

دراسة اختبار السيستاتين C المصلي كواسم جديد أكثر حساسية ونوعية من الكرياتينين في تقييم التصفية الكلوية والفشل الكلوي المبكر - خبرة مشفى الأسد الجامعي باللاذقية

* الدكتور بسام عابدين

* الدكتور حسين سعيد *

كندة الخير ***

(قبل للنشر في 2004/9/7)

□ الملخص □

ما فوق عائلة السيستاتينات هي مثبطات السيستئين تنتوزع بشكل واسع في أنسجة وسوائل البدن ويعتبر السيستاتين C أهمها من الناحية الكيميائية السريرية والطبية. يزن السيستاتين C جزئياً 13260 دالتون ويتألف من 120 حمض أميني ويفتقر للسكريات ويحتوي على جسرين ثنائيي الكبريت يتوضعان بالقرب من المطراف الكربوكسيلي. اقترح السيستاتين C المصلي (CYC C) كواسم مناسب لمعدل الرشح الكبيبي (GFR).

تمت مقارنة السيستاتين C المصلي مع كرياتينين المصل (S.C) و تصفية الكرياتينين (C.C) كاختبارات لتحري الوظيفة الكلوية في الداء السكري نمط 2.

تضمن البحث 82 شخصاً (43 ذكر و 39 أنثى) تزيد أعمارهم عن 50 سنة وقد تم تصنيفهم ضمن المجموعات التالية:
المجموعة 1: تتضمن 20 شخصاً طبيعياً (10 ذكور و 10 إناث). المجموعة 2: تتألف من 41 مريضاً سكرياً نمط 2 بإصابة سكرية أكثر من 10 سنوات (23 ذكر و 18 أنثى) مع قيمة كرياتينين مصل بين 0.5 و 1.5 ملغ / د.ل. المجموعة 3: تشمل 21 مريضاً سكرياً مع قصور كلوي مؤكد وكرياتينين مصل أكثر من 1.7 ملغ / دل غير موضوعين على التحال. أظهرت دراسة النتائج المعطيات التالية:

المجموعة 1: تم تحديد القيم الطبيعية للسيستاتين C المصلي من 0.67-1.11 ملغ / ل في هذا المجتمع ولم يلاحظ فروق معنوية بالنسبة للعمر والجنس. المجموعة 2: أعطى كل من CYC C و S.C نوعية وحساسية مختلفة عند مستوى الدلالة 5%. كانت نوعية CYC C 71.4% بالمقارنة مع فقط 57.1% بالنسبة لكرياتينين المصل. كذلك كانت حساسية CYC C 85.2% بالمقارنة مع 66.7% بالنسبة للكرياتينين. قدرت المنطقة تحت منحنى ROC ضمن مجال ثقة 95% لتكون 0.830 (0.685-0.950) بالنسبة للسيستاتين C بالمقارنة مع 0.670 (0.500-0.844) بالنسبة لكرياتينين المصل. كذلك كان مستوى الارتباط عند مستوى الدلالة 5% بين GFR ومقلوب CYC C ضعيفاً (R= 0.49) ولكن أفضل مما هو عليه بين GFR ومقلوب S.C والتي كانت بدون دلالة (R= 0.37). المجموعة 3: لم يلاحظ اختلاف بين قيم CYC C و S.C حيث كانت كلها مرتفعة فوق القيم المرجعية .

أثبتت هذه الدراسة أن السيستاتين C واسم أفضل من كرياتينين المصل و تصفية الكرياتينين في تقييم معدل الرشح الكبيبي في الاعتلال الكلوي وشبك الحدوث عند مرضى السكري نمط 2.

* أستاذ في الكيمياء الحيوية - كلية الطب - جامعة تشرين - اللاذقية - سوريا.

** أستاذ في قسم الأمراض الباطنة - كلية الطب - جامعة تشرين - اللاذقية - سوريا.

Serum Cystatin C as a New Marker More Sensitive and Specific than Creatinine for Glomerular Filtration Rate in the Incipient Nephropathy. Al-Assad Hospital of Lattakia

Dr. Bassam Abdeen*
Dr. Hussein Said **
Kinda Al-Khaier ***

(Accepted 7/9/2004)

□ ABSTRACT □

Cystatins are a superfamily of cysteine proteinase inhibitors widely distributed in tissues and body fluids. Chemically and medically Cystatin is considered the most important Cystatin C, with molecular weight 13260 Da, is composed of 120 amino acids, lacks carbohydrate and has two disulfide bridges located near the carboxyl terminus.

Serum Cystatin C (CYS C) has been proposed as a suitable marker for glomerular filtration rate (GFR). CYS C has been compared to serum creatinine (S.C) and creatinine clearance (C.C) as screening tests for renal function in type 2 diabetics with variable degrees of renal affection.

82 individuals (43 males/39 females) > 50 years of age were included in this study. They were classified in three groups as follows:

Group 1: 20 normal control subjects (10 males/10 females)

Group 2: 41 diabetics type 2 > 10 years diabetes (23 males/18 females) with S.C value: 0.5-1.5 mg/dl.

Group 3: 21 diabetics with confirmed renal failure S.C > 1.7 mg/dl (non-dialyzed patients).

The results were interpreted as follows:

Group 1: the reference value for CYS C was 0.67-1.11 mg/l (no deference was detected in terms of sex and age).

Group 2: CYS C and S.C demonstrated different specificities and sensitivities ($p = 5\%$). The specificity of CYS C was 71.4% compared to only 57.1% for serum creatinine. Also, the sensitivity of CYS C was 85.2% compared to only 66.7% for creatinine. The area under the ROC curve was estimated to be 0.830 (95% CI: 0.685 to 0.950) for CYS C in comparison with 0.670 (95% CI: 0.500 to 0.844) for S.C. The correlation between GFR and reciprocal CYS C was weak ($R=0.49$; $p=5\%$) but better than the correlation between GFR with reciprocal S.C which was not significant ($R=0.37$; $p = 5\%$).

Group 3: no difference between CYS C and S.C values were detected. Both values were higher than their normal rates.

This study confirmed the reliability of CYS C as a better marker than S.C and C.C for GFR in the incipient nephropathy in type 2 diabetic patients.

* Professor- Department Of Biochemistry- Faculty Of Medicine – Tishreen University-Lattakia-Syria

** Professor- Department Of Nephrology- Faculty Of Medicine – Tishreen University- Lattakia-Syria

هدف البحث:

دراسة اختبار السيستاتين C المصلى بالمقارنة مع الكرياتينين المصلى وتصفية الكرياتينين لتقييم معدل الترشيح الكبيبي والكشف المبكر عن الأذية الكلوية عند مرضى السكري نمط 2 (غير معتمد على الأنسولين).

أهمية البحث:

تتزايد أعداد المرضى المصابين بمرض كلوي يوما بعد يوم. يعتبر كلا من الداء السكري وارتفاع الضغط الشرياني السبب الأكثر شيوعا في حدوث مرض كلوي بمراحله النهائية والمترافق مع زيادة خطورة الوفاة حيث تزيد نسبة الوفيات عند المرضى المصابين بمرض كلوي بمراحله النهائية 10-20 مرة عن باقي الناس عموما. ومن هنا تم التركيز على الكشف المبكر للمرض الكلوي المزمن قبل أن يتحول هذا المرض إلى مراحله النهائية غير القابلة للتراجع (1). وهكذا فإن تحديدا دقيقا لمعدل الترشيح الكبيبي GFR وبالتحديد معدل تصفية الكرياتينين كان وما يزال حجر الأساس في مراقبة تطور الاعتلال الكلوي وفي تقدير إمكانية التداخل العلاجي في المراحل الباكرة القابلة للتراجع.

هناك عدة أمور هامة يجب معرفتها بالنسبة للقيمة التشخيصية لتصفية الكرياتينين (1):
أولا: يعتبر اختبار تصفية الكرياتينين الواسع الانتشار لتقييم التصفية الكلوية نوعياً وذلك عند انخفاض التصفية الكلوية إلى 50 % أو أقل.
ثانيا: يمكن أن يحدث الخلل الوظيفي الكلوي الهام حتى ولو كان كرياتينين المصل طبيعياً أو مرتفعاً قليلاً.
ثالثاً: تنخفض الوظيفة الكلوية بشكل تدريجي حالما تنخفض تصفية الكرياتينين بمعدل 25 % عن الطبيعي أما الأعراض فإنها لا تظهر حتى يتقدم الفشل الكلوي.
رابعاً: إن كرياتينين المصل وتصفية الكرياتينين هما عرضة لتغيرات داخلية المنشأ وتداخلات أثناء إجراء التحليل وغيرها (جدول 1).

تركز الدراسات حالياً حول استخدام اختبار السيستاتين C المصلى عند المعرضين أو المصابين بأذية كلوية كبديل للكرياتينين في مراقبة معدل الترشيح الكبيبي. يعتبر اختبار السيستاتين C المصلى (يدعى أيضا البروتين g-trace) مثبت بروتيناز أساسي بوزن جزيئي منخفض، ينتج بمعدل ثابت من قبل الخلايا المنوأة ليظهر في المصورة أو المصل البشري. يرجح الوزن الجزيئي المنخفض للسيستاتين C المصلى وإنتاجه بمعدل ثابت استعماله كواسم فعال لتقييم معدل الترشيح الكبيبي (2,3,4).

جدول 1: يبين السيستاتين C المصلي كخيار تشخيصي جديد

الخيار التقليدي	الخيار الجديد
الكرياتينين وتصفية الكرياتينين: يتأثر ب: الكتلة العضلية سطح الجسم الإفراز النببي وإعادة الامتصاص الطريقة المستخدمة للمعايرة ('jaffe') والتي تتأثر بالمداخلات اللا نوعية بشكل كبير مثل: السيفالوسبورينات/الأسبرين/السيكلوسبورين /البيليروبين. لا تعني قيمة الكرياتينين ضمن المجال السوي بالضرورة سلامة الوظيفة الكلوية. يضاف لما سبق بالنسبة لتصفية الكرياتينين: يعتبر جمع بول 24 ساعة صعب التطبيق عند الأطفال والمسنين إضافة لأخطاء جمع عينة البول. تعطى النتائج بعد أكثر من 24 ساعة	السيستاتين C المصلي يعتمد السيستاتين C المصلي على الترشيح الكبيبي فقط تعتمد النتيجة على المقاييس المناعية الكيميائية لا يوجد مداخلات تحليلية ملاحظة حتى الآن اختبار عالي الحساسية يحتاج الاختبار إلى عينة مصل أو بلازما واحدة فقط تعطى النتيجة خلال دقائق أو ساعتين حسب الطريقة المتبعة للقياس لا يتأثر ب: الكتلة العضلية. سطح الجسم. الغذاء المتناول. الجنس. لا يخضع لإفراز نببي وإطراح عبر أي طريق خارجي. يعتبر جمع بول 24 ساعة غير ضروري.

الدراسة النظرية:

مافوق عائلة السيستاتين(6): تتألف مافوق عائلة السيستاتين البشري من 11 بروتين. تم تحديد تسلسل الحمضي الأميني للسيستاتين في عام 1981 الذي لم يظهر أي تشابه واضح مع أي تسلسل آخر لمافوق عائلات البروتينات المعروفة لذلك تم إدراج السيستاتينات ضمن مافوق عائلة بروتينية جديدة وتم اكتشاف تسلسل السيستاتين C كأول بروتين ضمن مافوق العائلة هذه.

بعد عامين، تم تحديد وظيفة السيستاتين C كمثبط لبروتياز السيستئين وباستمرار الدراسات تم تحديد 10

أنماط أخرى للسيستاتين البشري وكلها تنتمي إلى ما فوق عائلة السيستاتين البشري (جدول 2)

جدول 2: يبين ما فوق عائلة السيستاتين البشري

عائلة 1	عائلة 2	عائلة 3
سيستاتين داخل خلوي	سيستاتين خارج خلوي و/أو عبر خلوي	سيستاتين داخل وعائي
سيستاتين A	سيستاتين C	كينينوجين ذو وزن جزيئي منخفض

سيستاتين B	سيستاتين D	كينينوجين ذو وزن جزيئي مرتفع
	سيستاتين E	
	سيستاتين F	
	سيستاتين S	
	سيستاتين SA	
	سيستاتين SN	

توزع أنواع السيستاتين في سوائل الجسم (6): تتوزع أنواع السيستاتين في سوائل الجسم بشكل مختلف. يوجد السيستاتين C بكميات يمكن معايرتها في سوائل الجسم المختلفة. مثلا في السائل الدماغي الشوكي يشكل السيستاتين C < 90% من تركيز مثبطات بروتيياز السيستئين بينما يشكل في بلازما الدم نسبة مئوية ضئيلة بالمقارنة مع مثبطات بروتيياز السيستئين الأخرى.

إنتاج وتقويض السيستاتين C (6): أظهرت دراسة بنية مورثة السيستاتين C البشري بأن المورثة من النوع house-keeping والتي تشير إلى إنتاج ثابت لمعدل السيستاتين C من قبل كافة الخلايا المنواة في الجسم. يشير التسلسل البدئي الكاره للماء لطليعة السيستاتين C إلى أن البروتين يفرز بشكل طبيعي خارج الخلايا. لقد تم إثبات أن السيستاتين C و mRNA الخاص به يوجد في كافة الأنماط الخلوية المتقصة كذلك فإن تقصي إنتاج السيستاتين C من السلاسل الخلوية أظهر أن كل السلاسل الخلوية تقريبا تفرز السيستاتين C.

أظهرت دراسة السيستاتين C البشري على الجرذان بأن التصفية الكلوية له كانت 94% بالمقارنة مع 51Cr-EDTA كواسم لمعدل الرشح الكبيبي وبأن السيستاتين C يرشح بشكل حر جزئيا في الكبيبات. يتم تقويض 99% على الأقل من السيستاتين C الراشح ضمن الكبيبات في الخلايا النبيبية الدانية.

كذلك أشارت الدراسات المناعية الكيميائية النسيجية واختبار لطاخة نورثرن Northern Blot على الكلى البشرية بأن السيستاتين C يقوض بشكل طبيعي في الخلايا النبيبية الدانية بعد عبوره خلال الغشاء الكبيبي. إن بروتينات البلازما ذات وزن جزيئي أقل من 10-25 Kda ترشح بحرية عبر الغشاء الكبيبي ثم تمتص بشكل تام ويتم تقويضها بواسطة الخلايا النبيبية الدانية. وهذا ينطبق على السيستاتين C ذو الوزن الجزيئي 13 Kda وبالتالي فإنه يرشح بحرية عبر الغشاء الكبيبي ثم يمتص بشكل تام ويتم تقويضه بواسطة الخلايا النبيبية.

الاستخدامات السريرية للسيستاتين C المصلي/البلازمي كواسم لمعدل الرشح الكبيبي GFR: هناك عدة نقاط جعلت من مستوى السيستاتين المصلي أو البلازمي واسما جديدا للترشيح الكبيبي الكلي أهمها أنه بروتين ذو وزن جزيئي صغير ويتم إنتاجه من أغلب أنسجة الجسم.

لقد أظهرت الدراسات الباكورة سنة 1984-1985 السيستاتين C المصلي كواسم للترشيح الكبيبي مماثل للكرياتينين كذلك أظهرت هذه الدراسات أن السيستاتين C واسم أفضل من البروتينات الأخرى ذات الوزن الجزيئي المنخفض (بيتا 2 ميكروغلوبين/البروتين الرابط للترينول/عامل المتممة D). اعتمدت تلك الدراسات في تحديد تركيز السيستاتين C على التضخيم الأنزيمي بتقنية الانتشار المناعي والتي اعتبرت طريقة بطيئة تحتاج 10-20 ساعة

وتمتلك معامل اختلاف كبيرة (10%) وهذا قلل من أهمية نتائج قيم السيستاتين C كواسم لمعدل الرشح الكبيبي GFR في الاستخدام السريري في ذلك الوقت (6).

في عام 1994 تم تطوير تقنية المقايسة المناعية العكسية Immuno-Turbidometric Assay والتي اعتبرت طريقة دقيقة سريعة استطاعت أن تثبت بشكل واضح إمكانية استعمال السيستاتين C كواسم للترشيح الكبيبي. كذلك طورت في عام 1998 تقنية المقايسة المناعية الكدرية Immuno-Nephelometric Assay لمعايرة السيستاتين C.

1- السيستاتين C والداء السكري: لقد تبين أن السيستاتين C المصلي واسم أفضل من الكرياتينين المصلي في تقصي الاعتلال الكلوي وشيك الحدوث عند مرضى السكري المعتمد (11-13) وغير المعتمد على الأنسولين (7-11).

2- السيستاتين C والمعالجة الكيماوية: أجريت دراسة على مرضى السرطان قبل وأثناء المعالجة الكيماوية وتبين أن السيستاتين C المصلي مؤشر أفضل من الكرياتينين المصلي في تحديد انخفاض الترشيح الكبيبي وبشكل خاص في الكشف المبكر عن الفشل الكلوي (14). تقترح الدراسات استخدام السيستاتين C المصلي كاختبار استقصائي قبل المعالجة الكيماوية وربما يستخدم في تعديل الجرعة عند المرضى مع معدل ترشيح كبيبي منخفض.

3- السيستاتين C وما قبل الارجاج الحلمي: يقدم السيستاتين C تشخيصا لما قبل الارجاج الحلمي أفضل من البولة والكرياتينين (15-17).

4- السيستاتين C واغتراس الكلية: يفيد في مراقبة مرضى زرع الكلية (18-19).

5- مراقبة المعالجات الدوائية ذات السمية الكلوية (20).

خطة البحث:

طريقة معايرة السيستاتين (21): مبدأ المعايرة المقايسة المناعية العكسية Immuno-Turbidometric Assay باستخدام حبيبات البولسترين ذات الحجم المتساوي والمرتبطة كيميائيا مع أضداد الأرنب ضد سيستاتين C البشري. يؤدي التفاعل بين هذه الحبيبات المناعية والسيستاتين C إلى تشكل راصات ذات خواص امتصاص ضوئية متناسبة مع تركيز مادة السيستاتين C في العينة. يتم تحديد تركيز سيستاتين C في عينة المريض بالمقارنة مع منحنى عياري. تجرى المعايرة خلال فترة وجيزة وتحتاج لعينة مصل أو بلازما (يمكن القياس على الأجهزة المتوفرة مثل جهاز Cobas Mira)

طريقة معايرة الكرياتينين: يقاس الكرياتينين باستخدام طريقة جافه المعدلة.

عينة البحث:

تمت الدراسة على عينات أخذت من مراجعي مشفى الأسد الجامعي ومراجعي المشفى الوطني في مدينة اللاذقية. أجريت الدراسة على عينة مؤلفة من 82 نموذجاً ذكوراً وإناثاً تتراوح أعمارهم بين 50-80 سنة. تم تقسيم هذه العينة إلى ثلاث مجموعات على النحو التالي:

1- **المجموعة الأولى: الأصحاء:** تتألف من 20 شخصاً سوي سريريا (بدون أي إصابة كلوية أو كبدية أو داء سكري أو ارتفاع ضغط شرياني أو إنسمام بالمعادن الثقيلة أو مرض مناعي ذاتي أو أمراض جهازية أخرى) ومخبرياً (الكرياتينين المصلي ومعدل تصفية الكرياتينين والسيستاتين Cystatin C المصلي ضمن المجال السوي) موزعة وفق الجدول التالي:

جدول 3: يبين مجموعة الأصحاء (مرضى سكري نمط II فقط)

المجموع	العدد	العمر	الجنس
20	10	60-59-78-58-63-76-54-64-75-58	ذكور
	10	79-63-67-78-75-53-60-80-51-50	إناث

2- **المجموعة الثانية: عينة الدراسة: مجموعة مرضى السكري نمط 2 /غير معتمد على الأنسولين (إصابة مرضية أكثر من عشر سنوات) مع كرياتينين مصل بين 0.5-1.5 مغ/د.ل:** تتألف من 41 شخصاً من مرضى السكري نمط 2 إناثاً وذكوراً تتراوح أعمارهم بين 53 إلى 80 سنة موزعة حسب الجدول التالي:

جدول 4: يبين عينة الدراسة (مجموعة مرضى السكري نمط 2 /غير معتمد على الأنسولين)

المجموع	العدد	العمر	الجنس
41	23	-60-59-70-60-55-80-62-68-63-65-60 -57-66-57-72-62-70-6479-75-62-65 62-65-61-63	ذكور
		-53-67-65-60-63-64-62-65-53-63-62 68-63-65-60-74-61-62	إناث

3- **المجموعة الثالثة: مجموعة مرضى القصور الكلوي من منشأ سكري غير موضوعين على التحال مع عيار كرياتينين المصل أكبر أو يعادل 1.7 مغ/د.ل:** تتألف هذه المجموعة من 21 مريض (10 ذكور، 11 إناث) بأعمار مختلفة بين 55-78 سنة حسب الجدول التالي:

جدول 5: يبين مجموعة مرضى القصور الكلوي من منشأ سكري

المجموع	العدد	العمر	الجنس
21	10	67-68-59-61-63-60-59-56-67-56	ذكور
	11	78-57-69-67-62-70-55-61-72-65-66	إناث

عرض النتائج وتبويبها:

1- المجموعة الأولى: الأصحاء (جدول 6):

جدول 6: يبين نتائج السيستاتين C والكرياتينين مقابل العمر بالنسبة للذكور والإناث

إناث			ذكور		
سيستاتين * C	كرياتينين المصل **	العمر	سيستاتين * C	كرياتينين المصل **	العمر
0.87	0.8	75	0.95	0.5	63
0.99	0.6	58	0.79	0.4	78
0.83	0.5	63	0.65	0.4	59
0.87	0.6	79	1.13	0.6	60
0.87	0.4	50	0.81	0.4	58
0.94	0.6	75	0.89	0.5	51
0.8	0.5	80	0.96	0.4	64
0.94	0.6	54	0.7	0.4	60
0.9	0.7	53	0.94	0.6	76
1.05	0.7	78	0.89	0.6	67

* تركيز بـ/مغ/ل - ** تركيز بـ/مغ/د.ل

2- المجموعة الثانية: عينة الدراسة: مجموعة مرضى السكري نمط 2 / غير معتمد على الأنسولين (إصابة مرضية أكثر من عشر سنوات) مع كرياتينين مصل بين 0.5-1.5 مغ/د.ل:

جدول 7: يبين مجموعة الدراسة (السيستاتين C والكرياتينين وتصفية الكرياتينين مقابل العمر لكلا الجنسين)

الذكور				الإناث			
تصفية الكرياتينين #	سيستاتين *	كرياتينين **	العمر	تصفية الكرياتينين #	سيستاتين *	كرياتينين **	العمر
66.7	2.65	1.2	62	75.6	1.58	1.1	62
82	1.3	1.2	80	112	1.12	0.5	63
95	1.44	1.1	55	46.4	1.54	1	53
117	1.18	0.7	60	71	1.59	0.9	65
85.3	1.72	0.8	70	63	2.33	1.1	62
82	1.56	1	59	40.7	1.8	1.2	64
93	1.28	1	60	63.5	1.56	0.7	63
78.9	1.33	0.8	65	100	1.23	0.5	60
77.4	1.38	0.7	62	87	1.73	0.8	65
62.1	1.67	1	75	43.2	1.46	1.1	67

62	2.18	1.5	64	115	1.24	0.5	53
117	1.36	0.8	79	95.4	1.96	0.8	62
74.4	1.69	0.9	70	79.3	1.33	0.9	61
78.2	1.31	1.1	62	63.6	1.69	1	74
83.4	1.77	1.2	72	51.2	2.69	1.3	60
65.4	1.46	1.3	57	76.6	2.06	1.3	65
92	1.34	0.9	66	52	2.48	1.4	63
69	1.66	1.3	57	47	1.73	1.3	68
61	2.15	1.2	63				
54	2.32	1.3	61				
48	2.63	1.4	65				
45	2.44	1.5	62				
117.8	1.07	0.8	53				

*تركيز بـ مغ/ل - ** تركيز بـ مغ/د.ل - # مل/دقيقة/ 1.73 م2

3- المجموعة الثالثة: مجموعة مرضى القصور الكلوي من منشأ سكري غير موضوعين على التحال مع عيار كرياتينين المصل أكبر أو تعادل 1.7 مغ/د.ل (جدول 8):

جدول 8: يبين المجموعة 3 (نتائج السيستاتين C والكرياتينين مقابل العمر بالنسبة للذكور والإناث)

إناث			ذكور		
سيستاتين C *	كرياتينين المصل **	العمر	سيستاتين C *	كرياتينين المصل **	العمر
4.62	4	66	2.56	5	78
3.5	3.4	65	2.23	1.8	56
4.81	6.8	72	2.47	1.8	67
2.15	2.3	61	3.02	3.4	56
3.57	3.4	55	2.52	2.6	59
2.58	1.7	70	4.16	4.8	60
2.51	1.8	62	2.69	2.5	63
5.6	5.6	67	4.2	6.9	61
3	2	69	2.76	2.8	59
2.79	2.8	57	3.9	7.4	68
			1.79	1.8	67

*تركيز بـ مغ/ل - ** تركيز بـ مغ/د.ل

دراسة الإحصائية والاستنتاجات:

1- المجموعة الأولى: الأصحاء:

أ- عيار السيستاتين C: تبين من خلال معطيات الجدول 6 السابق عدم وجود فروق معنوية بالنسبة لعيار السيستاتين C بين الذكور والإناث في الأعمار فوق 50 سنة حيث كان مؤشر اختبار t ستيودنت (t=0.663) أصغر من القيمة الجدولية النظرية ((t= 2.262) عند مستوى الدلالة % 5 وهذا ما يتوافق مع الدراسة العالمية. كذلك تم تحديد المجال المرجعي لقيمة السيستاتين C بغض النظر عن العمر

والجنس بقيمة 0.67-1.11 مغ/ل ومن خلال مقارنتها مع القيمة المرجعية العالمية عند البالغين فوق 50 سنة (ذكورا وإناثا) والبالغة 0.84-1.55 مغ/ل تبين أن جميع القيم أقل من القيم المرجعية العالمية بالنسبة لمختلف الأعمار والأجناس المدروسة ولذلك تم اعتماد هذه القيمة كقيمة مرجعية في هذه الدراسة للمجتمع المدروس حسب المعطيات التي ظهرت معنا.

بـ الكرياتينين المصلي وتصفية الكرياتينين: تم استخدام طريقة جافه المعدلة في معايرة الكرياتينين وقد تم اعتماد القيم المرجعية للكرياتينين المصلي عند البالغين (0.6-1.3 مغ/د.ل/ذكور، 0.6-1.1 مغ/د.ل/إناث) وفقا للنشرة العلمية المخبرية المعممة من قبل هيئة مخابر سوريا والتي تعتمد على توصيات منظمة الصحة العالمية WHO والاتحاد الدولي للكيمياء التطبيقية النقية IUPAC والمنظمة الدولية للكيمياء السريرية IFCC (22). كما تم اعتماد القيم المرجعية لتصفية الكرياتينين وفقا للنشرة العلمية المخبرية (22) وفقا للجدول 9 التالي:

جدول 9: يبين المجال المرجعي لتصفية الكرياتينين مل/دقيقة/1.73 م2 عند البالغين (22)

تصفية الكرياتينين		الحالة السريرية
ذكور	إناث	الحالة السوية
140-94	110-72	
80-62.5		الأذية الكلوية
63-52		
52-42		
42-28		
28 >		

تتراوح القيمة السوية لكرياتينين المصل ضمن مجال مرجعي يختلف باختلاف المجتمع المدروس والمرجع

المعتمد وطريقة التحليل المعتمد. عند البالغين الأصحاء يتراوح الحد الأدنى للطبيعي بين 0.5 إلى 0.9 مغ/د.ل. بينما يقدر الحد الأعلى للطبيعي بين 1.2 إلى 1.4 مغ/د.ل.

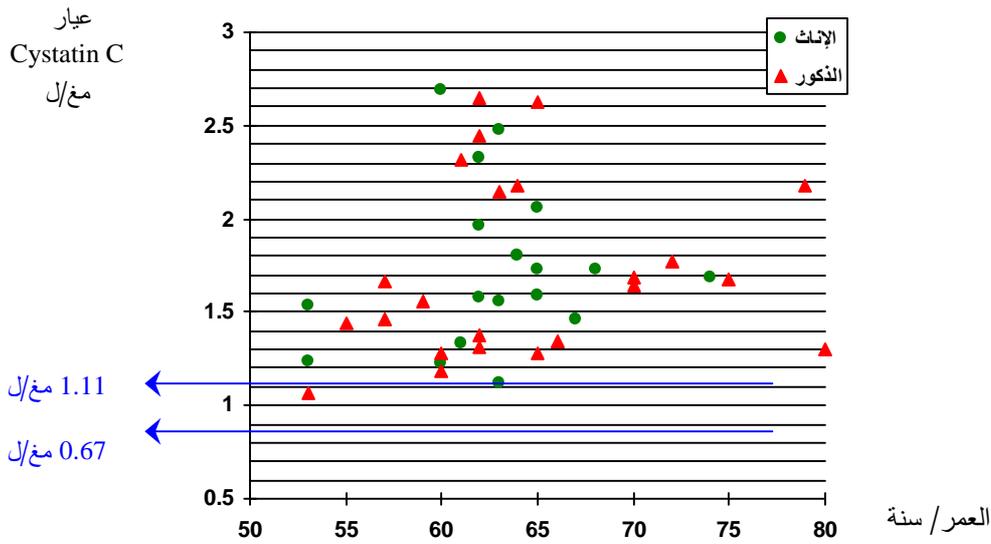
تم اعتماد القيمة الحدية للكرياتينين المصلي بـ 1.5 مغ/د.ل. بالنسبة لمرضى السكري نمط 2 (< 50 عام)

أما بالنسبة لتصفية الكرياتينين المعتمدة في هذه الدراسة تم اعتبار القيمة 80 مل/دقيقة/1.73 م2 كقيمة حدية للمجال الطبيعي (6,22) بينما اعتبرت القيمة 60-80 مل/دقيقة/1.73 م2 كمنطقة عمياء (6) حيث لا نستطيع تأكيد بداية الأذية الكلوية أو عدم وجودها.

2- المجموعة الثانية: عينة الدراسة: مجموعة مرضى السكري نمط 2/ غير معتمد على الأنسولين (إصابة

مرضية < عشر سنوات) مع كرياتينين مصل بين 0.5-1.5 مغ/د.ل. تمت الدراسة على 41 مريضا سكريا

نمط 2 (23 ذكر و18 أنثى) وأثمرت النتائج عن التالي:



الشكل 1: يبين دراسة عيار السيستاتين C مقابل العمر بالنسبة للذكور والإناث معا. 41 مريضا سكريا نمط 2 (23 ذكرا و18 أنثى) (إصابة مرضية < 10 سنوات)

أ- لوحظ أن كل قيم السيستاتين C كانت أعلى من القيمة المرجعية 0.67-1.11 مغ/ل باستثناء قيمة واحدة كانت ضمن المجال الطبيعي. كما تمت مقارنة الإناث والذكور في المجموعة نفسها ولم يلاحظ أي فروق معنوية حيث كانت قيمة مؤشر اختبار t (t=0.29) صغيرة بالنسبة للقيمة الجدولية (t=2.02) عند مستوى الدلالة 5%.

ب- تمت دراسة معامل ارتباط معدل الرشح الكبيبي GFR (تصفية الكرياتينين) مع كل من تراكيز السيستاتين C والكرياتينين المصلي كل على حدة عند مستوى الدلالة 5% وترتبت النتائج وفق الجدول التالي:

جدول 10: يبين الارتباط بين معدل الرشح الكبيبي GFR مع كل من السيستاتين C والكرياتينين

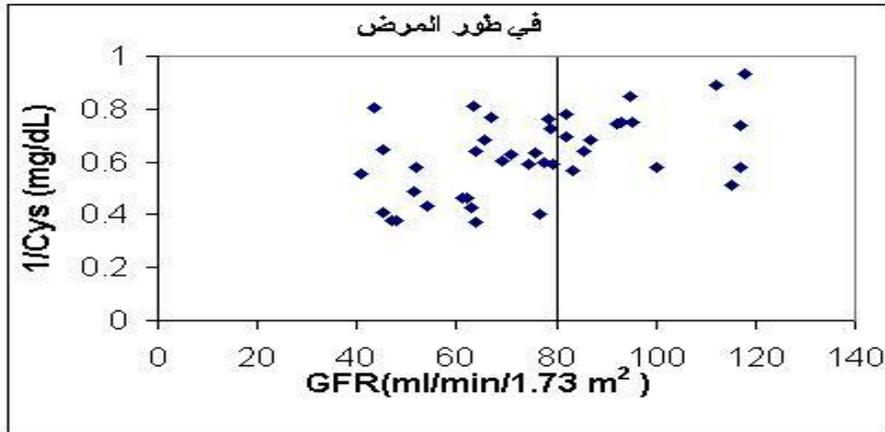
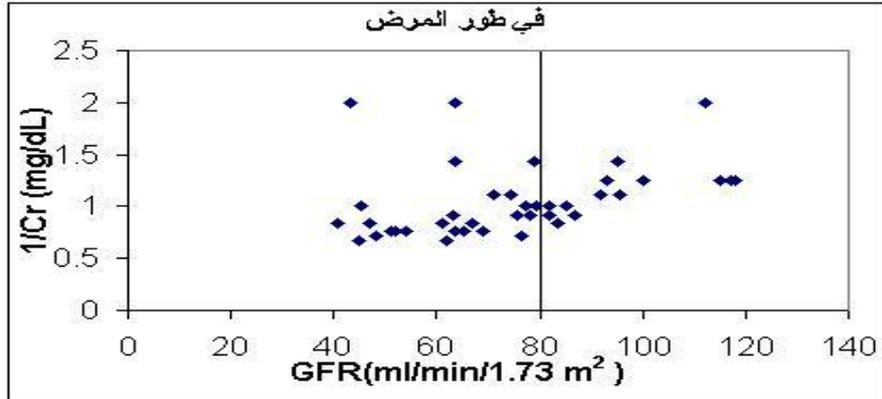
معدل الرشح الكبيبي GFR			معامل الارتباط
القيم المنخفضة*	القيم السوية	الكل	
28	13	41	عدد المرضى
0.12	0.28	0.49	GFR مقابل 1/CYSTATIN C
0.62	0.04	0.37	GFR مقابل 1/CREATININE

* تصفية الكرياتينين أقل من 80 مل/دقيقة/1.73 م².

يعتبر ارتباط مقلوب السيستاتين C مع معدل الرشح الكبيبي ضعيف (معامل الارتباط = 0.49: مستوى الدلالة 5%) وهذا ما يفسره أن كل قيم السيستاتين C كانت أعلى من القيم المرجعية بينما كان ثلث المرضى (13 مريضا) مع تصفية كرياتينين أقل من 80 مل/دقيقة/1.73 م². بالمقارنة كان ارتباط مقلوب الكرياتينين أسوأ مع معدل الرشح الكبيبي (معامل الارتباط = 0.37: مستوى الدلالة 5%).

يبين الشكل (2) الارتباط ضمن المجموعة الثانية (41 مريضا إصابة < 10 سنوات) بين معدل الرشح

الكبيبي GFR مع كل من مقلوب السيستاتين C (مغ/ل) (المخطط السفلي) ومقلوب الكرياتينين (مغ/د.ل) (المخطط العلوي) المصلي كل على حدة. اعتبرت القيمة 80 مل/دقيقة/1.73م² كقيمة حدية لمعدل الرشح الكبيبي GFR. كان واضحا الاختلاف بين الفعالية التشخيصية للسيستاتين C والكرياتينين المصلي لتحديد المرضى مع إصابة كلوية. كانت معظم قيم السيستاتين مرتفعة بينما كانت قيم الكرياتينين اقل من 1.5 مغ/د.ل وكان ارتباط معدل الترشيح الكبيبي ضعيفا مع السيستاتين وأضعف مع الكرياتينين عند مستوى الدلالة 5%.



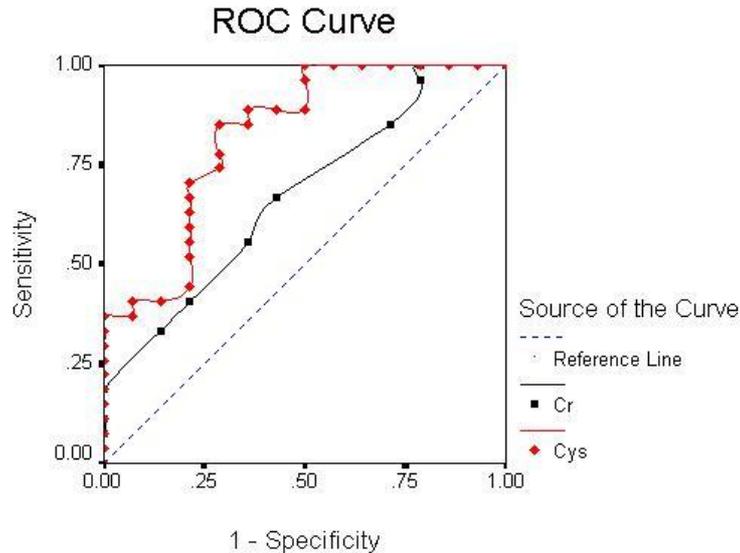
الشكل (2)

ج-ضمن المجموعة الثانية وبمقارنة السيستاتين C والكرياتينين المصلي كواسمات لمعدل الرشح الكبيبي GFR من ناحية الحساسية والنوعية (41 مريضا إصابة < 10 سنوات) تبينت النتائج وفقا للجدول 11 التالي:

جدول 11: يبين الحساسية والنوعية السريرية للسيستاتين C والكرياتينين

السيستاتين C	القيم المراقبة (%)	مجال الثقة 95%
حساسية	85.2	(66.3-95.7)
نوعية	71.4	(41.9-91.4)
القيمة الايجابية المتوقعة	87.5	(70.8-97.5)
القيمة السلبية المتوقعة	70	(49.8-86.2)
الكرياتينين	القيم المراقبة (%)	مجال الثقة 95%
حساسية	66.7	(46-83.4)
نوعية	57.1	(28.9-82.2)
القيمة الايجابية المتوقعة	57	(64-83)
القيمة السلبية المتوقعة	47.1	(35.3-74.5)

أظهر السيستاتين C والكرياتينين نوعية مختلفة ($\alpha = 5\%$) حيث كانت النوعية للسيستاتين C 71.4% مقابل 57.1% بالنسبة للكرياتينين. كذلك كانت الحساسية أكثر دلالة بالنسبة للسيستاتين 85.2% مما هو عليه بالنسبة للكرياتينين 66.7%. الاختلاف بين الحساسية كان 18.5% (CI:95%) والنوعية 14.3% (CI:95%). بالنسبة للسيستاتين C قدرت المنطقة تحت منحنى ROC لتكون 0.830 (مجال الثقة 95%: 0.685 إلى 0.950) والكرياتينين 0.670 (مجال الثقة 95%: 0.500 إلى 0.844).

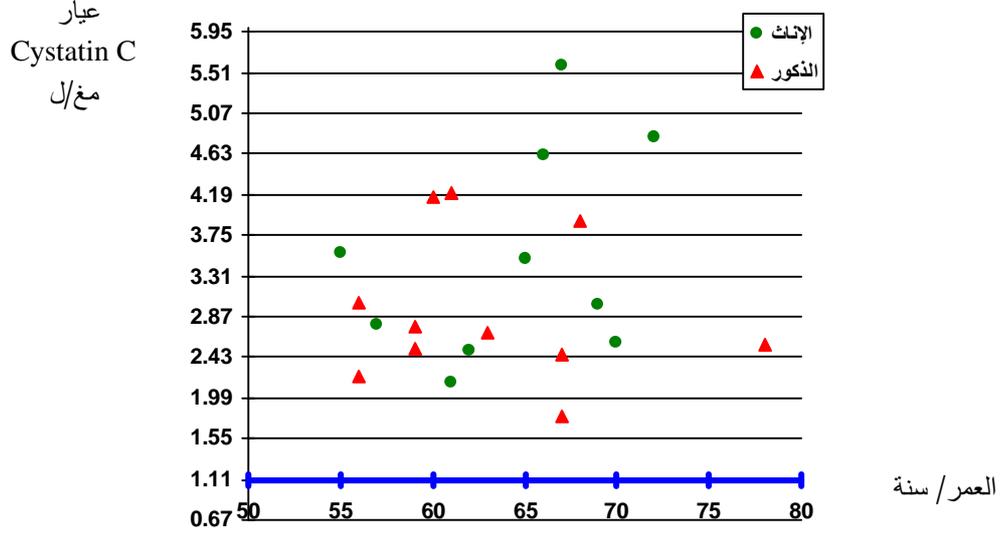


الشكل 3: مخطط ROC لدراسة الضبط التشخيصي للسيستاتين C والكرياتينين للتمييز بين GFR الطبيعي والمنخفض (أكبر أو يساوي وأقل من 80 مل/دقيقة/2م²) بالنسبة للمجموعة الثانية
المجموعة الثالثة: الشاهد الايجابي: مجموعة مرضى القصور الكلوي من منشأ سكري غير موضوعين

-3

على التحال مع عيار كرياتينين المصل أكبر أو يعادل 1.7 مغ/د.ل:

تم توضيح النتائج بيانياً كمعلومات مفردة بالنسبة للذكور والإناث برسم عيار السيستاتين C مقابل العمر حسب المخطط التالي:



الشكل 4: مخطط توضيحي يظهر نتائج السيستاتين C المصلي مقابل العمر بالنسبة لمرضى القصور الكلوي من منشأ سكري غير موضوعين على التحال ومع كرياتينين المصل أكثر أو يساوي 1.7 مغ/د.ل.

يبين الشكل 4 السابق أن كافة قيم السيستاتين C كانت مرتفعة فوق المستوى الطبيعي وكانت أخفض قيمة 1.79 مغ/ل وهذا ما يتناسب مع ارتفاع قيم الكرياتينين في نفس المجموعة.

دراسات مقارنة:

تشير الدراسة السابقة أن السيستاتين C واسم أكثر حساسية ونوعية من الكرياتينين وتصفية الكرياتينين لتقييم معدل الترشيح الكبيبي وخاصة في الكشف المبكر عن الاعتلال الكلوي عند مرضى السكري نمط 2. انطلاقاً من هدف البحث أجريت دراسة مقارنة مع مجموعة من الدراسات (23) المجراة على السيستاتين C المصلي والكرياتينين المصلي بشكل عام وأعطيت النتائج وفق الجدول التالي:

جدول 12: يبين دراسات إحصائية مقارنة بين السيستاتين C والكرياتينين وتصفية الكرياتينين لتقييم معدل الترشيح الكبيبي وخاصة في الكشف المبكر عن الاعتلال الكلوي (23)

المعايير الإحصائية	الاختبار	عدد المرضى	الدراسات	المتوسط (CI %95)
معامل الارتباط	سيستاتين C	3703	36	0.816 (0.804-0.826) *
	كرياتينين	3101	29	0.742 (0.726-0.758)
المنطقة تحت منحنى (AUC وتحليل ROC)	سيستاتين C	997	11	0.926 (0.892-0.960) *
	كرياتينين	997	11	0.837 (0.796-0.878)

* $P > 0.001$ بالمقارنة مع الكرياتينين

بالمقارنة بين معطيات الجدول 12 السابق ودراستنا تبين أن معامل ارتباط السيستاتين C مع معدل الترشيح الكبيبي كان مساويا للقيمة التالية $R = 0.816$ (CI %95) في الدراسات السابقة بينما أظهرت دراستنا قيمة $R = 0.49$ (CI %95) وهي قيمة ضعيفة وتدل بأن السيستاتين C أفضل من تصفية الكرياتينين في تقييم الأذية الكلوية. كذلك كان هو الحال بالنسبة للكرياتينين فقد بينت مجموعة الدراسات السابقة بأن وسطي معامل الارتباط مع معدل الترشيح الكبيبي $R = 0.72$ (CI %95) وهي نتيجة أفضل من دراستنا حيث كان $R = 0.37$ (CI %95).

أما بالنسبة للمنطقة تحت منحنى ROC وكما يبين الجدول السابق فإن النتيجة متوافقة نوعا ما مع دراستنا أي أن حساسية السيستاتين C أفضل من الكرياتينين لتقييم معدل الترشيح الكبيبي باعتماد القيمة 80 مل/دقيقة/م² لتصفية الكرياتينين كقيمة حدية. بينما أثبتت دراستنا بأن قيمة الكرياتينين أقل حساسية خاصة عند مرضى السكري نمط 2 والمعرضين لإصابة كلوية وشبكة الحدوث حسب الموجودات السريرية. كما تمت مقارنة دراسات حديثة خاصة تتركز على مرضى السكري نمط 2 والتي تتوافق بالنتيجة مع دراستنا بأن السيستاتين C المصلي أكثر حساسية ونوعية من الكرياتينين وتصفية الكرياتينين عند مرضى السكري نمط 2 عندما يكون معدل الترشيح الكبيبي طبيعيا أو منخفضا قليلا (7-11).

التوصيات:

- أكدت هذه الدراسة أن السيستاتين المصلي واسم أفضل من كرياتينين المصل وتصفية الكرياتينين لتقييم معدل الرشح الكبيبي خاصة في المراحل المبكرة من الاعتلال الكلوي عند مرضى السكري نمط 2. كذلك ومن خلال الأبحاث والاستنتاجات العلمية فإنه من الممكن تطبيق معايير السيستاتين C في الحالات التالية:
- لدى مرضى السكري نمط 1 والنمط 2 من أجل الكشف المبكر عن اعتلال كلية سكري وشيك الحدوث
 - معايرة السيستاتين قبل وأثناء المعالجة الكيماوية للإصابات السرطانية
 - حالة ما قبل الإرجاج الحملي
 - ارتفاع التوتر الشرياني المزمن
 - مراقبة اغتراس الكلية
 - التشخيص المبكر لأمراض الكلية المختلفة

المراجع:

.....

1. Malvinder S Parman, Chronic renal disease (clinical review), *BMJ* 2002; 325: 85-90 (13 July).
2. Elizabeth Coll, MD, et. al., Serum Cystatin C as a new marker for noninvasive estimate of GFR and as a marker for early renal impairment. *American Journal of Kidney Diseases*, Vol. 36, No 1 (July), 2000: pp. 29-34.
3. Arend Bokenkamp, Michal Domanetzki, Raymund Zinck, Gerhard Schumann, Dennis Byrd and Johannes B rodehl. Cystatin C- a new marker for GFR in children independent of age and height. *Pediatrics* 101:875-881.
4. Eric S Kilpatrick, Brian G Keevil, and G Michael Addison, Does adjustment of GFR to extracellular fluid volume improve the clinical utility of Cystatin C? Eric S Kilpatrick, Brian G Keevil, and G Michael Addison. *Arch. Dis. Child.* 82: 499-502.
5. Thierry Le Bricon, Eric Thervet, Marc Froissart, Mourad Benlakehal, Bernard Bousquet, Christophe Legendre, and Danielle Erlich. 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.* 46: 1206-1207.
6. Cystatin C as a Marker for Glomerular Filtration Rate. 2nd edition, Anders Grubb, Dept. of Clinical Chemistry, University Hospital, S-22185Lund, Sweden.
7. Xia LH, Bing XG, An XT. Serum Cystatin C assay for the detection of early renal impairment in diabetic patients. *J Clin Lab Anal.* 2004; 18(1):31-5.
8. Mussap M, Dalla Vestra M, Fioretto P, Saller A, Varagnolo M, Nosadini R, Plebani M. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int.* 2002 Apr; 61(4): 1453-61.
9. 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 Aug; 38(2):310-6
10. Harmoinen AP, Kouri TT, Wirta OR, Lehtimaki TJ, Rantalaiho V, Turjanmaa VM, Pasternack AI. Evaluation of plasma Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes. *Clin Nephrol.* 1999 Dec; 52(6):363-70.
11. Buyschaert M, Joudi I, Wallemacq P, Hermans MP. Comparative performance of serum Cystatin-c versus serum creatinine in diabetic subjects. *Diabetes Metab.* 2003 Sep; 29 (4 Pt 1): 377-83.
12. 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 Nov; 25(11):2004-9.
13. Buyschaert M, Joudi I, Wallemacq P, Hermans MP. Performance of serum Cystatin-C versus serum creatinine in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2003 Apr; 26(4):1320.
14. Borut Stabuc, Levin Vrhovec, Mirna Stabuc-Silih, and Tomaz Edvard Cizej. Improved Prediction of Decreased Creatinine Clearance by Serum Cystatin

- C: Use in Cancer Patients before and during Chemotherapy. Clin. Chem. 46: 193-197.
15. Stevens H, Wide-Swensson D, Grubb A, Hansen A, Horn T, Ingermarsson I, Larsen S, Nyengaard JR, Torffvit O, Willner J, Olsen S. Serum Cystatin C reflects glomerular endotheliosis in normal, hypertensive and pre-eclamptic pregnancies. BJOG. 2003 Sep; 110(9):825-30.
 16. [Stevens H, Wide-Swensson D, Torffvit O, Grubb A.](#) Serum Cystatin C for assessment of glomerular filtration rate in pregnant and non-pregnant women. Indications of altered filtration process in pregnancy. Scand J Clin Lab Invest. 2002; 62(2):141-7.
 17. [Stevens H, Wide-Swensson D, Grubb A.](#) Serum Cystatin C is a better marker for preeclampsia than serum creatinine or serum urate. Scand J Clin Lab Invest. 2001; 61(7):575-80.
 18. [Jovanovic D, Krstivojevic P, Obradovic I, Djurdjevic V, Blagojevic-Lazic R, Djukanovic L.](#) [Cystatin C as a measure of glomerular filtration in patients with kidney transplants]. Srp Arh Celok Lek. 2003 May-Jun; 131(5-6):211-4. Serbian.
 19. Paskalev E, Lambreva L, Simeonov P, Koicheva N, Beleva B, Genova M, Marcovska R, Nashkov A. Serum Cystatin C in renal transplant patients. Clin Chim Acta 2001 Dec; 314(1-2):271.
 20. M Mercieri, A Mercieri, L Tritapepe, M Ruggeri, R Arcioni, M Repetto, B Bottari, and A Menichetti. High-dose aprotinin with gentamicin-vancomycin antibiotic prophylaxis increases blood concentrations of creatinine and Cystatin C in patients undergoing coronary artery bypass grafting. Br. J. Anaesth. 82: 531-536
 21. J Kyhse-Andersen, C Schmidt, G Nordin, B Andersson, P Nilsson-Ehle, V Lindstrom, and A Grubb. 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: 1921-1926.
 22. Dr. Fowad Harb. Reference Intervals for Analytes in Human Body Fluids with Conversion Factors from Conventional Unit to SI Unit. Laboratory Scientific News. Published by Syrian Clinical Laboratory Association. Issue no. 10, September 2003.
 23. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum Cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. Am J Kidney Dis. 2002 Aug; 40(2):221.