



Cistatina C: sí, pero...

F. Caravaca

Servicio de Nefrología. Hospital Infanta Cristina. Badajoz.

El filtrado glomerular (FG) es el parámetro que mejor refleja la función renal y referente para establecer los diferentes estadios de severidad de la insuficiencia renal crónica^{1,2}. Aunque existe un amplio consenso en estas dos afirmaciones, las dudas y controversias surgen cuando se trata de elegir el método para medir o estimar el FG.

Los métodos de medición del FG considerados como estándares de máxima fiabilidad (aclaramiento de inulina, isótopos, etc.) son demasiado engorrosos para su utilización rutinaria. La precisión de la medición del aclaramiento de creatinina está siempre condicionada por la correcta recogida y conservación de la orina, objetivo muy difícil de conseguir en muchos pacientes.

La medición de la concentración plasmática de creatinina y el cálculo del filtrado glomerular mediante ecuaciones y algoritmos son en la actualidad las formas más sencillas, baratas y recomendables de estimar la función renal^{1,2}. No obstante, se debe tener en cuenta que la precisión de estas estimaciones está lejos de ser óptima, y en determinados grupos de pacientes o situaciones clínicas (tabla I), la correlación entre creatinina sérica y filtrado glomerular se vuelve más imprecisa. Son estas circunstancias las que promueven la búsqueda de nuevos marcadores alternativos a la creatinina que sean capaces de reflejar de forma más precisa y fiable la función renal.

Uno de los candidatos propuestos es la cistatina C (CsC). Esta proteína de aproximadamente 13 kDa contiene 122 aminoácidos y es miembro de la familia de los inhibidores de las cisteína proteinasas³⁻⁵. Su producción es constante por todas las células nucleadas, y debido a su tamaño y naturaleza catiónica, se filtra libremente por el glomérulo. Aunque no existe constancia experimental de que la CsC pueda segregarse por el túbulo renal, algún estudio clínico ha sugerido esta posibilidad⁶. Una vez en la luz tubular, la CsC es reabsorbida y catabolizada por las células del epitelio tubular en condiciones normales, de tal forma que no se reincorpora al flujo sanguíneo ni aparece en la orina, haciendo así imposi-

ble la medición de su aclaramiento. Los rangos de normalidad de las concentraciones plasmáticas de CsC en los adultos oscilan entre 0,60 y 1,50 mg/l, con ligeras variaciones según los métodos de determinación⁴.

Debido a la producción endógena constante, su dependencia depurativa del FG, la ausencia de influencia de la edad, sexo y masa muscular, y la posibilidad de medición precisa de sus concentraciones plasmáticas (turbidimetría o nefelometría)^{4,5}, la CsC debería ser un marcador más sensible y específico que la creatinina para estimar de forma indirecta la función renal. Sí, a esta conclusión han llegado un buen número de estudios, pero no todos.

A continuación se analizan brevemente las ventajas e inconvenientes de la CsC, y la posible utilidad de este parámetro en el futuro.

CISTATINA C EN LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA

Tanto en adultos como en población pediátrica con amplios rangos de función renal, la CsC muestra una buena correlación con el FG (medido por estándares de máxima fiabilidad), similar o incluso superior a la de la creatinina^{4,7}. Una de las ventajas de la CsC sobre la creatinina es la mayor sensibilidad para detectar reducciones leves del FG^{4,7,8}. Así la CsC es capaz de detectar de una manera más precisa que la creatinina una insuficiencia renal leve (FG inferior a 80 ó 60 ml/min/1,73 m²)^{4,7}. Sin embargo, cuando la interpretación de los valores de creatinina sérica se ajusta mediante algoritmos como el de Cockcroft-

Tabla I. Características clínicas que incrementan la imprecisión de los métodos que valoran la función renal basándose en la creatinina sérica

- Niños
- Ancianos
- Desnutrición-Caquexia
- Enfermedades neurológicas o musculares
- Amputados
- Insuficiencia hepática
- Síndrome Nefrótico
- Trasplantados renales

Correspondencia: Dr. F. Caravaca
Servicio de Nefrología
Hospital Infanta Cristina
Badajoz 06080
E-mail: fcaravacam@senefro.org

Tabla II. Fórmulas para estimación del filtrado glomerular a partir de las concentraciones plasmáticas de cistatina C

*Fórmula de Hoek*¹³:

$$FG = -4,32 + 80,35 \times 1/\text{cistatina C}$$

*Fórmula de Filler*¹⁴:

$$\text{Log FG} = 1,962 + (1,123 \times \text{log}(1/\text{cistatina C}))$$

*Fórmula de Larsson*¹⁵:

$$FG = 77,239 + \text{cistatina C}^{-1,2623}$$

Abreviaturas. FG: filtrado glomerular. log: logaritmo

Gault o el MDRD, las diferencias diagnósticas con respecto a la CsC dejan de ser tan significativas⁹⁻¹².

La sensibilidad de la CsC para el diagnóstico de las alteraciones de la función renal es mayor que la de la creatinina en grupos de pacientes con masa muscular reducida (tabla I)^{4,5}.

Se han propuesto varias ecuaciones para estimar el FG mediante la CsC (tabla 2)¹³⁻¹⁵. La precisión de estas estimaciones parece ser significativamente mejor que la que se obtiene con las ecuaciones basadas en la creatinina en pacientes pediátricos¹⁶, hepatopatas¹⁷ y trasplantados renales^{18,19}.

La relación entre CsC y FG en estadios avanzados de insuficiencia renal es prácticamente desconocida, ya que en la mayoría de los estudios que se han realizado sobre este tema no se incluyeron pacientes con FG inferior a 20 ml/min. El estudio de Martín y col. publicado en el presente número de esta revista demuestra que en estas circunstancias clínicas la CsC no aporta mucho más que la creatinina en la estimación de la función renal. Otro estudio previo en pacientes con nefropatía diabética también demuestra que la ventaja de la CsC sobre la creatinina como estimadores del FG se pierde en pacientes con enfermedad renal avanzada²⁰.

La excreción urinaria de CsC se ha propuesto como marcador de daño renal^{21,22}. La excreción urinaria normal de CsC debe ser cero (reabsorción y catabolización tubular). La presencia de CsC incluso con filtrado glomerular aparentemente normal es un signo de daño tubulointersticial²¹. La relación CsC / creatinina en orina se correlaciona con el FG y ha demostrado ser un marcador fiable de insuficiencia renal (FG < 60 ml/min) en una población pediátrica²².

CISTATINA C EN LA INSUFICIENCIA RENAL AGUDA

Otra de las ventajas potenciales de la CsC sobre la creatinina es el incremento más precoz de sus con-

centraciones plasmáticas en fracasos renales agudos²³⁻²⁶. En sujetos sanos a los que se les sometió a una nefrectomía (donantes vivos), se observó que el incremento de CsC plasmática que reflejaba el descenso de FG se producía una media de 35 horas antes que el incremento de creatinina²³.

Estos mismos resultados se han observado en pacientes críticos²⁴ o en aquellos expuestos a la potencial nefrotoxicidad de contrastes radiológicos y que eventualmente desarrollaron descensos significativos del FG²⁵. El incremento de CsC antecede al de creatinina en 1 ó 2 días²⁶.

Quizá una de las situaciones clínicas en las que la utilización de CsC podría ser más ventajosa es el rechazo agudo del injerto. Sin embargo, la experiencia hasta el momento es muy escasa tanto en adultos²⁷ como en niños²⁸.

Uno de los principales inconvenientes de la CsC como marcador de seguimiento de un fracaso renal agudo es la variabilidad intraindividual²⁹⁻³¹. Mientras que una variación superior al 14% de la creatinina sérica puede considerarse como cambio significativo del FG, la diferencia entre dos muestras de CsC en un individuo normal tiene que llegar a ser superior al 37% del valor medio de referencia (aproximadamente 0,24 mg/l) para considerarla como cambio significativo^{29,30}. Así, aunque la CsC podría ser un buen marcador para la detección de un FG alterado, la creatinina sería superior a la CsC para detectar cambios del FG en un mismo individuo.

DETERMINANTES EXTRARRENALES DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CISTATINA C

Independientemente de las cifras de FG, hay algunos factores que influyen en las concentraciones plasmáticas de CsC como son la edad, sexo, obesidad, tabaco, inflamación, corticoides, ciclosporina, asma, alteraciones tiroideas, hepatopatías y tumores malignos³²⁻⁴³.

Las concentraciones de CsC son más elevadas en los mayores de 60 años^{32,33}. El incremento de CsC en la población anciana corresponde en gran parte a la reducción involutiva del FG. Este descenso del FG no es bien reflejado por los niveles de creatinina sérica, debido a la concomitante reducción, también involutiva, de la masa muscular. En la población pediátrica, los niveles de CsC se mantienen constantes a partir del primer año con unos límites de normalidad muy parecidos a los de los adultos^{4,34}. Durante las primeras semanas de vida las concentraciones plasmáticas de CsC se elevan hasta el doble de los valores normales, para posteriormente descender hasta concentra-

ciones de 0,95 mg/l (límite alto normalidad en niños) durante el segundo mes³⁴.

Se ha demostrado que tanto el sexo masculino, como la obesidad y el hábito de fumar elevan las concentraciones de CsC ajustadas a función renal^{32,33}. También se ha observado que la CsC se comporta como biomarcador de inflamación, correlacionándose con la proteína C reactiva^{12,35}.

Los corticoides incrementan y la ciclosporina A disminuye las concentraciones de CsC^{36,37}. En pacientes con asma se ha observado también un incremento de los niveles de CsC, relacionados en parte con el tratamiento con corticoides³⁷.

Las alteraciones de las hormonas tiroideas, aun siendo estas leves, son capaces de modificar significativamente las concentraciones de CsC^{38,39}. El hipotiroidismo hace descender los niveles de CsC, mientras que el hipertiroidismo los aumenta, independientemente de los cambios del FG. Estas modificaciones son contrarias a las que se observan con las concentraciones de creatinina sérica en estas mismas alteraciones endocrinas. De esta forma, una marcada discrepancia entre los niveles de CsC y creatinina en un mismo paciente debe hacer sospechar entre otros diagnósticos alteraciones de las hormonas tiroideas.

Se ha descrito un incremento de los niveles de CsC en pacientes con hepatopatías⁴⁰. La magnitud media de este incremento de CsC se relaciona con la severidad de las alteraciones histológicas hepáticas (hepatitis, cirrosis o hepatocarcinoma), así como con otros marcadores bioquímicos que reflejan la severidad de la enfermedad hepática (bilirrubina, albúmina, recuento plaquetario, etc.).

Algunos tumores son capaces de sintetizar y segregar altas cantidades de CsC⁴¹⁻⁴³. Se ha sugerido que los incrementos de CsC que se observan en carcinomas de colon y melanomas son debidos a un aumento de su producción⁴¹. También se ha observado una falta de precisión de la CsC como estimador de función renal en pacientes pediátricos con leucemia⁴⁴. A pesar de estas potenciales influencias extrarrenales, la CsC es considerada por los oncólogos como una herramienta útil para descartar insuficiencia renal, y de esta forma ajustar convenientemente el tratamiento quimioterápico^{45,46}.

CISTATINA C COMO DETERMINANTE DE MORTALIDAD EN ANCIANOS

Recientemente se han publicado los resultados del estudio Cardiovascular Health donde se demuestra que las concentraciones más elevadas de CsC predicen la mortalidad de una población anciana⁴⁷. Un incremento de CsC reflejaría un deterioro de la función

renal, reconocido factor de riesgo cardiovascular y mortalidad global, pero además también podría aglutinar otros factores de riesgo como son la inflamación, tabaco y obesidad.

En otro estudio parecido en ancianos (The Health, Aging and Body Composition study)⁴⁸, la CsC también demostró ser un buen predictor de la mortalidad distinta a la causada por enfermedades malignas, incluso después de ajuste al grado de comorbilidad y biomarcadores de inflamación.

Resultados parecidos se han observado en otro estudio en ancianos⁴⁹, así como en pacientes con insuficiencia cardíaca⁵⁰. También se ha demostrado una asociación entre los niveles de CsC y los de homocisteína, en posible relación fisiopatológica con el grado de severidad de insuficiencia renal que representa un incremento de la CsC⁵¹.

Uno de los grandes inconvenientes de la CsC es su precio, mucho menos asequible que el de la creatinina, lo que limita importantemente su utilización más generalizada.

En resumen, la CsC es un útil marcador indirecto de la función renal, más sensible que la creatinina en la detección de insuficiencia renal leve, sobre todo en grupos de pacientes en los que existe una reducción fisiológica o patológica de la masa muscular. El incremento precoz de los niveles de CsC como respuesta a un descenso brusco del FG podría ser una ventaja para su utilización en el fracaso renal agudo. Sin embargo, la gran variabilidad intraindividual, la influencia de numerosos factores extrarrenales y el precio son inconvenientes a considerar.

BIBLIOGRAFÍA

1. National Kidney Foundation K/DOQI: Clinical Practise Guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 39 (Supl. 1): S1-S200, 2002.
2. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Eknoyan G: Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 67: 2089-2100, 2005.
3. Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsback M, Lundwall A, Jansson O y cols.: Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 268: 287-294, 1990.
4. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem* 48: 699-707, 2002.
5. Newman DJ: Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 39: 89-104, 2002.
6. Van Rossum LK, Zietse R, Vulto AG, de Rijke YB: Renal extraction of cystatin C vs ¹²⁵I-iothalamate in hypertensive patients. *Nephrol Dial Transplant* 21: 1253-1256, 2006.
7. Dharnidharka VR, Charles 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* 40: 221-226, 2002.

F. CARAVACA

8. Coll E, Botey A, Álvarez L, Poch E, Quinto L, Saurina A, Vera M, Piera C, Darnell A: Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis* 36: 29-34, 2000.
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* 38: 310-316, 2001.
10. 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* 50: 1278-1282, 2002.
11. Risch L, Huber AR: Assessing glomerular filtration rate in renal transplant recipients by estimates derived from serum measurements of creatinine and cystatin C. *Clin Chim Acta* 356: 204-211, 2005.
12. Rule AD, Bergstralh EJ, Slezak JM, Bergert J, Larson TS: Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations. *Kidney Int* 69: 399-405, 2006.
13. 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* 18: 2024-2031, 2003.
14. Filler G, Lepage N: Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 18: 981-985, 2003.
15. 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* 64: 25-30, 2004.
16. Grubb A, Nyman U, Bjork J, Lindstrom V, Rippe B, Sterner G, Christensson A: 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* 51: 1420-1431, 2005.
17. Poge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B, Klehr HU, Sauerbruch T, Woitas RP: Calculation of glomerular filtration rate based on cystatin C in cirrhotic patients. *Nephrol Dial Transplant* 21: 660-664, 2006.
18. White C, Akbari A, Hussain N, Dinh L, Filler G, Lepage N, Knoll GA: Estimating glomerular filtration rate in kidney transplantation: a comparison between serum creatinine and cystatin C-based methods. *J Am Soc Nephrol* 16: 3763-3770, 2005.
19. Poge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B, Palmedo H, Klehr HU, Sauerbruch T, Woitas RP: Cystatin C-based calculation of glomerular filtration rate in kidney transplant recipients. *Kidney Int* 2006 May 24; [Epub ahead of print].
20. 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* 256: 510-518, 2004.
21. Conti M, Moutereau S, Zater M, Lallali K, Durrbach A, Manivet P, Eschwege P, Loric S: Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction. *Clin Chem Lab Med* 44: 288-291, 2006.
22. Hellerstein S, Berenbom M, Erwin P, Wilson N, DiMaggio S: The ratio of urinary cystatin C to urinary creatinine for detecting decreased GFR. *Pediatr Nephrol* 19: 521-525, 2004.
23. Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, Philipp T, Kribben A: Serum cystatin C -a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *Clin Nephrol* 64: 41-46, 2005.
24. Villa P, Jimenez M, Soriano MC, Manzanares J, Casasnovas P: Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. *Crit Care* 9: R139-143, 2005.
25. Rickli H, Benou K, Ammann P, Fehr T, Brunner-La Rocca HP, Petridis H, Riesen W, Wuthrich RP: Time course of serial cystatin C levels in comparison with serum creatinine after application of radiocontrast media. *Clin Nephrol* 61: 98-102, 2004.
26. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, Philipp T, Kribben A: Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* 66: 1115-1122, 2004.
27. Le Bricon T, Thervet E, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D: Changes in plasma cystatin C after renal transplantation and acute rejection in adults. *Clin Chem* 45: 2243-2249, 1999.
28. Bokenkamp A, Ozden N, Dieterich C, Schumann G, Ehrlich JH, Brodehl J: Cystatin C and creatinine after successful kidney transplantation in children. *Clin Nephrol* 52: 371-376, 1999.
29. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW: Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 44: 1535-1539, 1998.
30. Gowans E, Fraser CG: Biological variation of serum and urine creatinine and creatinine clearance: ramifications for interpretation of results and patient care. *Ann Clin Biochem* 25: 259-263, 1988.
31. 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* 14: 1991-1996, 1999.
32. Galteau MM, Guyon M, Gueguen R, Siest G: Determination of serum cystatin C: biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med* 39: 850-857, 2001.
33. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, de Zeeuw D, Curhan GC, de Jong PE: Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int* 65: 1416-1421, 2004.
34. Randers E, Krue S, Erlandsen EJ, Danielsen H, Hansen LG: Reference interval for serum cystatin C in children. *Clin Chem* 45: 1856-1858, 1999.
35. Shlipak MG, Katz R, Cushman M, Sarnak MJ, Stehman-Breen C, Psaty BM, Siscovick D, Tracy RP, Newman A, Fried L: Cystatin-C and inflammatory markers in the ambulatory elderly. *Am J Med* 118: 1416, 2005.
36. Wasen E, Isoaho R, Mattila K, Vahlberg T, Kivela SL, Irjala K: Serum cystatin C in the aged: relationships with health status. *Am J Kidney Dis* 42: 36-43, 2003.
37. 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* 300: 83-95, 2000.
38. Wiesli P, Schwegler B, Spinass GA, Schmid C: Serum cystatin C is sensitive to small changes in thyroid function. *Clin Chim Acta* 338: 87-90, 2003.
39. Fricker M, Wiesli P, Brandle M, Schwegler B, Schmid C: Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 63: 1944-1947, 2003.
40. Takeuchi M, Fukuda Y, Nakano I, Katano Y, Hayakawa T: Elevation of serum cystatin C concentrations in patients with chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 13: 951-955, 2001.
41. 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* 6: 505-511, 2000.
42. 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* 44: 2556-2557, 1998.

43. Strojan P, Svetic B, Smid L, Kos J: Serum cystatin C in patients with head and neck carcinoma. *Clin Chim Acta* 344: 155-161, 2004.
44. 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* 39: 115-118, 2006.
45. 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* 46: 193-197, 2000.
46. Bardi E, Bobok I, Olah AV, Olah E, Kappelmayr J, Kiss C: Cystatin C is a suitable marker of glomerular function in children with cancer. *Pediatr Nephrol* 19: 1145-1147, 2004.
47. Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB, Siscovick DS, Stehman-Breen C: Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *N Engl J Med* 352: 2049-2060, 2005.
48. Shlipak MG, Wassel Fyr CL, Chertow GM, Harris TB, Kritchevsky SB, Tyllavsky FA, Satterfield S, Cummings SR, Newman AB, Fried LF: Cystatin C and mortality risk in the elderly: the health, aging, and body composition study. *J Am Soc Nephrol* 17: 254-261, 2006.
49. 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* 65: 301-305, 2005.
50. Arimoto T, Takeishi Y, Niizeki T, Takabatake N, Okuyama H, Fukui A, Tachibana H, Nozaki N, Hirono O, Tsunoda Y, Miyashita T, Shishido T, Takahashi H, Koyama Y, Kubota I: Cystatin C, a novel measure of renal function, is an independent predictor of cardiac events in patients with heart failure. *J Card Fail* 11: 595-601, 2005.
51. Aras O, Tsai MY, Hanson NQ, Bailey R, Rao G, Hunninghake DB: Cystatin C is an independent predictor of fasting and post-methionine load total homocysteine concentrations among stable renal transplant recipients. *Clin Chem* 47: 1263-1268, 2001.