invalidées pour le gène de la CysC (Cyst<sup>-/-</sup>) développent des lésions anévrysmales et des ruptures de la limitante élastique interne par rapport aux souris ApoE<sup>-/-</sup>, Cyst<sup>+/-</sup> [199, 200]. De rares données en génétique humaine renforcent ces travaux sur modèles animaux [201, 202]. Ainsi les patients présentant des mutations dans le promoteur du gène de la CysC ont des concentrations circulantes basses [201, 202]. Dans un sous-groupe de patients (n = 237) bénéficiant d'une coronarographie au décours d'un infarctus, ces mêmes mutations sont associées à un nombre plus important de sténoses coronariennes mais sans influence sur leur sévérité [201]. Parallèlement, ces génotypes n'ont pas d'influence sur la survie des patients à 3 ans [202]. Ces données expérimentales et cliniques suggèrent que la CysC joue un rôle dans le remodelage vasculaire.

Les études épidémiologiques, basées sur de grandes cohortes de patients ont clairement identifié des valeurs élevées de CysC (au-dessus de 1,30 mg/L) comme un facteur de risque indépendant de maladies cardiovasculaires. Les premières études ont établi l'importance pronostique de la CysC dans le suivi des cardiopathies. Ainsi, dans une cohorte de 1 033 sujets présentant une maladie coronarienne, des concentrations élevées de CysC (1,24 mg/L) sont significativement prédictives d'un second accident cardiovasculaire même après ajustement pour les facteurs de risque classique, la CRP et le traitement par inhibiteur de l'enzyme de conversion. À l'opposé, ni la créatinine, ni la clairance de la créatinine ne présentent une telle association [203]. Dans le même temps, Shlipack [204] montrait que la CysC était un meilleur facteur prédictif de mortalité chez des patients présentant une insuffisance cardiaque. Très vite, les études rétrospectives sur des cohortes existantes ont pu étendre ces données à l'ensemble de la population et en particulier chez les sujets âgés. Ainsi, la CysC a pu être significativement associée à la mortalité toutes causes confondues [196, 204-210], la mortalité cardiovasculaire [196, 204-206, 209, 210], la survenue d'un infarctus du myocarde [196, 211], d'un accident vasculaire cérébral [196, 212], et d'une artériopathie périphérique [213]. Si l'association avec la mortalité toutes causes confondues ou cardiovasculaire est systématiquement retrouvée, d'autres auteurs ne mettent pas en évidence de liens entre taux de CysC et accidents vasculaires non coronariens [205] principalement chez l'homme d'âge moyen [214]. Ces relations entre maladie cardiovasculaire et concentrations élevées de CysC ont été décrites aussi bien dans des cohortes de patients ou des sous-groupes sélectionnés sur des antécédents de maladies cardiovasculaires [203, 204, 206, 208, 212, 213] que chez des patients sans antécédents cardiovasculaires [207, 209-211, 215, 216]. Enfin, pour certains, les valeurs élevées de CysC peuvent être

associées à des anomalies morphologiques cardiaques, comme une hypertrophie ventriculaire gauche ou une dysfonction ventriculaire gauche identifiée par échographie [215], des anomalies fonctionnelles comme une insuffisance cardiaque [217] ou une intolérance à l'effort [218]. Dans toutes ces études, l'association entre maladie cardiovasculaire et CysC apparaît plus forte qu'avec la créatinine ou les algorithmes d'estimation du DFG basés sur la créatinine. De plus, l'association entre maladie cardiovasculaire et CysC apparaît comme linéaire, s'amplifiant avec le niveau de CysC. En particulier, dans la cohorte *Modification of Diet in Renal Disease study* (MDRD), une progression linéaire du risque est observée entre les valeurs de 1,45 à 3,17 mg/L [209]. La recherche d'un seuil de significativité est bien sûr dépendante de la population choisie et de l'exclusion ou non des patients insuffisants rénaux. En l'absence de stratification sur l'insuffisance rénale, le seuil de significativité est généralement retrouvé autour des valeurs de 1,30 mg/L. Toutefois, dans des populations sans IRC décelée par les équations prédictives, ce seuil de significativité peut être abaissé à 1 mg/L [206, 210].

Au terme de ces études épidémiologiques, et après ajustement sur les principaux facteurs de risque classiques, la CysC apparaît comme un marqueur indépendant du risque vasculaire en population supérieur à l'estimation du DFG basée sur la créatinine. L'association entre CysC et maladie cardiovasculaire semble multifactorielle et reposer sur au moins trois facteurs :

- 1) la meilleure reconnaissance des insuffisances rénales débutantes par la CysC que par la créatinine ;
- 2) l'intrication de la CysC avec des facteurs de risque non traditionnels présents dans l'insuffisance rénale comme l'inflammation ;
- 3) une action directe de la CysC sur la paroi artérielle.

### **La cystatine C est plus sensible que la créatinine pour dépister les IR débutantes**

Les limites de la créatinine comme marqueur de filtration glomérulaire tiennent en partie à des facteurs extra-rénaux comme l'âge, le régime alimentaire, l'activité physique et surtout la masse musculaire. Ces limites doivent particulièrement être prises en compte dans la population âgée sur laquelle ont porté de nombreuses études sur la valeur prédictive de la CysC vis-à-vis de pathologies vasculaires. Par ailleurs, l'estimation de la filtration glomérulaire par la créatinine est imprécise pour les stades 1 et 2 K/DOQI avec des DFG > 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Dans ces situations, la CysC pourrait donc mieux détecter le risque vasculaire lié à une altération modérée des fonctions rénales [219].

Le risque vasculaire lié aux néphropathies peut être mis en évidence par d'autres marqueurs d'altération précoce comme la micro-albuminurie. Pourtant à ce jour, il n'existe que peu d'études comparant la valeur prédictive de la CysC et de la micro-albuminurie [214]. Enfin, très peu d'études ont comparé la valeur prédictive de la CysC, de la créatinine et d'une méthode de référence de mesure du DFG vis-à-vis des maladies cardiovasculaires. À partir des données de la cohorte MDRD, pour des patients au stade 3 et 4 de l'insuffisance rénale, l'étude de Menon [209] retrouve une association à la mortalité cardiovasculaire aussi forte (voire supérieure) de la CysC (pour une diminution 1-SD, RR = 1,64 [1,28-2,08]) que d'une mesure du DFG par la clairance de l'iothalamate (RR = 1,28 [1,04-1,59]) ou de la créatinine (RR = 1,32 [1,05-1,64]). Cependant aucune étude n'a, à ce jour, comparé la valeur prédictive d'un DFG mesuré et de la CysC aux stades 1 ou 2 de l'IRC.

### **Des concentrations élevées de CysC peuvent traduire l'existence d'un processus inflammatoire à bas bruit**

Un lien entre CysC et inflammation a été préalablement observé dans de grandes études en population [31, 157]. Cette association entre marqueurs inflammatoires (CRP, IL-6 et TNF) et cystatinémie a été retrouvée dans la majorité des études démontrant le lien entre CysC et maladie cardiovasculaire [205, 211, 216, 220] ou dans des populations à haut risque rénal et cardiaque comme le diabétique [221]. Toutefois, à l'exception de l'étude PRIME [211], l'association CysC-événement cardiovasculaire persiste quand les marqueurs inflammatoires sont intégrés dans l'analyse multivariée [205, 216]. De façon intéressante, l'association entre les marqueurs inflammatoires et la CysC apparaît comme linéaire dans la cohorte *Cardiovascular health study* alors qu'elle décrit une courbe en U avec la créatinine [160]. Ces associations entre inflammation, CysC et maladie cardiovasculaire suggèrent que l'inflammation pourrait être le lien unificateur [222]. Alternativement, l'association entre inflammation et CysC peut être prise en compte dans la valeur prédictive de la CysC pour la mortalité non cardiovasculaire, y compris par néoplasie [223].

### **Rôle direct de la CysC dans la paroi artérielle**

Enfin, un rôle spécifique de la CysC dans la paroi artérielle, fortement suggéré par les études *in vitro* et sur modèles animaux, ne peut être éliminé. Le récent travail de Nicolli évoque un possible lien entre données fondamentales et épidémiologiques. En effet, il étudie les lésions coronaires chez 70 patients consécutifs présentant un syndrome coronarien aigu et avec des fonctions rénales normales (définies par un DFG estimé > 90 mL/min/ 1,73 m<sup>2</sup>). Dans ce faible échantillon, il retrouve une association positive entre la cystatinémie et le nombre de sténoses mais les valeurs élevées de CysC seraient associées à un phénotype stable des plaques fibromusculaires déterminé par index angiographique. Ce résultat, qui nécessite une confirmation sur de plus grandes

séries, pourrait confirmer le rôle de la CysC dans le remodelage vasculaire y compris au cours des maladies coronariennes. Enfin, le retentissement éventuel des variations d'expression de la CysC dans la paroi sur les taux circulants reste à définir [224].

En conclusion, la CysC apparaît donc comme un marqueur de risque indépendant des maladies cardiovasculaires dont la puissance semble multifactorielle, liée à la détection des altérations rénales précoces, à son association avec l'inflammation et à son rôle dans le remodelage vasculaire.

## CYSTATINE C ET CANCER

L'intérêt de la communauté oncologique pour la CysC se situe à deux niveaux : son expression tissulaire est à l'étude en tant que facteur pronostique alors que sa concentration sérique pourrait représenter pour l'évaluation de la fonction rénale une alternative intéressante à la créatininémie, peu performante chez des patients dont la masse musculaire est fréquemment altérée. La CysC est un inhibiteur majeur des cathepsines, enzymes capables de protéolyser la matrice extracellulaire et donc de faciliter la dégradation des membranes basales par les cellules tumorales et par là même le processus métastatique. Le rôle de la cathepsine B en particulier a largement été démontré sous forme d'une corrélation entre le niveau d'expression de la cathepsine B dans les tissus tumoraux, la progression de la maladie, et un pronostic clinique défavorable pour divers types de tumeurs : gastrique [225], pulmonaires [226], mammaires [227], ORL [228]. Inversement, le niveau d'expression a été corrélé à un moindre pouvoir invasif *in vivo* et *in vitro* de glioblastomes [229], à une meilleure survie de patients atteints de tumeurs des voies aéro-digestives supérieures [230], à un score de Gleason faible dans les tumeurs de la prostate [231]. L'effet anti-tumoral de la CysC pourrait également se baser sur un rôle « *cytokine-like* » indépendant de sa fonction d'inhibiteur de protéase. En effet, la CysC ainsi qu'un mutant dénué d'activité inhibitrice sur la cathepsine B sont des antagonistes du récepteur du TGF- $\beta$  ainsi que des inhibiteurs de la voie de signalisation du TGF- $\beta$  dans des cellules de fibrosarcome [232]. Les événements promoteurs du processus métastatique induits par le TGF- $\beta$  dans des cellules tumorales mammaires (diminution de la polarisation cellulaire, perte de l'adhésion intercellulaire, induction de capacités invasives et migratoires) sont inhibés par l'expression de CysC induite par une infection rétrovirale [233].

Curieusement, d'autres travaux soulignent un potentiel effet promoteur sur le processus métastatique de la CysC. En particulier, sept fois moins de colonies métastatiques pulmonaires apparaissent après injection intraveineuse de la lignée murine de mélanome hautement métastatique B16-F10 chez des souris invalidées pour le gène de la CysC, en comparaison aux animaux sauvages [234]. La compréhension des liens entre l'expression de la CysC et l'oncogenèse semble donc n'être qu'à son balbutiement. Comme dans de nombreux autres contextes cliniques, le taux sérique de CysC a été évalué en oncologie comme marqueur de la filtration glomérulaire.

Le questionnement majeur est celui de l'influence de la présence tumorale sur la CysC circulante, influence pouvant faire perdre de sa pertinence à la CysC en tant que marqueur glomérulaire. En effet, on l'a vu, l'expression de la CysC est vraisemblablement impliquée dans l'oncogenèse. De plus, la cystatinémie peut constituer un marqueur de masse tumorale puisque la CysC est exprimée par toutes les cellules nucléées. Toutes les études s'attachant à répondre à cette question se sont heurtées à l'écueil majeur que représente la difficulté de mettre en œuvre une méthode de référence pour la mesure du DFG chez des patients dont la prise en charge est déjà lourde.

Certaines études décrivent une augmentation de la CysC sérique chez les patients néoplasiques par rapport à des sujets sains mais ils n'ont bénéficié soit d'aucune évaluation de la fonction rénale [235-237] soit d'une évaluation basée sur la seule créatininémie [230, 235, 238-240]. Ce qui limite fortement leur pertinence comme en ont convenu plus tard certains auteurs eux-mêmes [241]. Quatre études ont comparé les concentrations de CysC sériques chez des patients cancéreux et chez des volontaires sains, tous à fonction rénale évaluée, équivalente et normale. Les résultats apparaissent contradictoires. Deux n'ont montré aucune différence entre les deux groupes : celle d'Al Tonbary *et al.* [242] (34 enfants porteurs essentiellement d'hémopathies malignes *versus* 13 sujets contrôles ; DFG évalué par la clairance de la créatinine mesurée et ramenée à la surface corporelle) et celle Mojiminiyi *et al.* [243] (29 adultes porteurs d'hémopathies malignes *versus* 27 sujets contrôles ; DFG évalué avec la formule de Cockcroft-Gault). À l'inverse, Demirtas *et al.* ont montré une cystatinémie moyenne 5 fois plus élevée que celle de 20 sujets contrôles chez 19 porteurs d'hémopathies avant greffe de moelle osseuse (DFG évalué par la clairance de la créatinine mesurée et ramenée à la surface corporelle). À noter que des valeurs aussi élevées que celles rapportées par Demirtas sont exceptionnellement décrites dans la littérature y compris chez des sujets en insuffisance rénale terminale [244]. Une quatrième étude, évaluant le DFG à partir de la clairance d'élimination du carboplatine (égale au DFG + 25 mL/min) chez 40 patients cancéreux et 40 volontaires sains, conclut elle aussi à des taux de cystatinémies significativement supérieures chez les patients cancéreux [245].

La seule étude à ce jour à avoir utilisé une méthode de référence pour la mesure du DFG chez des sujets atteints de cancer n'a pas comparé les cystatinémies des patients à celles de sujets non cancéreux à fonction rénale

équivalente, ce qui aurait permis de préciser la part prise par la présence tumorale dans l'augmentation du taux de CysC. De plus, cette étude incluant des sujets insuffisants rénaux (clairance de l'inuline comprise entre 43,6 et 115,1 mL/min), il n'est pas possible de comparer les cystatinémies obtenues aux valeurs de référence de la littérature [99].

La question d'une influence de la présence tumorale sur la CysC reste donc posée. Et sans étude mesurant formellement le DFG chez un nombre suffisant de patients, il restera impossible d'attribuer des valeurs plus élevées de CysC à une influence de la présence tumorale ou à une altération à bas bruit de la fonction rénale.

La difficulté que pose l'interprétation de cystatinémies isolées en cancérologie est moins cruciale lorsqu'on s'intéresse à un suivi. Plusieurs études ont testé l'intérêt de la CysC sérique pour évaluer la néphrotoxicité liée aux traitements associés au cancer en particulier au cisplatine [99, 241, 242, 246]. Effectuées en majorité chez des enfants pour lesquels la mesure de la clairance urinaire de la créatinine est particulièrement difficile, elles s'accordent toutes pour faire de la cystatinémie un marqueur beaucoup plus sensible que la créatininémie pour la détection d'une diminution du DFG ou de la clairance de la créatinine après administration de cisplatine. La plus convaincante est celle de Benohr qui a montré une augmentation de 21 % de la cystatinémie au J5 de l'administration de cisplatine, parallèle à une diminution de 23 % de la clairance de l'inuline. De plus, la cystatinémie apparaît comme un outil efficace pour prédire une diminution cliniquement significative de la clairance urinaire de la créatinine [241, 242]. Ceci étant associé à son intérêt dans la prédiction de la clairance d'élimination de certains cytotoxiques (voir *infra*), la CysC paraît donc un outil prometteur pour la prise en charge chimiothérapique des patients. Cependant, d'autres études sur ce sujet seraient bénéfiques, incluant plus de patients, des protocoles de chimiothérapies homogènes et une mesure du DFG par une méthode de référence.

Il est à noter qu'au moment où ces lignes sont écrites, aucune formule d'évaluation du DFG basée sur la cystatinémie (*tableau 3*) n'a été évaluée dans le contexte oncologique.

## CYSTATINE C ET ADAPTATION POSOLOGIQUE

De nombreux médicaments nécessitent une adaptation de posologie en présence d'une insuffisance rénale. Cette adaptation est rendue nécessaire le plus souvent car la clairance du médicament est essentiellement rénale mais aussi parfois car le médicament est néphrotoxique. Il doit donc être utilisé avec précaution en cas d'atteinte rénale préexistante. Parfois, les deux difficultés coexistent, comme par exemple avec les aminosides ou le cisplatine. La plupart du temps, l'adaptation posologique préconisée dans les Résumés des caractéristiques du produit (RCP) se fait par « tranche » de DFG ou le plus souvent par tranche de clairance de Cockcroft et Gault. Parfois, et c'est vrai pour les médicaments à index thérapeutique très étroit comme les digitaliques ou le cisplatine, l'adaptation est individuelle et se base sur la mesure ou le plus souvent sur l'évaluation de la clairance d'élimination du médicament. Cette évaluation se fait à partir de formules associant des données démographiques (âge, sexe, etc.), morphométriques (taille, poids, etc.) et biologiques (créatininémie, clairance de Cockcroft-Gault).

La première publication ayant étudié l'intérêt de la CysC dans ce domaine s'est intéressée à l'adaptation posologique de la digoxine chez les sujets âgés [247]. Elle concluait à l'absence de supériorité de ce nouveau paramètre sur la créatinine pour prédire la clairance du médicament. Mais ces résultats ont rapidement été infirmés [248]. Deux études basées sur la méthodologie de pharmacocinétique de population (méthodologie la plus robuste dans ce domaine) ont définitivement démontré l'intérêt de la CysC pour la prédiction de la clairance de médicaments à élimination exclusivement, ou même partiellement, rénale à savoir deux cytotoxiques, le topotécan [249] et le carboplatine [250]. De manière intéressante, ces deux études mettaient en évidence l'avantage d'associer la CysC et la créatinine plutôt qu'à les utiliser individuellement. Cela suggérait que ces deux paramètres ne sont pas entièrement redondants et, avant l'heure, que la cystatinémie ne dépendait sans doute pas que du DFG. Depuis ces deux études, d'autres, elles aussi effectuées en pharmacocinétique de population, ont abouti à des conclusions équivalentes, pour la cefuroxime [251] et la vancomycine [252].

## CONCLUSION

L'étude de données récentes concernant la cystatine C amène en conclusion plusieurs réflexions.

- Il existe une urgence à évaluer la transférabilité des méthodes automatisées permettant le dosage de la CysC sérique. En effet, pour ne pas retomber dans les mêmes difficultés qu'avec la créatinine, les équations d'estimation du DFG basées sur la cystatinémie doivent pouvoir s'appuyer sur une variabilité inter-technique faible afin d'élargir au maximum leur champ d'application dans les populations concernées. Un projet est en cours d'élaboration, en collaboration entre l'AFSSAPS, la Société de Néphrologie, la Société Francophone d'Hémodialyse et la SFBC.

- Afin d'utiliser au mieux ce marqueur, il semble nécessaire de parfaire les connaissances sur sa variabilité physiologique et les facteurs de variation de son niveau de production, au premier rang desquels l'inflammation et le cancer.
- Parmi les sous-populations au sein desquelles la CysC a été évaluée comme marqueur du DFG, ce sont sans doute les populations pédiatriques qui bénéficient le plus largement de ce nouveau marqueur de filtration glomérulaire.
- Depuis 2005 et les recommandations KDIGO [253], nous sommes passés à l'ère des formules d'évaluation du DFG. Étant donné les démonstrations de plus en plus nombreuses montrant que des facteurs non rénaux peuvent influencer la cystatinémie, il est probable que la CysC doit être associée à d'autres co-variables non biologiques au sein de ces algorithmes. Une étude majeure sur 3 418 insuffisants rénaux américains et européens est en passe d'être publiée au moment où ces lignes sont écrites : elle établit qu'une meilleure estimation du DFG qu'avec la formule MDRD est obtenue grâce à une équation associant la Cys, la SCr, le sexe, l'âge et la race. Mise au point sur un échantillon de 1 935 sujets, cette équation a été validée en interne (aux États-Unis) sur 1 045 sujets et en externe (France) sur 438 sujets [90].
- De nombreuses formules d'évaluation du DFG basées sur la cystatinémie ont été proposées. Cependant, les études de validation de ces outils *versus* une mesure de référence du DFG manquent cruellement, en particulier dans les sous-populations au sein desquelles les formules basées sur la créatininémie sont prises en défaut (sujets âgés, sida, cancer...).

## COMPOSITION DU GROUPE SFBC « BIOLOGIE DES FONCTIONS RENALES ET DE L'INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE »

Zakia Ait-Djafer, Yann Barguil, François Blanchecotte, Anne Boutten, Bernard Canaud, Marie-Christine Carlier, Etienne Cavalier, Jean-Paul Cristol (responsable du groupe), Pierre Delanaye, Yahsou Delmas, G. Desch, Bruno Fouqueray, Marc Froissart, Marie-Madeleine Galteau, Fabrice Guerber, Jean-Michel Halimi, Anne-Marie Hanser, Pascal Houillier, Michèle Kessler, Christophe Mariat, Marie Monge, Laurence Piéroni, Jérôme Rossert, Sophie Séronie-Vivien, Jean-Claude Souberbielle, Michel Sternberg.

## RÉFÉRENCES

1. Clausen J. Proteins in normal cerebrospinal fluid not found in serum. *Proc Soc Exp Biol Med* 1961 ; 107 : 170-2.
2. Macpherson CF, Cosgrove JB. Immunochemical evidence for a gamma globulin peculiar to cerebrospinal fluid. *Can J Biochem Physiol* 1961 ; 39 : 1567-74.
3. Butler EA, Flynn FV. The occurrence of post-gamma protein in urine : a new protein abnormality. *J Clin Pathol* 1961 ; 14 : 172-8.
4. Cejka J, Fleischmann LE. Post- $\gamma$ -globulin : isolation and physicochemical characterization. *Arch Biochem Biophys* 1973 ; 157 : 168-76.
5. Colle A, Guinet R, Leclercq M, Manuel Y. Occurrence of beta<sub>2</sub>-microglobulin and post-gamma globulin in human semen. *Clin Chim Acta* 1976 ; 67 : 93-7.
6. Hochwald GM, Thorbecke GJ. Trace proteins in cerebrospinal fluid and other biological fluids. I. Effect of various fractionation procedures on beta-trace and gamma-trace proteins and methods for isolation of both proteins. *Arch Biochem Biophys* 1963 ; 101 : 325-34.
7. Lofberg H, Grubb AO. Quantitation of gamma-trace in human biological fluids : indications for production in the central nervous system. *Scand J Clin Lab Invest* 1979 ; 39 : 619-26.
8. Grubb A, Lofberg H. Human gamma-trace, a basic microprotein : amino acid sequence and presence in the adenohypophysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982 ; 79 : 3024-7.
9. Brzin J, Popovic T, Turk V, Borchart U, Machleidt W. Human cystatin, a new protein inhibitor of cysteine proteinases. *Biochem Biophys Res Commun* 1984 ; 118 : 103-9.
10. Barrett AJ, Davies ME, Grubb A. The place of human gamma-trace (cystatin C) amongst the cysteine proteinase inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 1984 ; 120 : 631-6.
11. Fossum K, Whitaker JR. Ficin and papain inhibitor from chicken egg white. *Arch Biochem Biophys* 1968 ; 125 : 367-75.
12. Abrahamson M. Human cysteine proteinase inhibitors. Isolation, physiological importance, inhibitory mechanism, gene structure and relation to hereditary cerebral hemorrhage. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1988 ; 191 : 21-31.
13. Grubb A, Jansson O, Gudmundsson G, Arnason A, Lofberg H, Malm J. Abnormal metabolism of gamma-trace alkaline microprotein. The basic defect in hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis. *N Engl J Med* 1984 ; 311 : 1547-9.
14. 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 : 499-503.
15. 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.

16. Sunde K, Nilsen T, Flodin M. Performance characteristics of a cystatin C immunoassay with avian antibodies. *Ups J Med Sci* 2007 ; 112 : 21-37.
17. Flodin M, Hansson LO, Larsson A. Evaluation of Dade Behring N Latex cystatin C reagent on Abbott ci8200. *Ups J Med Sci* 2006 ; 111 : 209-13.
18. Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price CP. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem* 1997 ; 43 : 1016-22.
19. Flodin M, Hansson LO, Larsson A. Variations in assay protocol for the Dako cystatin C method may change patient results by 50% without changing the results for controls. *Clin Chem Lab Med* 2006 ; 44 : 1481-5.
20. Newman DJ. Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 2002 ; 39 : 89-104.
21. Thuillier F, Demarquilly C, Szymanowicz A, et al. Nephelometry or turbidimetry for the determination of albumin, ApoA, CRP, haptoglobin, IgM and transthyretin : which choice? *Ann Biol Clin (Paris)* 2008 ; 66 : 63-78.
22. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Evaluation of the Dade Behring N Latex Cystatin C assay on the Dade Behring Nephelometer II System. *Scand J Clin Lab Invest* 1999 ; 59 : 1-8.
23. 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.
24. Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, et al. Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 1990 ; 268 : 287-94.
25. Jacobsson B, Lignelid H, Bergerheim US. Transthyretin and cystatin C are catabolized in proximal tubular epithelial cells and the proteins are not useful as markers for renal cell carcinomas. *Histopathology* 1995 ; 26 : 559-64.
26. Lignelid H, Collins VP, Jacobsson B. Cystatin C and transthyretin expression in normal and neoplastic tissues of the human brain and pituitary. *Acta Neuropathol (Berl)* 1997 ; 93 : 494-500.
27. Schnitter S, Rao VV, Abrahamson M, Hansmann I. Cystatin C (CST3), the candidate gene for hereditary cystatin C amyloid angiopathy (HCCAA), and other members of the cystatin gene family are clustered on chromosome 20p11.2. *Genomics* 1993 ; 16 : 50-5.
28. Grubb AO. Cystatin C--properties and use as diagnostic marker. *Adv Clin Chem* 2000 ; 35 : 63-99.
29. Galteau MM, Guyon M, Gueguen R, Siest G. Determination of serum cystatin C : biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med* 2001 ; 39 : 850-7.
30. Ichihara K, Saito K, Itoh Y. Sources of variation and reference intervals for serum cystatin C in a healthy Japanese adult population. *Clin Chem Lab Med* 2007 ; 45 : 1232-6.
31. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, et al. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int* 2004 ; 65 : 1416-21.
32. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med* 1998 ; 36 : 393-7.
33. 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.
34. Finney H, Newman DJ, Thakkar H, Fell JM, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates, and older children. *Arch Dis Child* 2000 ; 82 : 71-5.
35. Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G, et al. 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 : 1921-6.
36. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, 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.
37. 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 : 463-70.
38. Pergande M, Jung K. Sandwich enzyme immunoassay of cystatin C in serum with commercially available antibodies. *Clin Chem* 1993 ; 39 : 1885-90.
39. Bokenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Brodehl J. Reference values for cystatin C serum concentrations in children. *Pediatr Nephrol* 1998 ; 12 : 125-9.
40. Cataldi L, Mussap M, Bertelli L, Ruzzante N, Fanos V, Plebani M. Cystatin C in healthy women at term pregnancy and in their infant new-borns : relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. *Am J Perinatal* 1999 ; 16 : 287-95.
41. Randers E, Krue S, Erlandsen EJ, Danielsen H, Hansen LG. Reference interval for serum cystatin C in children. *Clin Chem* 1999 ; 45 : 1856-8.
42. Bahar A, Yilmaz Y, Unver S, Gocmen I, Karademir F. Reference values of umbilical cord and third-day cystatin C levels for determining glomerular filtration rates in newborns. *J Int Med Res* 2003 ; 31 : 231-5.
43. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW. Biological variation of cystatin C : implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 1535-9.
44. Bandaranayake N, Ankrah-Tetteh T, Wijeratne S, Swaminathan R. Intra-individual variation in creatinine and cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 2007 ; 45 : 1237-9.
45. Delanaye P, Cavalier E, Depas G, Chapelle JP, Krzesinski JM. New data on the intra-individual variation of cystatin C. *Nephron Clin Pract* 2008 ; (in press).

46. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function : new insights into old concepts. *Clin Chem* 1992 ; 38 : 1933-53.
47. Vinge E, Lindergard B, Nilsson-Ehle P, Grubb A. Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest* 1999 ; 59 : 587-92.
48. MacDonald J, Marcora S, Jibani M, et al. GFR estimation using cystatin C is not independent of body composition. *Am J Kidney Dis* 2006 ; 48 : 712-9.
49. Delanaye P, Nellessen E, Cavalier E, et al. Is cystatin C useful for the detection and the estimation of low glomerular filtration rate in heart transplant patients? *Transplantation* 2007 ; 83 : 641-4.
50. Hari P, Bagga A, Mahajan P, Lakshmy R. Effect of malnutrition on serum creatinine and cystatin C levels. *Pediatr Nephrol* 2007 ; 22 : 1757-61.
51. Le Bricon T, Leblanc I, Benlakehal M, Gay-Bellile C, Erlich D, Boudaoud S. Evaluation of renal function in intensive care : plasma cystatin C vs. creatinine and derived glomerular filtration rate estimates. *Clin Chem Lab Med* 2005 ; 43 : 953-7.
52. Pham-Huy A, Leonard M, Lepage N, Halton J, Filler G. Measuring glomerular filtration rate with cystatin C and beta-trace protein in children with spina bifida. *J Urol* 2003 ; 169 : 2312-5.
53. Bjarnadottir M, Grubb A, Olafsson I. Promoter-mediated, dexamethasone-induced increase in cystatin C production by HeLa cells. *Scand J Clin Lab Invest* 1995 ; 55 : 617-23.
54. Bokenkamp A, van Wijk JA, Lentze MJ, Stoffel-Wagner B. Effect of corticosteroid therapy on serum cystatin C and beta2-microglobulin concentrations. *Clin Chem* 2002 ; 48 : 1123-6.
55. Cimerman N, Brguljan PM, Krasovec M, Suskovic S, Kos J. Serum cystatin C, a potent inhibitor of cysteine proteinases, is elevated in asthmatic patients. *Clin Chim Acta* 2000 ; 300 : 83-95.
56. 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 : 2055-9.
57. 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 : 1558-9.
58. Fricker M, Wiesli P, Brandie M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 2003 ; 63 : 1944-7.
59. Jayagopal V, Keevil BG, Atkin SL, Jennings PE, Kilpatrick ES. Paradoxical changes in cystatin C and serum creatinine in patients with hypo-and hyperthyroidism. *Clin Chem* 2003 ; 49 : 680-1.
60. Manetti L, Pardini E, Genovesi M, et al. Thyroid function differently affects serum cystatin C and creatinine concentrations. *J Endocrinol Invest* 2005 ; 28 : 346-9.
61. Wiesli P, Schwegler B, Spinass GA, Schmid C. Serum cystatin C is sensitive to small changes in thyroid function. *Clin Chim Acta* 2003 ; 338 : 87-90.
62. Randers E, Kornerup K, Erlandsen EJ, Hasling C, Danielsen H. Cystatin C levels in sera of patients with acute infectious diseases with high C-reactive protein levels. *Scand J Clin Lab Invest* 2001 ; 61 : 333-5.
63. Kitamura H, Kamon H, Sawa S, et al. IL-6-STAT3 controls intracellular MHC class II alpha beta dimer level through cathepsin S activity in dendritic cells. *Immunity* 2005 ; 23 : 491-502.
64. Tenstad O, Roald AB, Grubb A, Aukland K. Renal handling of radio-labelled human cystatin C in the rat. *Scand J Clin Lab Invest* 1996 ; 56 : 409-14.
65. Kaseda R, Iino N, Hosojima M, et al. Megalin-mediated endocytosis of cystatin C in proximal tubule cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007 ; 357 : 1130-4.
66. Odera K, Goto S, Takahashi R. Age-related change of endocytic receptors megalin and cubilin in the kidney in rats. *Biogerontology* 2007 ; 8 : 505-15.
67. Zhai XY, Nielsen R, Birn H, et al. Cubilin- and megalin-mediated uptake of albumin in cultured proximal tubule cells of opossum kidney. *Kidney Int* 2000 ; 58 : 1523-33.
68. van Rossum LK, Zietse R, Vulto AG, de Rijke YB. Renal extraction of cystatin C vs 125I-iothalamate in hypertensive patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 1253-6.
69. Delanaye P, Cavalier E, Chapelle JP, Krzesinski JM, Froissart M. Renal extraction of cystatin C. *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 3333.
70. Ix JH. Utility of cystatin C measurement--precision or secretion? *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 3614.
71. Poge U, Gerhardt T, Woitas RP. Renal handling of cystatin C. *Nephrol Dial Transplant* 2007 ; 22 : 1267-8.
72. Conti M, Moutereau S, Zater M, et al. Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction. *Clin Chem Lab Med* 2006 ; 44 : 288-91.
73. Uchida K, Gotoh A. Measurement of cystatin C and creatinine in urine. *Clin Chim Acta* 2002 ; 323 : 121-8.
74. Conti M, Zater M, Lallali K, et al. Absence of circadian variations in urine cystatin C allows its use on urinary samples. *Clin Chem* 2005 ; 51 : 272-3.
75. Herget-Rosenthal S, van Wijk JA, Brocker-Preuss M, Bokenkamp A. Increased urinary cystatin C reflects structural and functional renal tubular impairment independent of glomerular filtration rate. *Clin Biochem* 2007 ; 40 : 946-51.

76. Thielemans N, Lauwerys R, Bernard A. Competition between albumin and low-molecular-weight proteins for renal tubular uptake in experimental nephropathies. *Nephron* 1994 ; 66 : 453-8.
77. Tkaczyk M, Nowicki M, Lukamowicz J. Increased cystatin C concentration in urine of nephrotic children. *Pediatr Nephrol* 2004 ; 19 : 1278-80.
78. Dharmidharka 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 : 221-6.
79. Roos JF, Doust J, Tett SE, Kirkpatrick CM. Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children--a meta-analysis. *Clin Biochem* 2007 ; 40 : 383-91.
80. Bokenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Bro-dehl J. Cystatin C--a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics* 1998 ; 101 : 875-81.
81. Beauvieux MC, Le Moigne F, Lasseur C, et al. New predictive equations improve monitoring of kidney function in patients with diabetes. *Diabetes Care* 2007 ; 30 : 1988-94.
82. Ma YC, Zuo L, Chen JH, et al. Improved GFR estimation by combined creatinine and cystatin C measurements. *Kidney Int* 2007 ; 72 : 1535-42.
83. Macisaac RJ, Tsalamandris C, Thomas MC, et al. Estimating glomerular filtration rate in diabetes : a comparison of cystatin C- and creatinine-based methods. *Diabetologia* 2006 ; 49 : 1686-9.
84. Poge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B, KlehrHU, Sauerbruch T, Woitas RP. Calculation of glomerular filtration rate based on cystatin C in cirrhotic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 660-4.
85. Risch L, Drexel H, Huber AR. Differences in glomerular filtration rate estimates by 2 cystatin C-based equations. *Clin Chem* 2005 ; 51 : 2211-2.
86. Rule AD, Bergstralh EJ, Slezak JM, Bergert J, Larson TS. Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations. *Kidney Int* 2006 ; 69 : 399-405.
87. Bouvet Y, Bouissou F, Coulais Y, et al. GFR is better estimated by considering both serum cystatin C and creatinine levels. *Pediatr Nephrol* 2006 ; 21 : 1299-306.
88. Zappitelli M, Parvex P, Joseph L, et al. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. *Am J Kidney Dis* 2006 ; 48 : 221-30.
89. Rigalleau V, Beauvieux MC, Lasseur C, et al. The combination of cystatin C and serum creatinine improves the monitoring of kidney function in patients with diabetes and chronic kidney disease. *Clin Chem* 2007 ; 53 : 1988-9.
90. Stevens LA, Coresh J, Schmid CH, et al. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine : a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *Am J Kidney Dis* 2008 ; (in press).
91. Herget-Rosenthal S, Bokenkamp A, Hofmann W. How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations? *Clin Biochem* 2007 ; 40 : 153-61.
92. Madero M, Sarnak MJ, Stevens LA. Serum cystatin C as a marker of glomerular filtration rate. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006 ; 15 : 610-6.
93. Filler G, Foster J, Acker A, Lepage N, Akbari A, Ehrich JH. The Cockcroft-Gault formula should not be used in children. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 2321-4.
94. Grubb A, Nyman U, Bjork J, et al. Simple cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem* 2005 ; 51 : 1420-31.
95. Zahran A, Qureshi M, Shoker A. Comparison between creatinine and cystatin C-based GFR equations in renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2007 ; 22 : 2659-68.
96. Gerhardt T, Poge U, Stoffel-Wagner B, et al. Estimation of glomerular filtration rates after orthotopic liver transplantation : Evaluation of cystatin C-based equations. *Liver Transpl* 2006 ; 12 : 1667-72.
97. Mariat C, Maillard N, Phayphet M, et al. Estimated glomerular filtration rate as an end point in Kidney transplant trial : where do we Stand? *Nephrol Dial Transplant* 2008 ; 23 : 33-8.
98. White C, Akbari A, Hussain N, et al. Estimating glomerular filtration rate in kidney transplantation : a comparison between serum creatinine and cystatin C-based methods. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 3763-70.
99. Benohr P, Grenz A, Hartmann JT, Muller GA, Blaschke S. Cystatin C--a marker for assessment of the glomerular filtration rate in patients with cisplatin chemotherapy. *Kidney Blood Press Res* 2006 ; 29 : 32-5.
100. Coresh J, Eknoyan G, Levey AS. Estimating the prevalence of low glomerular filtration rate requires attention to the creatinine assay calibration. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 2811-2.
101. Delanaye P, Cavalier E, Krzesinski JM, Chapelle JP. Why the MDRD equation should not be used in patients with normal renal function (and normal creatinine values)? *Clin Nephrol* 2006 ; 66 : 147-8.
102. Delanaye P, Cavalier E, Krzesinski JM, Mariat C. Cystatin C-based equations : Don't repeat the same errors with analytical considerations. *Nephrol Dial Transplant* 2008 ; (in press).
103. Lambermont B, D'Orio V. Cystatin C blood level as a risk factor for death after heart surgery. *Eur Heart J* 2007 ; 28 : 2818.

104. Larsson A, Malm J, Grubb A, Hansson LO. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest* 2004 ; 64 : 25-30.
105. Filler G, Priem F, Lepage N, et al. Beta-trace protein, cystatin C, beta(2)-microglobulin, and creatinine compared for detecting impaired glomerular filtration rates in children. *Clin Chem* 2002 ; 48 : 729-36.
106. Piepsz A, Tondeur M, Ham H. Revisiting normal (51)Cr-ethylenediaminetetraacetic acid clearance values in children. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006 ; 33 : 1477-82.
107. Martini S, Prevot A, Mosig D, Werner D, van Melle G, Guignard JP. Glomerular filtration rate : measure creatinine and height rather than cystatin C! *Acta Paediatr* 2003 ; 92 : 1052-7.
108. Arant Jr. BS. Estimating glomerular filtration rate in infants. *J Pediatr* 1984 ; 104 : 890-3.
109. James GD, Sealey JE, Alderman M, et al. A longitudinal study of urinary creatinine and creatinine clearance in normal subjects. Race, sex, and age differences. *Am J Hypertens* 1988 ; 1 : 124-31.
110. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann Jr. CM, Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976 ; 58 : 259-63.
111. Filler G, Pham-Huy A. Cystatin C should be measured in pediatric renal transplant patients! *Pediatr Transplant* 2002 ; 6 : 357-60.
112. Helin I, Axenram M, Grubb A. Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol* 1998 ; 49 : 221-5.
113. Samyn M, Cheeseman P, Bevis L, et al. Cystatin C, an easy and reliable marker for assessment of renal dysfunction in children with liver disease and after liver transplantation. *Liver Transpl* 2005 ; 11 : 344-9.
114. Ylinen EA, Ala-Houhala M, Harmoinen AP, Knip M. Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in pediatric patients. *Pediatr Nephrol* 1999 ; 13 : 506-9.
115. Filler G, Priem F, Vollmer I, Gellermann J, Jung K. Diagnostic sensitivity of serum cystatin for impaired glomerular filtration rate. *Pediatr Nephrol* 1999 ; 13 : 501-5.
116. Krieser D, Rosenberg AR, Kainer G, Naidoo D. The relationship between serum creatinine, serum cystatin C and glomerular filtration rate in pediatric renal transplant recipients : a pilot study. *Pediatr Transplant* 2002 ; 6 : 392-5.
117. Stickle D, Cole B, Hock K, Hruska KA, Scott MG. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 1334-8.
118. Willems HL, Hilbrands LB, van de Calseyde JF, Monnens LA, Swinkels DW. Is serum cystatin C the marker of choice to predict glomerular filtration rate in paediatric patients? *Ann Clin Biochem* 2003 ; 40 : 60-4.
119. Bokenkamp A, Domanezki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. *Clin Chem* 1999 ; 45 : 1866-8.
120. Filler G, Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 2003 ; 18 : 981-5.
121. Wilkinson AH, Cohen DJ. Renal failure in the recipients of nonrenal solid organ transplants. *J Am Soc Nephrol* 1999 ; 10 : 1136-44.
122. Kasiske BL. Creatinine excretion after renal transplantation. *Transplantation* 1989 ; 48 : 424-8.
123. Tomlanovich S, Golbetz H, Perloth M, Stinson E, Myers BD. Limitations of creatinine in quantifying the severity of cyclosporine-induced chronic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1986 ; 8 : 332-7.
124. Biancifiore G, Pucci L, Cerutti E, et al. Cystatin C as a marker of renal function immediately after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006 ; 12 : 285-91.
125. Christensson A, Ekberg J, Grubb A, Ekberg H, Lindstrom V, Lilja H. Serum cystatin C is a more sensitive and more accurate marker of glomerular filtration rate than enzymatic measurements of creatinine in renal transplantation. *Nephron Physiol* 2003 ; 94 : 19-27.
126. Le Bricon T, Thervet E, Froissart M, 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 : 1206-7.
127. 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.
128. Poge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B, et al. Prediction of glomerular filtration rate in renal transplant recipients : cystatin C or modification of diet in renal disease equation? *Clin Transplant* 2006 ; 20 : 200-5.
129. Daniel JP, Chantrel F, Offner M, Moulin B, Hannedouche T. Comparison of cystatin C, creatinine and creatinine clearance vs. GFR for detection of renal failure in renal transplant patients. *Ren Fail* 2004 ; 26 : 253-7.
130. Delanaye P, Nellessen E, Grosch S, et al. Creatinine-based formulae for the estimation of glomerular filtration rate in heart transplant recipients. *Clin Transplant* 2006 ; 20 : 596-603.
131. Mariat C, Alamartine E, Barthelemy JC, et al. Assessing renal graft function in clinical trials : can tests predicting glomerular filtration rate substitute for a reference method? *Kidney Int* 2004 ; 65 : 289-97.
132. Poggio ED, Batty DS, Flechner SM. Evaluation of renal function in transplantation. *Transplantation* 2007 ; 84 : 131-6.
133. Poge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B, et al. Cystatin C-based calculation of glomerular filtration rate in kidney transplant recipients. *Kidney Int* 2006 ; 70 : 204-10.

134. White C, Akbari A, Hussain N, *et al.* Chronic kidney disease stage in renal transplantation classification using cystatin C and creatinine-based equations. *Nephrol Dial Transplant* 2007 ; 22 : 3013-20.
135. Lipscombe LL, Hux JE. Trends in diabetes prevalence, incidence, and mortality in Ontario, Canada 1995-2005 : a population-based study. *Lancet* 2007 ; 369 : 750-6.
136. Christensson AG, Grubb AO, Nilsson JA, Norrgren K, Sterner G, Sundkvist G. Serum cystatin C advantageous compared with serum creatinine in the detection of mild but not severe diabetic nephropathy *J Intern Med* 2004 ; 256 : 510-8.
137. Harmoinen AP, Kouri TT, Wirta OR, *et al.* Evaluation of plasma cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes. *Clin Nephrol* 1999 ; 52 : 363-70.
138. Macisaac RJ, Tsalamandris C, Thomas MC, *et al.* The accuracy of cystatin C and commonly used creatinine-based methods for detecting moderate and mild chronic kidney disease in diabetes. *Diabet Med* 2007 ; 24 : 443-8.
139. Mussap M, Dalla VM, Fioretto P, *et al.* Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 2002 ; 61 : 1453-61.
140. Oddoze C, Morange S, Portugal H, Berland Y, Dussol B. Cystatin C is not more sensitive than creatinine for detecting early renal impairment in patients with diabetes. *Am J Kidney Dis* 2001 ; 38 : 310-6.
141. Perlemoine C, Beauvieux MC, Rigalleau V, *et al.* Interest of cystatin C in screening diabetic patients for early impairment of renal function. *Metabolism* 2003 ; 52 : 1258-64.
142. Pucci L, Triscornia S, Lucchesi D, *et al.* Cystatin C and estimates of renal function : searching for a better measure of kidney function in diabetic patients. *Clin Chem* 2007 ; 53 : 480-8.
143. Couchoud C, Pozet N, Labeeuw M, Pouteil-Noble C. Screening early renal failure : cut-off values for serum creatinine as an indicator of renal impairment. *Kidney Int* 1999 ; 55 : 1878-84.
144. Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2003 ; 18 : 2024-31.
145. Perkins BA, Nelson RG, Ostrander BE, *et al.* Detection of renal function decline in patients with diabetes and normal or elevated GFR by serial measurements of serum cystatin C concentration : results of a 4-year follow-up study. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 1404-12.
146. Nelson RG, Bennett PH, Beck GJ, *et al.* Development and progression of renal disease in Pima Indians with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetic Renal Disease Study Group. *N Engl J Med* 1996 ; 335 : 1636-42.
147. Tan GD, Lewis AV, James TJ, Altmann P, Taylor RP, Levy JC. Clinical usefulness of cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in type 1 diabetes : reproducibility and accuracy compared with standard measures and iohexol clearance. *Diabetes Care* 2002 ; 25 : 2004-9.
148. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease : evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002 ; 39 : S1-266.
149. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, *et al.* Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA* 2007 ; 298 : 2038-47.
150. Froissart M, Rossert J. Comment estimer la fonction rénale chez le sujet âgé? *Rev Prat* 2005 ; 55 : 2223-9.
151. Coresh J, Astor B. Decreased kidney function in the elderly : clinical and preclinical, neither benign. *Ann Intern Med* 2006 ; 145 : 299-301.
152. Hermida J, Tutor JC. Comparison of estimated glomerular filtration rates from serum creatinine and cystatin C in patients with impaired creatinine production. *Clin Lab (Zaragoza)* 2006 ; 52 : 483-90.
153. Poggio ED, Nef PC, Wang X, *et al.* Performance of the Cockcroft-Gault and modification of diet in renal disease equations in estimating GFR in ill hospitalized patients. *Am J Kidney Dis* 2005 ; 46 : 242-52.
154. Stevens LA, Levey AS. Chronic kidney disease in the elderly--how to assess risk. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 2122-4.
155. Finney H, Bates C, Price CP. Plasma cystatin C determination in a healthy elderly population. *Arch Gerontol Geriatr* 2004 ; 29 : 75-94.
156. Uzun H, Ozmen KM, Ataman R, *et al.* Serum cystatin C level as a potentially good marker for impaired kidney function. *Clin Biochem* 2005 ; 38 : 792-8.
157. WasenE, Isoaho R, Mattila K, Vahlberg T, KivelaSL, Irjala K. Serum cystatin C in the aged : relationships with health status. *Am J Kidney Dis* 2003 ; 42 : 36-43.
158. WasenE, Isoaho R, MattilaK, Vahlberg T, KivelaSL, IrjalaK. Renal impairment associated with diabetes in the elderly. *Diabetes Care* 2004 ; 27 : 2648-53.
159. Keller CR, Odden MC, Fried LF, *et al.* Kidney function and markers of inflammation in elderly persons without chronic kidney disease : the health, aging, and body composition study. *Kidney Int* 2007 ; 71 : 239-44.
160. Shlipak MG, Katz R, Cushman M, *et al.* Cystatin C and inflammatory markers in the ambulatory elderly. *Am J Med* 2005 ; 118 : 1416.
161. Singh D, Whooley MA, Ix JH, Ali S, Shlipak MG. Association of cystatin C and estimated GFR with inflammatory biomarkers : the Heart and Soul Study. *Nephrol Dial Transplant* 2007 ; 22 : 1087-92.
162. Cathcart HM, Huang R, Lanham IS, Corder EH, Poduslo SE. Cystatin C as a risk factor for Alzheimer disease. *Neurology* 2005 ; 64 : 755-7.
163. Chuo LJ, Sheu WH, Pai MC, Kuo YM. Genotype and plasma concentration of cystatin C in patients with late-onset Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007 ; 23 : 251-7.

164. Lin C, Wang ST, Wu CW, Chuo LJ, Kuo YM. The association of a cystatin C gene polymorphism with late-onset Alzheimer's disease and vascular dementia. *Chin J Physiol* 2003 ; 46 : 111-5.
165. Ramel A, Jonsson PV, Bjornsson S, Thorsdottir I. Differences in the Glomerular Filtration Rate Calculated by Two Creatinine-Based and Three Cystatin-C-Based Formulae in Hospitalized Elderly Patients. *Nephron Clin Pract* 2007 ; 108 : c16-c22.
166. Wasen E, Isoaho R, Mattila K, Vahlberg T, Kivela SL, Irjala K. Estimation of glomerular filtration rate in the elderly : a comparison of creatinine-based formulae with serum cystatin C. *J Intern Med* 2004 ; 256 : 70-8.
167. Hojs R, Bevc S, Antolinc B, Gorenjak M, Puklavec L. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in the elderly. *Int J Clin Pharmacol Res* 2004 ; 24 : 49-54.
168. Fliser D, Ritz E. Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. *Am J Kidney Dis* 2001 ; 37 : 79-83.
169. O'Riordan SE, Webb MC, Stowe HJ, et al. Cystatin C improves the detection of mild renal dysfunction in older patients. *Ann Clin Biochem* 2003 ; 40 : 648-55.
170. Burkhardt H, Bojarsky G, Gladisch R. Diagnostic efficiency of cystatin C and serum creatinine as markers of reduced glomerular filtration rate in the elderly. *Clin Chem Lab Med* 2002 ; 40 : 1135-8.
171. Van Den Noortgate NJ, Janssens WH, Delanghe JR, Afschrift MB, Lameire NH. Serum cystatin C concentration compared with other markers of glomerular filtration rate in the old old. *J Am Geriatr Soc* 2002 ; 50 : 1278-82.
172. Tourret J, Tostivint I, du Montcel ST, et al. Outcome and prognosis factors in HIV-infected hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006 ; 1 : 1241-7.
173. Cheung CY, Wong KM, Lee MP, et al. Prevalence of chronic kidney disease in Chinese HIV-infected patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007 ; 22 : 3186-90.
174. Choi AI, Rodriguez RA, Bacchetti P, Bertenthal D, Volberding PA, O'Hare AM. Racial differences in end-stage renal disease rates in HIV infection versus diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 2968-74.
175. Mocroft A, Kirk O, Gatell J, et al. Chronic renal failure among HIV-1-infected patients. *AIDS* 2007 ; 21 : 1119-27.
176. Szczech LA, Gupta SK, Habash R, et al. The clinical epidemiology and course of the spectrum of renal diseases associated with HIV infection. *Kidney Int* 2004 ; 66 : 1145-52.
177. Lucas GM, Mehta SH, Atta MG, et al. End-stage renal disease and chronic kidney disease in a cohort of African-American HIV-infected and at-risk HIV-seronegative participants followed between 1988 and 2004. *AIDS* 2007 ; 21 : 2435-43.
178. Krawczyk CS, Holmberg SD, Moorman AC, Gardner LI, McGwin-Jr. G. Factors associated with chronic renal failure in HIV-infected ambulatory patients. *AIDS* 2004 ; 18 : 2171-8.
179. Gupta SK, Eustace JA, Winston JA, et al. Guidelines for the management of chronic kidney disease in HIV-infected patients : recommendations of the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2005 ; 40 : 1559-85.
180. Rule AD, Cohen SD, Kimmel PL. Editorial comment : screening for chronic kidney disease requires creatinine references ranges not equations. *AIDS Read* 2007 ; 17 : 262-3.
181. Winston JA. Assessing kidney function in HIV infection. *AIDS Read* 2007 ; 17 : 257-61 ; (264).
182. Visnegarwala F, Shlay JC, Barry V, et al. Effects of HIV infection on body composition changes among men of different racial/ethnic origins. *HIV Clin Trials* 2007 ; 8 : 145-54.
183. Jaroszewicz J, Wiercinska-Drapalo A, Lapinski TW, Prokopowicz D, Rogalska M, Parfieniuk A. Does HAART improve renal function? An association between serum cystatin C concentration, HIV viral load and HAART duration. *Antivir Ther* 2006 ; 11 : 641-5.
184. Odden MC, Scherzer R, Bacchetti P, et al. Cystatin C level as a marker of kidney function in human immunodeficiency virus infection : the FRAM study. *Arch Intern Med* 2007 ; 167 : 2213-9.
185. Hermida J, Romero R, Tutor JC. Serum cystatin C-immunoglobulin high-molecular-weight complexes in kidney and liver transplant patients. *Kidney Int* 2001 ; 60 : 1561-4.
186. Orlando R, Mussap M, Plebani, et al. Diagnostic value of plasma cystatin C as a glomerular filtration marker in decompensated liver cirrhosis. *Clin Chem* 2002 ; 48 : 850-8.
187. Woitas RP, Stoffel-Wagner B, Flommersfeld S, et al. Correlation of serum concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in liver cirrhosis. *Clin Chem* 2000 ; 46 : 712-5.
188. Ustundag Y, Samsar U, Acikgoz S, et al. Analysis of glomerular filtration rate, serum cystatin C levels, and renal resistive index values in cirrhosis patients. *Clin Chem Lab Med* 2007 ; 45 : 890-4.
189. Gerbes AL, Gulberg V, Bilzer M, Vogeser M. Evaluation of serum cystatin C concentration as a marker of renal function in patients with cirrhosis of the liver. *Gut* 2002 ; 50 : 106-10.
190. Heilman RL, Mazur MJ. Cystatin C as a more sensitive indicator of diminished glomerular filtration rate. *Liver Transpl* 2005 ; 11 : 264-6.
191. Ling Q, Xu X, Li JJ, Chen J, Shen JW, Zheng SS. Alternative definition of acute kidney injury following liver transplantation : based on serum creatinine and cystatin C levels. *Transplant Proc* 2007 ; 39 : 3257-60.
192. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology* 2003 ; 124 : 91-6.
193. Owen LJ, Keevil BG. Does bilirubin cause interference in Roche creatinine methods? *Clin Chem* 2007 ; 53 : 370-1.

194. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998 ; 32 : S112-S119.
195. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 1296-305.
196. Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, *et al*. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 2049-60.
197. Shi GP, Sukhova GK, Grubb A, *et al*. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms. *J Clin Invest* 1999 ; 104 : 1191-7.
198. Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, *et al*. Increased expression of elastolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, in the neointima of balloon-injured rat carotid arteries. *Am J Pathol* 2004 ; 164 : 243-51.
199. Bengtsson E, To F, Hakansson K, *et al*. Lack of the cysteine protease inhibitor cystatin C promotes atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005 ; 25 : 2151-6.
200. Sukhova GK, Wang B, Libby P, *et al*. Cystatin C deficiency increases elastic lamina degradation and aortic dilatation in apolipoprotein E-null mice. *Circ Res* 2005 ; 96 : 368-75.
201. Eriksson P, Deguchi H, Samnegard A, *et al*. Human evidence that the cystatin C gene is implicated in focal progression of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004 ; 24 : 551-7.
202. Loew M, Hoffmann MM, Koenig W, Brenner H, Rothenbacher D. Genotype and plasma concentration of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005 ; 25 : 1470-4.
203. Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Plasma concentrations of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events : more than simply a marker of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 2005 ; 51 : 321-7.
204. Shlipak MG, Katz R, Fried LF, *et al*. Cystatin C and mortality in elderly persons with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2005 ; 45 : 268-71.
205. Deo R, Fyr CL, Fried LF, *et al*. Kidney dysfunction and fatal cardiovascular disease--an association independent of atherosclerotic events : results from the Health, Aging, and Body Composition (Health ABC) study. *Am Heart J* 2008 ; 155 : 62-8.
206. Jernberg T, Lindahl B, James S, Larsson A, Hansson LO, Wallentin L. Cystatin C : a novel predictor of outcome in suspected or confirmed non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation* 2004 ; 110 : 2342-8.
207. Larsson A, Helmersson J, Hansson LO, Basu S. Increased serum cystatin C is associated with increased mortality in elderly men. *Scand J Clin Lab Invest* 2005 ; 65 : 301-5.
208. Lassus J, Harjola VP, Sund R, *et al*. Prognostic value of cystatin C in acute heart failure in relation to other markers of renal function and NT-proBNP. *Eur Heart J* 2007 ; 28 : 1841-7.
209. Menon V, Shlipak MG, Wang X, *et al*. Cystatin C as a risk factor for outcomes in chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2007 ; 147 : 19-27.
210. Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, *et al*. Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2006 ; 145 : 237-46.
211. Luc G, Bard JM, Lesueur C, *et al*. Plasma cystatin C and development of coronary heart disease : The PRIME Study. *Atherosclerosis* 2006 ; 185 : 375-80.
212. Seliger SL, Longstreth Jr. WT, Katz R, *et al*. Cystatin C and subclinical brain infarction. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 3721-7.
213. O'Hare AM, Newman AB, Katz R, *et al*. Cystatin C and incident peripheral arterial disease events in the elderly : results from the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med* 2005 ; 165 : 2666-70.
214. Rodondi N, Yerly P, Gabriel A, *et al*. Microalbuminuria, but not cystatin C, is associated with carotid atherosclerosis in middle-aged adults. *Nephrol Dial Transplant* 2007 ; 22 : 1107-14.
215. Ix JH, Shlipak MG, Chertow GM, Ali S, Schiller NB, Whooley MA. Cystatin C, left ventricular hypertrophy, and diastolic dysfunction : data from the Heart and Soul Study. *J Card Fail* 2006 ; 12 : 601-7.
216. Shlipak MG, Wassel Fyr CL, Chertow GM, *et al*. Cystatin C and mortality risk in the elderly : the health, aging, and body composition study. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 254-61.
217. Sarnak MJ, Katz R, Stehman-Breen CO, *et al*. Cystatin C concentration as a risk factor for heart failure in older adults. *Ann Intern Med* 2005 ; 142 : 497-505.
218. McManus D, Shlipak M, Ix JH, Ali S, Whooley MA. Association of cystatin C with poor exercise capacity and heart rate recovery : data from the heart and soul study. *Am J Kidney Dis* 2007 ; 49 : 365-72.
219. Shlipak MG, Praught ML, Sarnak MJ. Update on cystatin C : new insights into the importance of mild kidney dysfunction. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006 ; 15 : 270-5.
220. Larsson A, Helmersson J, Hansson LO, Basu S. Serum cystatin C is associated with other cardiovascular risk markers and cardiovascular disease in elderly men. *Int J Cardiol* 2008 ; 125 : 263-4.
221. Ogawa Y, Goto T, Tamasawa N, *et al*. Serum cystatin C in diabetic patients Not only an indicator for renal dysfunction in patients with overt nephropathy but also a predictor for cardiovascular events in patients without nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2008 ; 79 : 357-61.
222. Bokenkamp A, Herget-Rosenthal S, Bokenkamp R. Cystatin C, kidney function and cardiovascular disease. *Pediatr Nephrol* 2006 ; 21 : 1223-30.

223. Fried LF, Katz R, Sarnak MJ, *et al.* Kidney function as a predictor of noncardiovascular mortality. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 3728-35.
224. Niccoli G, Conte M, Bona RD, *et al.* Cystatin C is associated with an increased coronary atherosclerotic burden and a stable plaque phenotype in patients with ischemic heart disease and normal glomerular filtration rate. *Atherosclerosis* 2007 ; 3 Nov : Epub ahead of print.
225. Khan A, Krishna M, Baker SP, Malhothra R, Banner BE. Cathepsin B expression and its correlation with tumor-associated laminin and tumor progression in gastric cancer. *Arch Pathol Lab Med* 1998 ; 122 : 172-7.
226. Sukoh N, Abe S, Ogura S, *et al.* Immunohistochemical study of cathepsin B. Prognostic significance in human lung cancer. *Cancer* 1994 ; 74 : 46-51.
227. Budihna M, Skrk J, Zakotnik B, Gabrijelcic D, Lindtner J. Prognostic value of total cathepsin B in invasive ductal carcinoma of the breast. *Eur J Cancer* 1995 ; 31A : 661-4.
228. Budihna M, Strojjan P, Smid L, *et al.* Prognostic value of cathepsins B, H, L, D and their endogenous inhibitors stefins A and B in head and neck carcinoma. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1996 ; 377 : 385-90.
229. Konduri SD, Yanamandra N, Siddique K, *et al.* Modulation of cystatin C expression impairs the invasive and tumorigenic potential of human glioblastoma cells. *Oncogene* 2002 ; 21 : 8705-12.
230. Strojjan P, Oblak I, Svetic B, Smid L, Kos J. Cysteine proteinase inhibitor cystatin C in squamous cell carcinoma of the head and neck : relation to prognosis. *Br J Cancer* 2004 ; 90 : 1961-8.
231. Jiborn T, Abrahamson M, Gadaleanu V, Lundwall A, Bjartell A. Aberrant expression of cystatin C in prostate cancer is associated with neuroendocrine differentiation. *BJU Int* 2006 ; 98 : 189-96.
232. Sokol JP, Schiemann WP. Cystatin C antagonizes transforming growth factor beta signaling in normal and cancer cells. *Mol Cancer Res* 2004 ; 2 : 183-95.
233. Sokol JP, Neil JR, Schiemann BJ, Schiemann WP. The use of cystatin C to inhibit epithelial-mesenchymal transition and morphological transformation stimulated by transforming growth factor-beta. *Breast Cancer Res* 2005 ; 7 : R844-R853.
234. Huh CG, Hakansson K, Nathanson CM, *et al.* Decreased metastatic spread in mice homozygous for a null allele of the cystatin C protease inhibitor gene. *Mol Pathol* 1999 ; 52 : 332-40.
235. Kos J, Krasovec M, Cimerman N, Nielsen HJ, Christensen IJ, Brunner N. Cysteine proteinase inhibitors stefin A, stefin B, and cystatin C in sera from patients with colorectal cancer : relation to prognosis. *Clin Cancer Res* 2000 ; 6 : 505-11.
236. Nishikawa H, Ozaki Y, Nakanishi T, *et al.* The role of cathepsin B and cystatin C in the mechanisms of invasion by ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004 ; 92 : 881-6.
237. Tumminello FM, Flandina C, Crescimanno M, Leto G. Circulating cathepsin K and cystatin C in patients with cancer related bone disease : Clinical and therapeutic implications. *Biomed Pharmacother* 2008 ; 62 : 130-5.
238. Kos J, Stabuc B, Cimerman N, Brunner N. Serum cystatin C, a new marker of glomerular filtration rate, is increased during malignant progression. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 2556-7.
239. Mulaomerovic A, Halilbasic A, Cickusic E, Zavasnik-Bergant T, Begic L, Kos J. Cystatin C as a potential marker for relapse in patients with non-Hodgkin B-cell lymphoma. *Cancer Lett* 2007 ; 248 : 192-7.
240. Strojjan P, Svetic B, Smid L, Kos J. Serum cystatin C in patients with head and neck carcinoma. *Clin Chim Acta* 2004 ; 344 : 155-61.
241. Stabuc B, Vrhovec L, Stabuc-Silih M, Cizej TE. Improved prediction of decreased creatinine clearance by serum cystatin C : use in cancer patients before and during chemotherapy. *Clin Chem* 2000 ; 46 : 193-7.
242. Al Tombarry YA, Hammad AM, Zaghoul HM, El Sayed HE, Abu-Hashem E. Pretreatment cystatin C in children with malignancy : Can it predict chemotherapy-induced glomerular filtration rate reduction during the induction phase? *J Pediatr Hematol Oncol* 2004 ; 26 : 336-41.
243. Mojiminiyi OA, Marouf R, Abdella N, Kortom M, Abdul-Razzak R. Serum concentration of cystatin C is not affected by cellular proliferation in patients with proliferative haematological disorders. *Ann Clin Biochem* 2002 ; 39 : 308-10.
244. Demirtas S, Akan O, Can M, Elmali E, Akan H. Cystatin C can be affected by nonrenal factors : a preliminary study on leukemia. *Clin Biochem* 2006 ; 39 : 115-8.
245. Seronie-Vivien S, Toullec S, Malard L, Thomas F, Durrand V, Chatelut E. Contribution of the MDRD equation and of cystatin C for renal function estimates in cancer patients. *Med Oncol* 2006 ; 23 : 63-73.
246. Lankisch P, Wessalowski R, Maisonneuve P, Hagghu M, Hermsen D, Kramm CM. Serum cystatin C is a suitable marker for routine monitoring of renal function in pediatric cancer patients, especially of very young age. *Pediatr Blood Cancer* 2006 ; 46 : 767-72.
247. O'Riordan S, Ouldred E, Brice S, Jackson SH, Swift CG. Serum cystatin C is not a better marker of creatinine or digoxin clearance than serum creatinine. *Br J Clin Pharmacol* 2002 ; 53 : 398-402.
248. Hallberg P, Melhus H, Hansson LO, Larsson A. Cystatin C vs creatinine as markers of renal function in patients on digoxin treatment. *Ups J Med Sci* 2004 ; 109 : 247-53.
249. Hoppe A, Seronie-Vivien S, Thomas F, *et al.* Serum cystatin C is a better marker of topotecan clearance than serum creatinine. *Clin Cancer Res* 2005 ; 11 : 3038-44.
250. Thomas F, Seronie-Vivien S, Gladieff L, *et al.* Cystatin C as a new covariate to predict renal elimination of drugs : application to carboplatin. *Clin Pharmacokinet* 2005 ; 44 : 1305-16.
251. Viberg A, Lannergard A, Larsson A, Cars O, Karlsson MO, Sandstrom M. A population pharmacokinetic model for cefuroxime using cystatin C as a marker of renal function. *Br J Clin Pharmacol* 2006 ; 62 : 297-303.

- 252.** Tanaka A, Suemaru K, Otsuka T, *et al.* Estimation of the initial dose setting of vancomycin therapy with use of cystatin C as a new marker of renal function. *Ther Drug Monit* 2007 ; 29 : 261-4.
- 253.** Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, *et al.* Definition and classification of chronic kidney disease : a position statement from Kidney Disease : Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005 ; 67 : 2089-100.
- 254.** Filler G, Witt I, Priem F, Ehrich JH, Jung K. 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 : 1077-8.
- 255.** Harmoinen A, Ylinen E, Ala-Houhala M, Janas M, Kaila M, Kou-ri T. Reference intervals for cystatin C in pre- and full-term infants and children. *Pediatr Nephrol* 2000 ; 15 : 105-8.
- 256.** Fischbach M, Graff V, Terzic J, Bergere V, Oudet M, Hamel G. Impact of age on reference values for serum concentration of cystatin C in children. *Pediatr Nephrol* 2002 ; 17 : 104-6.
- 257.** Sjostrom P, Tidman M, Jones I. Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the glomerular filtration rate from the serum concentration of cystatin C in humans. *Scand J Clin Lab Invest* 2005 ; 65 : 111-24.