

Univerza v *Ljubljani*  
Fakulteta *za farmacijo*



MIROSLAV MIŠIČ

DIPLOMSKA NALOGA

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI ŠTUDIJ  
LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2010

Univerza v Ljubljani  
Fakulteta *za farmacijo*



MIROSLAV MIŠIČ

**POMEN DOLOČANJA KONCENTRACIJE KREATININA IN  
IZRAČUN OCENE GLOMERULNE FILTRACIJE PO  
TRANSPLANTACIJI LEDVIC**

THE IMPORTANCE OF DETERMINING THE CONCENTRATION OF  
CREATININE LEVELS AND CALCULATION OF GLOMERULAR  
FILTRATION AFTER RENAL TRANSPLANTATION

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo sem opravljal na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biok. Vse analize sem opravil v Biokemičnem laboratoriju.

Za nasvete in pomoč pri izdelavi diplomske naloge se zahvaljujem mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., spec. med. biok. Zahvalil bi se staršem, ki so me v času celotnega študija podpirali in spodbujali.

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biok.

MIROSLAV MIŠIĆ

Predsednica komisije: prof. dr. Marija Sollner – Dolenc, mag. farm.

Članica komisije: doc. dr. Barbara Ostanek, mag. farm.

# KAZALO

<b>POVZETEK</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>KAZALO SLIK</b> .....	<b>VI</b>
<b>KAZALO TABEL</b> .....	<b>VII</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1. UVOD</b> .....	<b>- 1 -</b>
1.1 Ledvice.....	- 1 -
1.1.1 Funkcije ledvic .....	- 1 -
1.1.2 Zgradba ledvic .....	- 1 -
1.1.3 Nefron.....	- 1 -
1.1.4 Nastajanje seča .....	- 2 -
1.1.5 Ledvična odpoved .....	- 3 -
1.1.6 Hemodializa.....	- 4 -
1.1.7 Testi za ugotavljanje funkcijske sposobnosti ledvic.....	- 6 -
1.2 Presaditev ledvic .....	- 7 -
1.2.1 Imunologija presaditve ledvic .....	- 8 -
1.2.2 Izbira prejemnika ledvice .....	- 8 -
1.2.3 Darovalec ledvice .....	- 9 -
1.2.4 Operativni poseg.....	- 9 -
1.2.5 Zavrnitev presajene ledvice .....	- 10 -
1.2.6 Zapleti po presaditvi .....	- 11 -
1.2.7 Preživetje s presajeno ledvico.....	- 12 -
1.3 Kreatinin .....	- 12 -
1.3.1 Merjenje koncentracije kreatinina v serumu .....	- 13 -
1.3.2 Določanje očistka endogenega kreatinina (ECC).....	- 14 -
1.4 Ocena stopnje glomerulne filtracije (GFR) ledvic.....	- 14 -
1.4.1 24-urni urin.....	- 16 -
1.4.2 Uporaba formul za oceno stopnje glomerulne filtracije .....	- 16 -
<b>2. NAMEN DELA</b> .....	<b>- 20 -</b>
<b>3. MATERIALI IN METODE</b> .....	<b>- 21 -</b>
3.1 Vzorci.....	- 21 -

3.2	Priprava vzorcev za analizo .....	- 21 -
3.3	Analizator Roche/Hitachi 917 .....	- 23 -
3.4	Primer izračuna glomerulne filtracije .....	- 24 -
3.5	Referentne vrednosti .....	- 25 -
3.6	Statistični test .....	- 25 -
<b>4.</b>	<b>REZULTATI IN RAZPRAVA.....</b>	<b>- 26 -</b>
<b>5.</b>	<b>SKLEP .....</b>	<b>- 39 -</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>- 40 -</b>

## POVZETEK

Presaditev ledvic je zdravljenje, ki ga izberejo številni bolniki s končno ledvično odpovedjo. Koncentracija kreatinina in ocena glomerulne filtracije (oGF) sta glavna parametra, s katerimi se ugotavlja delovanje presajene ledvice. Namen diplomske naloge je bil preučiti diagnostično vrednost določitve kreatinina in izračuna glomerulne filtracije pri 262 bolnikih, katerim je bila zaradi ledvične odpovedi zamenjana ledvica. Najprej smo določili koncentracijo kreatinina v serumu ter izračunali oceno glomerulne filtracije pri bolnikih s presajeno ledvico. Skupina bolnikov ima povprečno koncentracijo kreatinina v serumu 134,9  $\mu\text{mol/L}$ , povprečna ocena glomerulne filtracije pa je 53,8 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Z izračunom korelacije ( $R = -0,75$ ) smo ugotovili dobro medsebojno ujemanje in zaključili, da sta koncentracija kreatinina in izračun MDRD dobra pokazatelja funkcije ledvic. Transplantacija ledvic je bila uspešna v najmanj 90 % opazovane skupine.

## ABSTRACT

Renal transplantation is a form of a treatment that many patients, who have experienced the end stage kidney failure, resort to. The creatinine level and glomerular filtration rate (oGF) are the two most important parameters examined, in order to determine the kidneys (mal)function after transplantation. The aim of this final paper was to examine the diagnostic value that is to determine the creatinin level and the glomerular filtration rate in 262 patients. The latter had a renal transplantation due to the terminal renal failure. We first determined the concentration of serum creatinine level and observed if there is any decrease or increase in the glomerular filtration rate in patients with the renal transplation. The group's average result of the serum creatinine level and glomerular filtration rate were 134,9  $\mu\text{mol/L}$  and 53,8  $\text{mL/min/1,73m}^2$  respectively. Calculating the correlation ( $R = -0,75$ ) of the two parameters, mutual correlation was established. Thus we may conclude that creatinine level and MDRD are significant renal function indicators. The kidney transplantation was successful in at least 90% of the observed cases.

## KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz nefrona .....	- 2 -
Slika 2: Hemodializa .....	- 5 -
Slika 3: Prikaz presajene ledvice .....	- 10 -
Slika 4: Epruvete za odvzem polne krvi brez antikoagulanta .....	- 21 -
Slika 5: Hitachi 917 .....	- 23 -
Slika 6: Prikaz plošče za vzorce .....	- 24 -



## KAZALO TABEL

Tabela 1: Rezultati preiskovancev moškega spola .....	- 27 -
Tabela 2: Rezultati preiskovancev ženskega spola .....	- 32 -
Tabela 3: Razvrstitev pacientov v skupine glede na oGF .....	- 37 -
Tabela 4: Statistični pregled pacientov.....	- 37 -

## SEZNAM OKRAJŠAV

ECC	očistek endogenega kreatinina
GFR	stopnja glomerulne filtracije
HIV	humani imunodeficientni virus oz. virus imunske pomanjkljivosti
HLA	humani levkocitni antigen
IgG	imunoglobulin razreda G oz. primarni humani globulin gama
MDRD	modification of diet in renal disease
oGF	ocena glomerulne filtracije

# 1. UVOD

## 1.1 *Ledvice*

### 1.1.1 *Funkcije ledvic*

Ledvice imajo nalogo, da filtrirajo krvno plazmo in iz nje izločijo urin. S tem izločajo odpadne produkte presnove in telesu tuje snovi (1). Poleg tega sodelujejo pri uravnavanju kislinsko-baznega ravnovesja, osmolarnosti in volumna telesnih tekočin, uravnavanju ravnovesja elektrolitov, izločanju presnovnih proizvodov in tujih snovi ter pri tvorbi in izločanju hormonov (2).

### 1.1.2 *Zgradba ledvic*

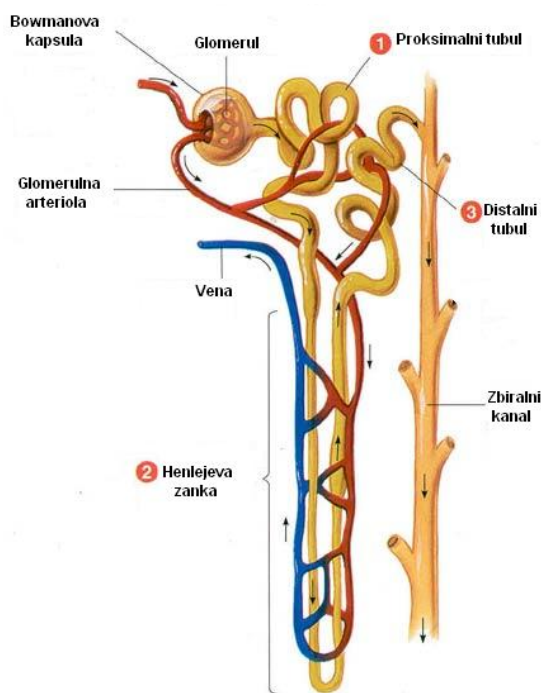
Ledvici ležita na hrbtni strani trebušne votline na obeh straneh hrbtenice med 12. prsnim in 3. ledvenim vretencem. Desna ledvica leži nekoliko nižje od leve, ker jo odriva desni jetrni reženj. Ledvice so temno rjave barve, trdne konsistence in gladke površine.

Vsaka ledvica je sestavljena iz ledvične skorje in ledvične sredice. Skorja in sredica sta sestavljeni iz **nefronov**, ki so osnovna funkcionalna enota, ter iz krvnih žil in živcev. Podaljški skorje delijo sredico na 8–18 delov, ki jim pravimo ledvične piramide. Širši del je obrnjen proti površini. Ožji del piramide je ledvična papila, ki seže do sinusa. Ena piramida s pripadajočo skorjo tvori ledvični reženj. Urin, ki se izloča na vrhu papil, zbirajo ledvične čašice, te pa se združujejo v večje votline – ledvične čaše, ki se v sinusu nadaljujejo v ledvični meh. Iz ledvičnega meha poteka sečevod (2).

### 1.1.3 *Nefron*

V vsaki ledvici je več kot milijon nefronov. Nefron sestavljajo glomerul (klobčič drobnih kapilar), proksimalni tubul, Henlejeva zanka in distalni tubul. Ledvični glomerul je

sestavljen iz glomerulnih kapilar in Bowmanove kapsule. Na začetku proksimalni tubul naredi nekaj zavojev, sledi mu navzdol potujoči ravni tubul, ta pa se nadaljuje v navzgor potekajoči ravni tubul. Med obema potekajočima tubuloma je segment, ki mu pravimo Henlejeva zanka. Navzgor potekajoči ravni tubul se nadaljuje v distalni tubul, ta pa se združuje z zbiralci seča. Glomeruli ležijo predvsem v ledvični skorji, tubuli pa v sredici (2).



Slika 1: Shematski prikaz nefrona (15)

### 1.1.4 Nastajanje seča

V ledvicah poteka nastajanje in izločanje urina. Urin, ki se izloči, je produkt **glomerulne filtracije**, tubulne reabsorpcije in tubulne sekrecije.

Tvorba urina se začne z ultrafiltracijo plazme skozi glomerulne kapilare v Bowmanovo kapsulo; pri tem nastaja primarni urin. Primarni urin oz. glomerulni filtrat je brez celic in proteinov (peptidi in majhni proteini so lahko prisotni), vse ostale sestavine so enake kot v plazmi. Sledi odtekanje primarnega urina v ledvične cevke (tubule) nefrona. Glavno absorpcijsko področje je proksimalni tubul. V njem se aktivno absorbirajo glukoza, aminokisliline, sečna kislina,  $\text{HCO}_3^-$ , nekateri proteini itd. V Henlejevi pentlji se filtrat koncentrira (reabsorbira se voda) v descendentnem delu, redči pa (reabsorbirajo se soli) v ascendentnem delu. Končni nadzor sestavin seča s hormonskim uravnavanjem poteka v

distalnem tubulu. V sistemu ledvičnih tubulov, Henlejevih zank in zbiralc se za telo pomembne snovi reabsorbirajo, reabsorbira pa se tudi okoli 99% vode. Seč, ki priteče iz zbiralc v ledvični meh, se imenuje sekundarni seč in tega v bistvu izločimo z uriniranjem. Odrasel človek dnevno proizvede okoli 180 litrov primarnega seča, izloči pa ga le okoli 1,5 litrov (2).

### **1.1.5 Ledvična odpoved**

Najpomembnejša naloga ledvic je tvorba urina. Z njim se iz telesa izločajo voda, odpadni produkti presnove, soli in kisline. Če ledvice odpovedo, te snovi zastajajo v organizmu in lahko pride do uremije (1). Uremija je vrsta zastrupitve krvi, pri kateri v krvi zastajajo odpadki, ki jih navadno izločajo ledvice z urinom (4). Ledvice je sicer s stradanjem in žejo mogoče razbremeniti, a presnove v telesu ni mogoče ustaviti. Zato je zelo pomembno te snovi izločiti iz telesa. Ledvice lahko odpovedo akutno ali kronično. Med najpogostejšimi vzroki za razvoj te bolezni je sladkorna bolezen, sledi zvišan krvni tlak v povezavi z aterosklerozo in žilnimi okvarami. Pogost vzrok so tudi vnetja ledvičnih telesc; glomerulonefritisi; prirojene okvare, kot so cistične bolezni ledvic in bolezni, povezane z ledvično boleznijo in naglušnostjo (1).

#### **- Kronična ledvična odpoved**

Počasna odpoved ledvic (t.j. kronična odpoved) je lahko posledica zelo različnih bolezni, ki vodijo do razkroja ledvičnega tkiva. Pogosti vzroki so kronično vnetje ledvičnih čaš in ledvic, zapora sečne poti s kamni in poškodba ledvic zaradi visokega krvnega pritiska (nefrosklerozna). Uremija pri kronični odpovedi ledvic je vzrok za 6 % vseh primerov smrti. Kaže se v veliki utrujenosti ter v hujšanju in nemiru, ki preide v apatijo, nato pa v globoko nezavest ledvične kome. Nadaljnji znaki so slabokrvnost, mišična slabost, bruhanje, diareja, mučno kolcanje, globoko dihanje, visok krvni pritisk in odpoved levega dela srca. Začetno hujšanje se zaradi slabega izločanja vode in zadrževanja vode v tkivu sprevrže v vodenico z edemi. Uremija lahko občasno napreduje. Življenjsko nevarna postane, kadar po tednih in mesecih deluje le še 5% ledvičnega tkiva. K zdravljenju sodi omejevanje beljakovin v hrani (npr. prehrana s krompirjem in jajci), kontrola bilance kalija, natrija in vode, kislinsko-bazičnega ravnovesja in visokega krvnega pritiska. V hujših primerih je

potrebno uporabiti umetne ledvice (hemodializo) ali presaditi ledvico zdravega človeka. Zlasti zvišan krvni pritisk je treba zdraviti pravočasno, ker se sicer ledvice še bolj poškodujejo (1).

#### - **Akutna ledvična odpoved**

Nenaden izpad ledvic imenujemo akutna odpoved ledvic. Značilno zanjo je nazadovanje ali popolno prenehanje izločanja urina. Poznamo tri vzroke akutne odpovedi ledvic:

1. Prekrvavitev ledvic je nezadostna. Večinoma gre za živčno pogojeno stiskanje ožilja ledvic, ki posebno pri nizkem krvnem pritisku vodi do odpovedi ledvičnega filtra. Tak t. i. ledvični šok nastane po velikih izgubah tekočine, po krvavitvah in transfuzijah z nepravilno krvno skupino.
2. Poškodba ledvic s strupi ali vnetji.
3. Odvodna pota urina so zaprta z ledvičnimi kamni ali tumorji.

Po začetni utrujenosti, slabosti in zaspanosti pride v petih do šestih dneh do hude uremije. Ko nastopi uremija, je potrebno kontrolirati uravnavanje vode, kislin, baz in soli ter vzdrževati izločanje urina oziroma ga po možnosti poviševati. Zdravljenje je na splošno usmerjeno proti osnovnim boleznim (terapija šoka, odstranitev možnih ovir odtoka urina). Po približno treh dneh je potrebno z umetnimi ledvicami premostiti odpoved ledvic.

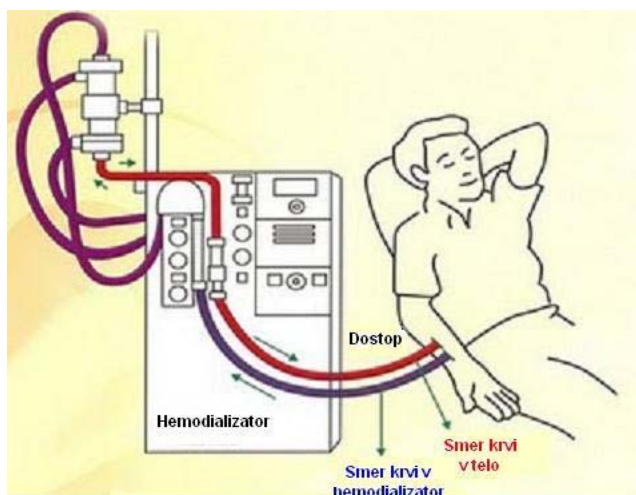
Akutna odpoved ledvic se lahko v 20% do 70% primerov konča smrtno. V drugih primerih se nekaj dni po začetku ponovnega delovanja ledvic začne faza pretiranega izločanja vode in soli. Funkcionalne motnje pa ostanejo pogostoma še po daljšem času (1).

### **1.1.6 Hemodializa**

V kemiji je dializa ločevanje raztopljenih delcev po velikosti z difuzijo skozi polprepustno membrano. V klinični medicini pomeni hemodializa odstranjevanje neželenih snovi iz telesnih tekočin ter dodajanje želenih snovi z difuzijo skozi polprepustno membrano hemodializatorja. Hemodializa lahko nadomesti izločevalno funkcijo ledvic, vzdržuje ravnotežje vode in elektrolitov ter uravnava acidobazno ravnotežje. Hemodializa predstavlja prvi uspešen poskus nadomestitve vitalne funkcije organa.

Pri hemodializi poteka izmenjava snovi med krvjo in dializno raztopino v hemodializatorju. Iz arterije je speljana cevka, po kateri priteče heparinizirana kri v

hemodializator. Tu se razleze v tenke plasti, ki jih omejuje polprepustna membrana. Ob izhodu iz hemodializatorja se kri ponovno zbere v cevko, ki je speljana v veno bolnika. Na drugi strani polprepustne membrane teče v nasprotno smer kot kri dializna raztopina, ki ima podobno elektrolitsko sestavo kot zunajcelična raztopina.



**Slika 2: Hemodializa (17)**

Prenos snovi skozi polprepustno membrano poteka po dveh mehanizmih; **difuziji** in **ultrafiltraciji**. Nekatere snovi se odstranjujejo iz telesnih tekočin tudi z **adsorpcijo** na določene vrste hemodializnih membran.

Difuzija je stalno in naključno termično gibanje molekul topila in topljenca. Vse molekule v raztopini se nenehno gibljejo (manjše se gibljejo hitreje od velikih). Če je koncentracija molekul neke snovi v raztopinah, ki ju loči polprepustna membrana različna, bo v določenem času difundiralo skozi membrano več molekul iz raztopine z večjo koncentracijo kot pa v obratni smeri. Pri hemodializi je prenos snovi z difuzijo skozi membrano zelo pomemben za majhne molekule (npr. sečnina, kreatinin, kalij) in manj pomemben za velike molekule.

Drugi način prenosa snovi skozi membrano je ultrafiltracija. Molekule topila, to je vode, so zelo majhne in lahko prehajajo skozi vse polprepustne membrane. Pri ultrafiltraciji pride do premika vode skozi membrano zaradi učinka hidrostatskega ali osmotskega tlaka. Sočasno z vodo se prenašajo skozi membrano tudi molekule topljencev. Ultrafiltracija ima dva različna učinka:

- odstranjuje plazemsko vodo in s tem presežek vode v telesu,
- odstranjuje v plazemski vodi raztopljene snovi.

Pomen difuzije in ultrafiltracije za prenos snovi med hemodializo je odvisen od molekulske teže snovi. Difuzija je pomembnejša za prenos manjših molekul, ultrafiltracija pa izrazito prispeva k odstranjevanju večjih molekul, ki slabo difundirajo skozi membrano.

Nekatere snovi (komplementni fragment C3a in C5a, albumin, fibrinogen, IgG) se odstranjujejo iz plazme tudi z adsorpcijo na določene membrane. Adsorpcija na membrane ni vedno zaželena, ker lahko povzroči odstranjevanje zdravil (npr. rifampicina, vankomicina, eritropoetina).

Poleg hemodialize poznamo tudi peritonealno dializo. To je trebušna dializa, ki jo bolnik izvaja sam na svojem domu. Poteka na drugačni osnovi kot hemodializa: bolnik si v trebušno votlino vtoči dva **litra** posebne raztopine, v katero se potem skozi trebušno opno oziroma peritonej odlagajo strupene snovi, ki se kopičijo v telesu. To tekočino bolnik po nekaj urah iztoči iz trebušne votline in zavrže ter ponovno vtoči svežo raztopino. To ponovi štiri krat na dan. Da lahko izvaja ta postopek, mu mora kirurg predhodno skozi trebušno steno operativno vstaviti poseben kateter, skozi katerega bolnik potem vtaka in iztaka raztopino. Na ta način je bolnik bolj neodvisen, saj mu ni treba dolgih ur preležati na dializi, vendar mora biti discipliniran in pri menjavah raztopine zelo paziti na higieno, da v trebušni votlini ne pride do vnetja. Prav tako bolniku ni treba upoštevati tako stroge diete kot pri hemodializi, mora pa, če kam potuje, s seboj vzeti veliko materiala, saj dnevno potrebuje vsaj osem litrov raztopine. Peritonealno dializo bolnik lahko opravlja tudi s pomočjo posebnega aparata, medtem ko spi; pred spanjem kateter na trebušni votlini spoji s strojem, ki potem čez noč sam opravlja menjave in je bolnik čez dan prost ali pa opravi manjše število menjav (3).

### **1.1.7 Testi za ugotavljanje funkcijske sposobnosti ledvic**

Med teste, s katerimi ugotavljamo funkcijsko sposobnost ledvic, spadajo:

- *radiološke preiskave*, ki se uporabljajo za izboljšanje diagnostike ledvičnih bolezni. Z njimi se lahko prikažejo velikost, oblika in orientacija ledvic ter obstrukcije v sečilih ali pa prisotnost tumorskega procesa. Nekatere uporabljene preiskave so intravenska urografija, retrogradna pielografija, ledvična angiografija in še druge.
- *fizikalno-kemijski testi*, kamor spada kvalitativna analiza urina, ki je osnovna za ugotavljanje funkcijske sposobnosti ledvic. Ocenjuje se izgled, barvo, vonj, pH, relativno gostoto in mikroskopski pregled sedimenta. Kemična sestava urina se



Najpomembnejši testi za delovanje ledvic so ledvični očiščki. Uporabljajo se snovi, ki se najbolj približajo lastnostim idealnih filtracijskih označevalcev. Najnatančnejše ocene dobimo pri določevanju očiščkov eksogenih snovi (inulin,  $^{125}\text{I}$ -iotalamat,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  - dietilentriamin-pentaocetna kislina -  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA,  $^{51}\text{Cr}$ -etilendiamin-tetraocetna kislina  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA). Za rutinsko analizo so postopki zahtevni, nepraktični in cenovno neugodni. Najprimernejši so očiščki endogenih snovi (kreatinina), s katerimi lahko določimo stopnjo glomerulne filtracije, reabsorbcijo in sekrecijo v tubulih (6).

## **1.2 Presaditev ledvic**

Presaditev ledvic je zdravljenje, ki ga izberejo številni bolniki s končno ledvično odpovedjo. Veliko bolnikov je prepričanih, da je najboljši način zdravljenja ledvične odpovedi presaditev ledvice, ko bolniku presadijo ledvico umrlega ali živečega darovalca. Dolgotrajno preživetje bolnikov s presajeno ledvico je boljše kot preživetje dializnih bolnikov, vključenih na čakalno listo za presaditev ledvic. Uspešna presaditev ledvice omogoča bolnikom boljšo kakovost življenja kot dializa. Cena uspešne presaditve ledvice se izenači s ceno dializnega zdravljenja po približno dveh letih. Kasneje je letno zdravljenje bolnika s presajeno ledvico, ki nima zapletov, lahko celo petkrat cenejše od zdravljenja kroničnega dializnega bolnika. Čeprav presaditev ledvice bolniku nudi največjo neodvisnost, saj ponovno zaživi kot pred ledvično odpovedjo, pa žal ne prinaša čudežne rešitve. Bolnik mora namreč do konca delovanja presajene ledvice uživati zdravila, ki zmanjšujejo imunski odziv telesa, da telo ne bi zavrnilo tujega organa, pa tudi veliko drugih zdravil, da se ponovno vzpostavi ravnotežje v telesu. Zaradi jemanja imunosupresivnih zdravil so bolniki s presajeno ledvico bolj dovzetni za okužbe in nastanek rakastih tvorbo, predvsem kožnega raka, soočati pa se morajo tudi s hudimi stranskimi učinki, ki jih lahko imajo ta zdravila. Ti so visok krvni tlak, holesterol, nastanek sive mreže na očeh, osteoporoza, obraba kolkov; bolniki lahko dobijo tudi potransplantacijski diabetes in druge težave (3).

### **1.2.1 Imunologija presaditve ledvic**

Pri presaditvi lastnega tkiva na drugo mesto v telesu govorimo o avtolognem presadku. Presadek je singeni ali izogenski, če imata darovalec in prejemnik enak genotip (npr. enojajčna dvojčka). Presadek je alogenski, če imata darovalec in prejemnik različen genotip, vendar pripadata isti vrsti. Presadek je ksenogenski, če sta darovalec in prejemnik pripadnika različne vrste. Antigeni alogenskega oziroma ksenogenškega presadka, ki jih prejemnik prepozna kot tuje, se imenujejo aloantigeni oziroma ksenoantigeni. Pri presaditvi ledvic bolnikov, ki imajo ledvično odpoved, je presadek največkrat alogenski, izjemoma je izogenski. Ljudem še ne presajajo ksenogenških ledvic.

Presaditvi ledvice sledi imunski odziv prejemnika na aloantigene presadka, ki lahko pripelje do odpovedi delovanja presajene ledvice. V imunski odziv (v začetnem obdobju je ta najmočnejši) so vpleteni limfociti T, limfociti B, makrofagi, protitelesa, različni citokini ter še druge celice in molekule. Premagovati je treba tri imunske ovire, da je imunski odziv čim manjši:

- 1.) Prejemnik in darovalec morata biti skladna v krvni skupini AB0. Pravila zahtevajo, da imata darovalec in prejemnik enaki krvni skupini. Če bi upoštevali le strokovne pogoje skladnosti, bi bili čakajoči bolniki s krvno skupino 0 oškodovani, saj bi ledvice darovalcev s krvno skupino 0 lahko dodelili bolnikom vseh krvnih skupin
- 2.) Stopnja skladnosti v glavnih histokompatibilnostnih antigenih je v korelaciji z dolgotrajnim preživetjem presajenih ledvic in je zato pomembna pri odločanju o dodelitvi ledvice.
- 3.) V serumu prejemnika ledvice ne sme biti protiteles proti antigenom HLA darovalca. Ta lahko nastanejo zaradi predhodnih transfuzij krvi, nosečnosti ali predhodne presaditve (3).

### **1.2.2 Izbira prejemnika ledvice**

Kandidati za presaditev ledvice so bolniki s končno ledvično odpovedjo ali z napredujočo kronično ledvično odpovedjo (očistek kreatinina 15–20 ml/min), ki nimajo absolutnih zadržkov za poseg in si želijo presaditev ledvice. Absolutne kontraindikacije za presaditev so redke in vključujejo razširjeni malignom, okužbo s HIV, aktivno sistemska

okužbo in stanja s pričakovanim preživetjem, ki je krajše od dveh let. Kontraindikacijo predstavlja tudi nesodelovanje bolnika pri zdravljenju. Zgornja starostna meja ni enaka v vseh centrih. Pri nas je priporočljiva zgornja starostna meja 65 let. Z ustreznimi preiskavami in terapevtskimi posegi pred presaditvijo je potrebno zagotoviti, da ne pride do poslabšanja zdravstvenega stanja. Protokol obsega oceno prejemnika v smislu sodelovanja pri zdravljenju, natančno anamnezo, fizikalni pregled ipd. Zelo pomembno je odkrivanje, zdravljenje in preprečevanje okužb. Potrebna je posebna pozornost pri okužbi z virusi, kot so HIV, virusi hepatitisa B in C. Po odpovedi delovanja presajene ledvice je pogosto možna ponovna presaditev ledvice (3).

### **1.2.3 Darovalec ledvice**

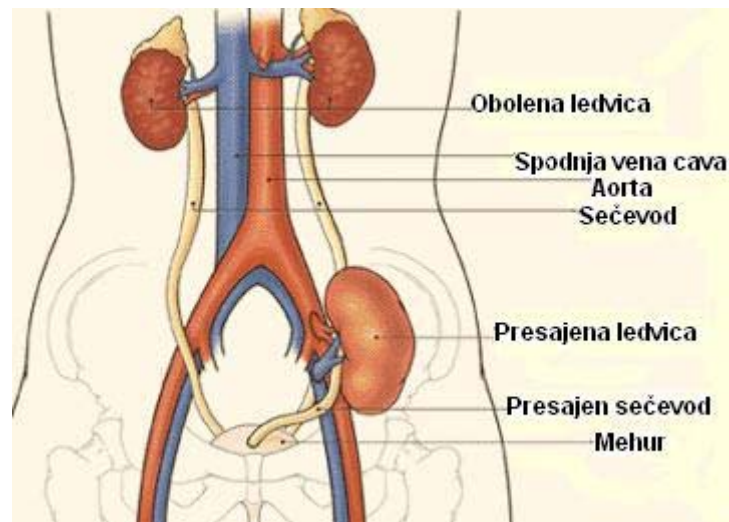
Darovalec je lahko vsakdo, pomembno je le, da je zdrav in ni nosilec infekcijskih, zlasti virusnih bolezni (npr. virusa HIV, hepatitisa B in C) oziroma da nima malignega obolenja, ki bi se lahko razširilo na prejemnika. Za darovanje organov po svoji smrti se lahko odloči tudi mladoletna oseba, vendar šele po dopolnjenem 15. letu starosti. Če se človek za časa svojega življenja ni opredelil za darovanje svojih organov po smrti, se njegove organe lahko odvzame, če temu ne nasprotujejo njegovi najbližji.

Pri mrtvem darovalcu lahko zdravniki odvzamejo dele telesa šele takrat, ko je po vseh predpisih ugotovljena smrt. Sodobna medicina je možgansko smrt, tj. dokončno odpoved delovanja celotnih možganov, sprejela kot smrt posameznika. Takšno odločitev je sprejela tudi večina veroizpovedi sodobnega sveta. Ker je za uspešno presaditev organov ključnega pomena njihova zadostna prekrvavljenaost, je po smrti darovalca potrebno čim prej urediti vse pogoje za odvzem organov. Prav zato je tako pomembno, da se človek za darovanje svojih organov opredeli že za časa svojega življenja, saj je na ta način prihranjen dragoceni čas, ki bo drugemu človeku poklonil življenje (3).

### **1.2.4 Operativni poseg**

Praviloma bolniku presadijo le eno ledvico. Običajno mesto vsaditve ledvice je desna ali leva iliakalna loža, odvisno od tega, katera ledvica je na razpolago. Vendar ni strogo pravilo, da gre leva ledvica na desno in obratno. Ledvico namestijo zunaj peritoneja in jo hladijo ves čas operacije. Najbolje je povezati konec ledvične arterije s stranjo skupne

iliakalne arterije. Ledvično veno se poveže z zunanjo iliakalno veno. Prekinjene limfne vode je potrebno skrbno podvezati, da ne pride do nastanka limfokel. Žilnim povezavam sledi še povezava sečevoda vsajene ledvice in sečnika prejemnika s protirefluksno tehniko. Pri ponovni presaditvi ledvico navadno namestijo v nasprotno iliakalno ložo kot pri prvi presaditvi (3).



**Slika 3: Prikaz presajene ledvice (16)**

### **1.2.5 Zavrnitev presajene ledvice**

Poznamo tri različne sindrome zavrnitve presajene ledvice:

- 1.) **Hiperakutno zavrnitev** povzročijo protitelesa proti antigenom HLA darovalca, ki so v serumu prejemnika že ob presaditvi, ali pa jo povzroči neskladnost v krvni skupini AB0. Ta zavrnitev ni ozdravljiva. Nastane nekaj minut ali ur po presaditvi, oziroma ponovni prekrvavitvi presajene ledvice. Hiperakutne zavrnitve praviloma ne srečujemo, saj je pogoj za presaditev skladnost krvnih skupin.
- 2.) **Akutna zavrnitev** se najpogosteje pojavi v prvih treh mesecih in je navadno ozdravljiva. Kadar nastane kasneje, jo imenujemo kasna zavrnitev in je pogosto uvod v kronično zavrnitev. Večino akutnih zavrnitev posredujejo limfociti T. Na akutno zavrnitev je potrebno pomisliti pri porastu serumskega kreatinina za 25 % ali več v primeru, da tega ni mogoče pojasniti z drugimi vzroki.
- 3.) **Kronična zavrnitev** postopno pripelje do odpovedi delovanja presajene ledvice in je neozdravljiva. Ustreznejše ime te spremembe je kronična transplantacijska nefropatija. Vpleteni so imunski in neimunski dejavniki. Imunski dejavniki

### **1.2.6 Zapleti po presaditvi**

Možni so zapleti v obliki okužbe, srčno-žilnih bolezni, malignoma, osteonekroze in osteoporoze. Okužbe so med glavnimi vzroki smrti, zlasti v prvih mesecih po presaditvi. Klinični znaki se pogosto kažejo kot zvišana telesna temperatura neznanega izvora. V prvem mesecu so najpogostejši povzročitelji bolnišnični mikrobi. Pogoste so bakterijske okužbe kirurške rane, dihal, sečil in žilnih katetrov. Od drugega do šestega meseca se pojavljajo predvsem oportunistične okužbe, najbolj pogosta mesta okužbe pa so pljuča, centralno živčevje, sečila in prebavila. Po šestem mesecu pa prihaja do običajnih okužb, ki prizadenejo tudi splošno prebivalstvo (večinoma gre za okužbe dihal).

S postopnim zmanjševanjem umrljivosti zaradi okužb je postala aterosklerotična srčno-žilna bolezen glavni vzrok smrti po presaditvi. Pri bolnikih s srčno-žilno boleznijo pred presaditvijo je veliko tveganje za srčno-žilne zaplete po presaditvi. Sladkorna bolezen je najpomembnejši dejavnik tveganja za srčno-žilne bolezni in je težje vodljiva po presaditvi. Pojavi se tudi pri 5–10 % prejemnikov, ki pred presaditvijo niso bili sladkorni bolniki. Kajenje, ki ga je potrebno opustiti, ter hiperlipidemija in hipertenzija, so pomembni dejavniki tveganja za nastanek ateroskleroze.

Maligni tumorji so na tretjem mestu kot vzrok smrti v poznem obdobju po presaditvi. Pri četrtini prejemnikov, ki so z delujočim presadkom živeli vsaj 10 let, je bil vzrok smrti malignom. Pogostost nekožnih malignomov je tri do štirikrat večja kot pri enako starih osebah, ki nimajo presajenih ledvic. Pogostost malignomov narašča z odmaknjenostjo od presaditve.

Osteoporoza je pogost zaplet v poznem obdobju. Izguba kostne mase je največja v prvem letu. Zlomi so pogosti pri sladkornih bolnikih. Bolnikom se svetuje izvajanje rednih aerobnih vaj, ki koristijo tudi prejemnikom z velikim tveganjem za srčno-žilne zaplete. Najpogostejše mesto osteonekroze je glavica stegenice (3).

### **1.2.7 Preživetje s presajeno ledvico**

Preživetje presajenih ledvic in prejemnikov se je v desetletjih znatno izboljšalo. Značilno enoletno preživetje prejemnikov ledvice živega sorodniškega darovalca je 98 %, prejemnikov ledvice umrlega darovalca pa 95 %.

Enoletno preživetje presajene ledvice živega sorodniškega darovalca je 95 %, preživetje omenjenega darovalca s kadavrsko ledvico pa 90 %. Dolgotrajno preživetje presadkov se izraža z razpolovno dobo. Ta doba odgovarja času, v katerem se razpolovi število vseh presadkov, ki so delovali po enem letu. Če je darovalec sorojenec, ki je skladen s prejemnikom v dveh haplotipih HLA, je razpolovna doba presadkov 25 let. Če je živi sorodniški darovalec skladen v nobenem ali enem haplotipu HLA, je razpolovna doba 14 let. Kadar so umrli darovalci neskladni s prejemniki v vseh antigenih HLA, je razpolovna doba 8 let. Če umrli darovalci in prejemniki nimajo neskladja v antigenih HLA, je razpolovna doba presadkov 16 let (3).

## **1.3 Kreatinin**

Kreatinin je endogena snov, ki nastaja s spontano z neencimsko reakcijo iz kreatina in kreatin-fosfata v mišicah. Količina kreatinina, ki nastane, je sorazmerna celotni mišični masi. Mišična masa tako določa vrednosti plazemske koncentracije kreatinina pri posameznikih in je odvisna od spola, starosti, rase in od proteinske prehrane. Zaradi tega so vrednosti kreatinina višje pri moških kot pri ženskah in nižje pri starejših osebah (9). Dnevno se v kreatinin pretvori 1–2 % kreatina. Plazemska raven kreatinina je dokaj konstantna, odvisna je od mišične mase in od delovanja ledvic. Kreatinin se iz krvi prosto filtrira v glomerulih v Bowmanovo kapsulo in se ne reabsorbira v tubulih, pač pa se le v manjši meri secernira v tubulih (10 %). Vse te lastnosti omogočajo, da se očistek kreatinina uporablja za oceno stopnje glomerulne filtracije oziroma za določitev ledvične funkcije (13).

### **1.3.1 Merjenje koncentracije kreatinina v serumu**

V kliničnih laboratorijih je za določanje koncentracije kreatinina najpogosteje uporabljena metoda z uporabo alkalnega pikrata ali t. i. **Jaffejeva metoda**.

Kreatinin + pikrinska kislina → kompleks kreatinin-pikrat

Metoda je nespecifična. Lažno pozitivne rezultate dajejo proteini, glukoza, askorbinska kislina,  $\alpha$ -ketokislina, aceton, sečna kislina, hemoliza ipd. Imenujemo jih psevdokreatinini in lažno zvišajo koncentracijo kreatinina za 20 %. Lažno negativne rezultate daje bilirubin. Izboljšanje specifičnosti in zmanjšanje vpliva interferenc se doseže z modifikacijo in izvedbo v obliki kinetične metode.

Modifikacije Jaffejeve metode:

- Adsorpcija kreatinina na aluminijski silikat
- Adsorpcija kreatinina na ionske izmenjevalce
- Metode z deproteinizacijo
- Kinetične metode (uporabljene na analizatorju)

Merjenje nastanka kompleksa v določenem intervalu (20 – 80 sekund), nekateri od psevdokreatininov reagirajo hitro (tekem 20 sekund reagira glukoza, askorbinska kislina, sečna kislina), drugi pa počasneje (80 – 100 sekund; proteini, acetoacetat, piruvat, aceton), kreatinin pa znotraj časovnega intervala med 20 in 80 sekund.

Poznane so tudi encimske metode, ki so analitično bolj specifične, saj zmanjšajo vpliv interferenc. Obstaja več vrst encimskih metod, vse pa temeljijo na hidrolizi kreatinina. Ostale metode, kot so kromatografske metode (npr. HPLC, GC) in metode, ki temeljijo na masni spektrometriji, so občutljivejše in analitično bolj specifične kot encimske in kinetične. Pokažejo pravo koncentracijo kreatinina v serumu in se uporabljajo kot referenčne metode (13).

### 1.3.2 Določanje očistka endogenega kreatinina (ECC)

Za določitev ECC potrebujemo koncentracijo kreatinina v urinu in serumu, volumen celotnega 24-urnega urina ter bolnikovo telesno površino. Povprečna telesna površina je  $1,73m^2$ , dejansko pa razberemo iz nomograma.

$$ECC (ml / s) = \frac{U_{Cr} \cdot V_{urin}}{S_{Cr}} \cdot \frac{1,73m^2}{BSA} \cdot \frac{1}{t}$$

$$BSA = 0,007184 \cdot teža^{0,425} \cdot višina^{0,725}$$

$$ECC (mL/min) = ECC(mL/s) \times 60$$

$U_{Cr}$  ... koncentracija kreatinina v urinu ( $\mu\text{mol/L}$ )

$V_{urin}$  ... volumen 24-urnega urina (mL)

$t$  ... čas zbiranja urina (s)

$S_{Cr}$  ... koncentracija kreatinina v serumu ( $\mu\text{mol/L}$ )

$BSA$  ... bolnikova telesna površina ( $m^2$ )

Teža (kg); višina (cm)

### 1.4 Ocena stopnje glomerulne filtracije (GFR) ledvic

Na glomerulno filtracijo vplivajo vsi faktorji, ki uravnavajo arterialni tlak in s tem pretok krvi skozi ledvice. Stopnja glomerulne filtracije (GFR) označuje količino krvi, ki se prečisti skozi glomerule na enoto časa ter je produkt filtracijskega koeficienta (Kf) in efektivnega filtracijskega tlaka.

$$GFR = Kf \times \text{ef. filtr. tlak} [mL/s]$$

Pretok krvi skozi ledvice (RBF) je tesno povezan s pretokom plazme (RPF), odnos med tema dvema količinama opisuje enačba:

$$RPF = RBF \times (1 - \text{hematokrit})$$



Pretok plazme skozi ledvice je enak pretoku krvi, zmanjšan za delež volumna krvi, ki ga zavzema krvne celice. Pretok plazme skozi ledvice (RPF) je v normalnih pogojih 15–20 % in ga definiramo kot filtracijsko frakcijo (FF). Preostalih 80 % plazme pa preko odvodnih arteriol zapusti glomerulne kapilare in steče v peritubulno žilje (1).

$$FF = GFR/RPF \text{ [%]}$$

Normalna količina glomerulnega filtrata je približno 120 mL/min oziroma 170 L/24h. Končna količina izločenega urina pa je 1–2 L/24h, odvisno od tubulne reabsorpcije in od vnosa tekočine.

Ocena GFR je dober pokazatelj filtracijske kapacitete v ledvicah in je zato uporabna za oceno ledvičnega delovanja in za spremljanje napredovanja ledvične bolezni. Ocena GFR pomeni tudi pomemben podatek za določitev odmerkov zdravil pri zdravljenju različnih bolezni. Glomerulna filtracija je odvisna od starosti, spola in telesne površine. S staranjem se glomerulna filtracija zmanjšuje. Vrednosti so tekom dneva lahko različne, povečajo se po zaužitju beljakovin in se zmanjšujejo s telesnim naporom. V klinični praksi se največkrat ocenjuje trenutno vrednost GFR in njeno spremembo v določenem času. Za določanje ocen GFR so primerne snovi, ki se filtrirajo v glomerulih, se ne reabsorbirajo in se ne secernirajo v tubulih ter je njihova koncentracija v krvi konstantna, njihovo določevanje pa enostavno in zanesljivo. GFR lahko ocenimo z ledvičnim očistkom, ki pove, kolikšen volumen plazme določene snovi v enoti časa se očisti in izloči z urinom.

$$GFR = \frac{U_x \cdot V}{P_x}$$

GFR ... stopnja glomerulne filtracije (ml/s)

$U_x$  ... koncentracija snovi v urinu (mol/L)

$P_x$  ... koncentracija snovi v plazmi (mol/L)

V ... količina (volumen) urina (ml/24 ur)

Najbolj široko uporabljena ocena za GFR v klinični praksi je merjenje čistka kreatinina v 24-urnem urinu in merjenje koncentracije kreatinina v serumu (5).

### **1.4.1 24-urni urin**

24-urni urin se v klinični praksi uporablja za oceno ledvičnega očistka kreatinina in posledično za oceno ledvične funkcije. Lahko pa se uporablja tudi za določitev očistka uree ter za določitev vnosa natrija, kalija, fosforja in proteinov. Za to preiskavo je pomembno, da je urin pravilno in točno zbran. Razne nepravilnosti lahko pripeljejo do napačnih rezultatov.

Zbiranje 24-urnega urina se uporablja za primerjavo koncentracij analitov v urinu in krvi, kar lahko pomaga pri proučevanju in diagnosticiranju ledvičnih bolezni. Bistvenega pomena je, da gre za časovno točno določeno in dokumentirano zbiranje urina. 24-urni urin se za preiskave zbira v primarne zbiralnike, ki morajo biti kemično čisti, s primerno široko odprtino, s kapaciteto 2–3 litrov in z vodotesnim pokrovom. Snovi za zbiralnike in pokrove ne smejo absorbirati in adsorbirati analitov iz urina, temveč morajo urin zaščititi pred svetlobo in zunanjo kontaminacijo. Za 24-urni urin se običajno uporabljajo kemični konzervansi, ki se med sabo razlikujejo glede na specifičen analit in določeno preiskavo (13).

### **1.4.2 Uporaba formul za oceno stopnje glomerulne filtracije**

Zbiranje urina je navadno nadležno in naporno za bolnika, če le-ta ni hospitaliziran. Možne napake so, da urin ni celoten in zbran v 24-ih urah ter da gre za dodajanje vode ali urina druge osebe. Vse te nepravilnosti so lahko ključne pri preiskavah in so pogosto vzrok za nepravilne rezultate. Na rezultate vpliva tudi uporabljena metoda za določanje kreatinina. Posledično so bile izpeljane številne formule, med katerimi bodo v nadaljevanju podrobneje razčlenjene naslednje:

1.) **Cockcroft-Gault-ova formula:**

$$Cl_{Cr} (ml / min) = \frac{(140 - starost) \cdot teža \cdot (1 - (0,15 \cdot spol))}{0,814 \cdot S_{Cr}}$$

$Cl_{Cr}$  ... ledvični očistek kreatinina (ml/min)

$S_{Cr}$  ... koncentracija kreatinina v serumu ( $\mu$ mol/l)

Starost (leta)

Teža (kilogram)

spol (moški = 0, ženska = 1)

Gre za eno prvih predlaganih formul, ki datira v leto 1976 in je še danes veliko v uporabi za odrasle, priporoča pa jo organizacija Food and Drug Administration (FDA) za predpisovanje odmerkov zdravil. Formulo so izpeljali na podlagi raziskave, ki je zajemala 249 hospitaliziranih moških bolnikov. Bolniki so bili stari med 18 in 92 let (povprečna starost je bila 57 let). Od teh je bilo le 59 (tj. 24 %) bolnikov starejših od 70 let. Kot metodo so uporabili metodo očistka kreatinina v 24-urnem urinu. Raziskava ni vključevala žensk, vendar je za njih predvidevala 15 % znižanje ledvičnega očistka kreatinina (v formuli se upošteva faktor množenja 0,85). (8).

## 2.) MDRD formula

$$oGF \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (S_{Cr} / 88,4)^{-1,154} \times \text{Starost}^{-0,203} \times 0,720 \text{ (če je ženska)} \times 1,210 \text{ (če je črnc)}$$

### **oGF $\geq$ 90 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> – normalna ali zvečana glomerulna filtracija**

Pri oGF nad 90 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> ne oddajamo številčnih vrednosti.

### **oGF med 60 in 89 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> – blago zmanjšana glomerulna filtracija**

Izvid ustreza kronični ledvični bolezni stopnje 2.

MDRD formula ni dovolj občutljiva za oceno GF v območju med 60–89 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>.

### **oGF med 30 in 59 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> – zmerno zmanjšana glomerulna filtracija**

Izvid ustreza kronični ledvični bolezni stopnje 3.

### **oGF med 15 in 29 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> – močno zmanjšana glomerulna filtracija**

Izvid ustreza kronični ledvični bolezni stopnje 4.

### **oGF pod 15 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> – ledvična odpoved, potreba po nadomestnem zdravljenju z dializo ali presaditvijo ledvice**

Izvid ustreza kronični ledvični bolezni stopnje 5.

Pri vseh stopnjah velja ocena glomerulne filtracije (oGF) po MDRD formuli samo za preiskovance s kroničnim ledvičnim obolenjem.

V zadnjem času bolj priporočajo različne izpeljave formule MDRD Study (Modification of diet in renal disease) iz organizacije National Institutes of Health (ZDA). Gre za matematične formule, v katere so vključeni različni parametri, npr. koncentracija kreatinina v serumu ( $S_{Cr}$ ), starost (18 let ali več), spol in rasa. Za referenčno metodo so uporabili merjenje urinskega očistka <sup>125</sup>I-ioatamata. Formulo MDRD Study so validirali na bolnikih različnih ras, starih med 18 in 70 let s kronično ledvično boleznijo. Omenjeni urinski očistek je dober pokazatelj za večino ledvičnih bolezni, tudi pri transplantaciji ledvic. National Kidney Disease Education Program (NKDEP) je organizacija, ki se zavzema za zmanjšanje obolenosti in umrljivosti zaradi bolezni ledvic in njenih zapletov. Predstavlja skupino bolnikov, ki jih niso testirali pri izpeljavi formule MDRD Study.

Skupino sestavljajo otroci; bolniki, starejši od 70 let; nosečnice; bolniki z zelo veliko telesno težo in mišično maso ter bolniki z določenimi prehrabnenimi navadami. Uporaba formul pri teh skupinah bi lahko dajala napačne rezultate. Pri izpeljavi formule prav tako niso izpostavili bolnikov z rakom in bolnikov z normalno ledvično funkcijo. NKDEP priporoča uporabo ene od štirih formul MDRD Study, in sicer glede na vrsto metode za določanje koncentracije kreatinina v serumu ter glede na to, ali je le-ta kalibrirana z masno spektrometrijo redčitve izotopa (IDMS – isotope dilution mass spectrometry), ki je referenčna metoda. Niti ena MDRD formula ne vključuje bolnikove telesne teže in višine, rezultati za oceno GFR pa so podani glede na povprečno telesno površino (1,73m<sup>2</sup>) (8).

### 3.) Wrightova formula

$$GFR(ml / min) = \frac{(6580 - (38,8 \cdot starost)) \cdot BSA \cdot (1 - (0,168 \cdot spol))}{S_{Cr}}$$

$$BSA = 0,007184 \cdot teža^{0,425} \cdot višina^{0,725}$$

BSA ... površina telesa (m<sup>2</sup>)

Wright s sodelavci je razvil formulo za starejšo populacijo bolnikov z rakom. Pri raziskavi so vključili 62 bolnikov (žensk in moških). Povprečna starost je bila nad 70 let. Bolniki so bili zdravljeni za rakom v bolnišnici Northern Centre for Cancer Treatment, Newcastle General Hospital v Veliki Britaniji (UK). Za določitev kreatinina so uporabili kinetično Jaffejevo in encimsko metodo, z določitvijo kreatin-kinaze ali brez nje. Za referenčno metodo so uporabili urinski očistek <sup>51</sup>Cr-EDTA. Za izračun GFR se za Wrightovo formulo uporabljajo koncentracija kreatinina v serumu (S<sub>Cr</sub>), spol, telesna površina bolnika – izračunamo jo s pomočjo teže (v kilogramih) in višine (v centimetrih) bolnika – in starost bolnika (9).

## 2. NAMEN DELA

Namen diplomske naloge je proučiti diagnostično vrednost določitve kreatinina in izračuna ocene glomerulne filtracije pri bolnikih, ki imajo presajeno ledvico. Osnovni parameter določitve je koncentracija kreatinina, s pomočjo izračuna po formuli MDRD pa lahko dobimo tudi oceno glomerulne filtracije. S tema dvema parametroma bomo ugotovili, kako deluje presajena ledvica in ocenili ledvično funkcijo. Bolnike bomo razvrstili v skupine glede na funkcijo ledvic.

Rezultate določitve kreatinina bomo primerjali z normalnimi vrednostmi, ki veljajo za zdravo populacijo in izračunali, v kolikšni meri ti rezultati odstopajo od normalnih vrednosti. Koncentracije kreatinina bomo primerjali z izračuni glomerulne filtracije in izračunali korelacijo med njima. Korelacija je medsebojna zveza, ki predstavlja moč linearne povezanosti dveh spremenljivk (koncentracije kreatinina in izračuna glomerulne filtracije).

## 3. MATERIALI IN METODE

### 3.1 Vzorci

Na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo smo analizirali vzorce 262 pacientov, katerim je bila zaradi ledvične odpovedi zamenjana ledvica in so po transplantaciji prišli na kontrolni pregled. V skupini je bilo 123 pacientov ženskega in 139 moškega spola. Skupina pacientov ima povprečno starost 52,5 let, od tega imajo ženske povprečno 51,5 let (najmlajša pacientka ima 20 let, najstarejša pa 75 let), moški pa 53,5 let (najmlajši pacient ima 21 let, najstarejši pa 72 let). Uporabili smo krvni serum pacientov. Krvni serum je tekoča frakcija krvi, pri kateri so odstranjene krvne celice in faktor strjevanja krvi (fibrinogen).

### 3.2 Priprava vzorcev za analizo

Serum dobimo tako, da najprej odvezamemo pacientu polno kri brez antikoagulantov (epruveta z rdečim zamaškom), po odvzemu epruveto pustimo 30–60 minut, da kri



Slika 4: Epruvete za odvzem polne krvi brez antikoagulantov

koagulira. Nato epruveto centrifugiramo, da ločimo krvni strdek od seruma. Tako pripravljen krvni serum je primeren za analizo. Največ težav lahko nastopi zaradi napačnega venskega odvzema, zato obstajajo **priporočila za odvzem vzorcev venske krvi**.

Pri odvzemu venske krvi moramo dobiti biološko reprezentativen vzorec, ki je primeren za laboratorijsko analizo. Odvzem mora biti izveden pravilno, **brez napak**, kot so nepravilna identifikacija preiskovanca ali odvzetega vzorca krvi, uporaba napačnega antikoagulantna, odvzem nepravilne količine krvi, hemoliza in hemokoncentracija odvzetega vzorca.

Kri odvezamo po priporočenem postopku za odvzem venske krvi. Uporabljamo samo sistem **zaprtega načina** odvzema krvi. Z njim zmanjšamo verjetnost okužbe, odvezamo pravilno količino krvi in uporabimo pravo epruveto. Brizg in navadnih igel ne uporabljamo. Pri odvzemu krvi so potrebni predpisani načini zaščite pred okužbo. Z vsemi vzorci ravnamo tako, kot da so kužni.

Priporočen čas za odvzem krvi je **med 7 in 9 uro**.

Odvzem krvi moramo narediti po točno določenih zaporednih opravilih :

1. preiskovanca pripravimo na odvzem krvi
2. pred odvzemom ga pravilno identificiramo
3. preverimo zahtevano dieto, predpisano antikoagulantno terapijo, alergijo na lateks
4. pripravimo ustrezne pripomočke in pribor za odvzem krvi
5. preiskovanca udobno namestimo
6. namestimo žilno prevezo, preiskovanca prosimo naj stisne pest in izberemo veno
7. nataknemo rokavice
8. mesto vboda očistimo in razkužimo
9. vbodemo v veno in v nosilec vstavimo epruveto; preiskovanec razpre pest
10. kri odvezamo v epruvete po predpisanem vrstnem redu
11. sprostimo in odstranimo žilno prevezo
12. na vbodno mesto namestimo tampon
13. izvlečemo iglo iz žile in aktiviramo zaščitni sistem na igli
14. tampon močno pritismo na vbodno mesto, preverimo, če je krvavitev prenehala in vbodno mesto prevezemo ali prelepimo
15. epruvete z odvzeto krvjo označimo z nalepkami in označimo čas odvzema krvi
16. če laboratorijski test to zahteva, epruvete postavimo v led ali v termostat
17. pravilno označene epruvete čim prej prenesemo v laboratorij

Po čiščenju in razkuževanju vbodnega mesta pazimo, da je vbodno mesto pred vbodom v veno popolnoma **suho**. Ostanki razkužila lahko povzročijo hemolizo odvzete krvi. Žilno prevezo namestimo pred vbodom v veno, sprostimo pa **takoj**, ko kri priteče v prvo epruveto. Preveza **ne sme** biti nameščena več kot 1 minuto. Zaradi predolgo podvezane



žile nastane hemokoncentracija odvzetega vzorca, kri lahko infiltrira v okoliško tkivo in nastane hematoma. Vse epruvete moramo takoj po odvzemu premešati z nežnim obračanjem. Če epruveto po odvzemu stresamo, kri hemolizira. Količina odvzete krvi je določena z vakuumom, ki je v epruveti. Vsi vzorci, pri katerih ni odvzeta zahtevana količina krvi, so za laboratorijsko analizo neuporabni. Rezultati analiz nepravilno odvzetega vzorca so napačni, zato take vzorce v laboratoriju zavrnamo. Zavrnamo tudi vse vzorce, ki niso pravilno označeni (11).

### **3.3 Analizator Roche/Hitachi 917**

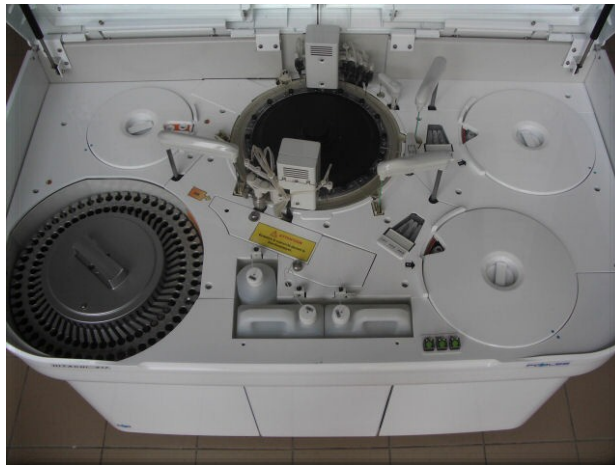
Hitachi 917 je avtomatiziran biokemični analizator, ki se uporablja v biomedicinskih laboratorijih. Namenjen je za *in vitro* kvantitativno ali kvalitativno določanje različnih analitov v krvi (npr. pri serumu) ter v drugih telesnih tekočinah, kot sta urin in likvor. Poleg kreatinina lahko z njim določamo bilirubin, različne proteine, encime, holesterol, železo itd. Metoda je spektrofotometrična. Spektrofotometrija temelji na merjenju absorpcije svetlobe, ki prehaja skozi preiskovano raztopino. Absorpcijo merimo v ultravijoličnem, vidnem in infrardečem spektralnem območju, navadno pri absorpcijskem maksimumu, ali pa posnamemo spekter –  $A = f(\lambda)$  v širšem spektralnem območju in iz njegove oblike sklepamo na kvantitativno in kvalitativno sestavo preiskovane raztopine. Spektrofotometrijo v vidnem območju uporabljamo predvsem za kvantitativno določevanje posameznih elementov, ki jih prevedemo v obarvano obliko s primerno kemično reakcijo.

Sestavljen je iz analitične in nadzorne enote. Analitična enota vključuje ionsko selektivno elektrodo (ISE) in fotometrični merilni sistem, krmilno enoto pa sestavljajo računalnik, barvni zaslon na dotik, tipkovnica in tiskalnik.



**Slika 5: Hitachi 917 (14)**

Analizator je zmožen narediti 800 testov/h z fotometričnim merilnim sistemom, 600 testov/h z ISE elektrodo in 1200 testov/h v kombinaciji z obema. Vsebuje avtomatiko vzdrževanja, izvaja avtomatsko vrednotenje rezultatov, avtomatsko redčenje, spiranje itd. Analizator ima ploščo za vzorce, v kateri je prostora za 110 vzorcev. Opremljena je s čitalnikom za črtne kode, kar nam prihrani čas pri vnašanju pacientovih podatkov (12).



**Slika 6: Prikaz plošče za vzorce (14)**

### **3.4 Primer izračuna glomerulne filtracije**

Pacient je ženskega spola pod zaporedno številko 1 (50 let,  $S_{Cr}=102 \mu\text{mol/L}$ ).

$$oGF \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (S_{Cr} / 88,4)^{-1,154} \times \text{Starost}^{-0,203} \times 0,720 \text{ (če je ženska)} \times 1,210 \text{ (če je črnc)}$$

$$oGF \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (102 / 88,4)^{-1,154} \times 50^{-0,203} \times 0,720$$

$$oGF \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 48,3$$

### **3.5 Referentne vrednosti**

- Koncentracija kreatinina v serumu in plazmi:

**56 – 104  $\mu\text{mol/L}$  (m)**

**44 – 98  $\mu\text{mol/L}$  (ž)**

- Koncentracija kreatinina v urinu

**7,1 – 15,9  $\text{mmol/L}$  (m)**

**5,2 – 14,2  $\text{mmol/L}$  (ž)**

- Ocena glomerulne filtracije (oGF)

**80 – 120  $\text{ml/min/1.73 m}^2$**

### **3.6 Statistični test**

Za ugotovitev ujemanja rezultatov koncentracije kreatinina in ocene glomerulne filtracije smo uporabili **Spearmanov koeficient korelacije**. Je statistični kazalec, ki prikazuje neparametrskost stopnje povezanosti dveh spremenljivk oziroma predstavlja kakovost opisa povezanosti med spremenljivkama, ki jo napravi določena funkcija. Spearmanov koeficient ima vrednosti od 0 do +1 (-1), pri čemer 0 pomeni da ujemanja ni, +1 (-1) pa, da je ujemanje odlično.

## 4. REZULTATI IN RAZPRAVA

Prvo uspešno presaditev ledvic so naredili v Bostonu leta 1954, ko so ledvico zdravega enojajčnega dvojčka presadili njegovemu bolnemu bratu. V Sloveniji so prvo ledvico živega sorodniškega darovalca presadili leta 1970, zadnjo pa leta 1998. Redno presajanje ledvic umrlih darovalcev, to je kadavrskih ledvic, se je začelo pri nas leta 1986. Do konca leta 2003 so presadili ledvico 552 bolnikom, od tega jih je 124 prejelo ledvico živega sorodniškega darovalca, ostalim bolnikom je bila presajena kadavrška ledvica. V ZDA in državah Evropske unije so v letu 2002 presadili ledvico nekaj več kot 27000 bolnikom, to je približno 40 bolnikov na milijon prebivalcev. V ZDA je 42 % prejemnikov dobilo ledvico živega sorodniškega darovalca, v državah Evropske unije je bilo teh prejemnikov ledvice le 13 %. Istega leta so v naši državi presadili ledvico 55 bolnikom, kar je do sedaj največ presaditev v enem letu.

V naši državi imamo eden center za presaditev ledvic, ki je v Kliničnem centru Ljubljana in eden center za tipizacijo tkiv v okviru Zavoda Republike Slovenije za transfuzijsko medicino. Od leta 1998 je v nacionalni program za presaditev kadavrskih ledvic poleg Kliničnega centra vključenih še devet darovalskih bolnišnic, kjer odvzamejo ledvice umrlim darovalcem.

Po presaditvi ledvice in odpustu iz bolnišnice vsi prejemniki prihajajo na preglede v ambulanto za bolnike s presajeno ledvico, ki je v Kliničnem centru. Ambulantno zdravljenje je potrebno zaradi prilagajanja imunosupresivnih in drugih zdravil, nadzora zdravstvenega stanja prejemnikov in delovanja presajene ledvice (3).

Namen diplomske naloge je bil proučiti diagnostično vrednost določitve kreatinina in izračuna ocene glomerulne filtracije pri bolnikih, ki imajo presajeno ledvico. S tema dvema parametroma smo ugotovili, kakšna je funkcionalnost presajene ledvice (bolje je, da je kreatinin čim nižji in OGRF čim višja).

Najprej smo določili koncentracijo kreatinina v serumu ter izračunali oceno glomerulne filtracije pri bolnikih s presajeno ledvico. Skupina bolnikov ima povprečno koncentracijo kreatinina v serumu 134,9  $\mu\text{mol/L}$ , povprečna ocena glomerulne filtracije pa je 53,8

mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Zaradi boljše preglednosti smo bolnike razdelili v dve skupini in sicer po spolu. Vsaka skupina ima naslednje rezultate:

- Povprečna koncentracija kreatinina v serumu pri ženskah je 122,05 μmol/L (najnižja koncentracija je 60 μmol/L, najvišja pa 816 μmol/L), pri moških pa 147,77 μmol/L (najnižja koncentracija je 77 μmol/L, najvišja pa 655 μmol/L)
- povprečna ocena glomerulne filtracije (oGF), izračunana po MDRD formuli pri ženskah je 52,27 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (najnižja oGF je 5 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, najvišja pa 90 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>), pri moških pa 55,2 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (najnižja oGF je 8 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, najvišja pa 89 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>)

Rezultate določitve kreatinina smo primerjali z normalnimi vrednostmi, ki veljajo za zdravo populacijo in izračunali, v kolikšni meri odstopajo od normalnih vrednosti. Zvišano vrednost kreatinina ima 58 % pacientov. Odstopanje od referenčnih vrednosti pri moških je 66 % (92 pacientov ima povišano koncentracijo kreatinina v serumu), pri ženskah pa 48 % (59 pacientk ima povišano koncentracijo kreatinina v serumu).

Koncentracije kreatinina smo primerjali z izračuni glomerulne filtracije s pomočjo Spearmanovega koeficienta korelacije. Korelacija med koncentracijo kreatinina in oGF pri pacientih je -0,75 (pri ženskah je -0,71, pri moških pa -0,81), kar pomeni da je dobro ujemanje rezultatov.

Rezultati obeh skupin pacientov so prikazani v tabeli 1 in tabeli 2 s pripadajočimi grafi.

**Tabela 1: Rezultati preiskovancev moškega spola**

Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
1.	27	238	29
2.	67	110	58
3.	28	102	76
4.	23	146	52
5.	58	127	51
6.	70	609	8
7.	35	99	75

Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
8.	68	103	62
9.	37	119	60
10.	55	111	60
11.	65	125	50
12.	41	358	16
13.	67	82	82
14.	57	87	79
15.	71	261	21
16.	63	102	64
17.	28	111	69
18.	54	101	67
19.	43	127	54
20.	25	107	74
21.	42	142	48
22.	60	122	53
23.	53	120	55
24.	70	77	87
25.	30	142	51
26.	56	540	10
27.	30	200	34
28.	49	288	20
29.	58	124	52
30.	38	130	54
31.	60	85	80
32.	70	90	73
33.	48	126	53
34.	65	89	75
35.	66	88	75
36.	67	107	60
37.	49	200	31
38.	52	121	55
39.	38	116	46
40.	64	138	45
41.	58	143	44
42.	46	106	66
43.	61	113	57
44.	47	155	42

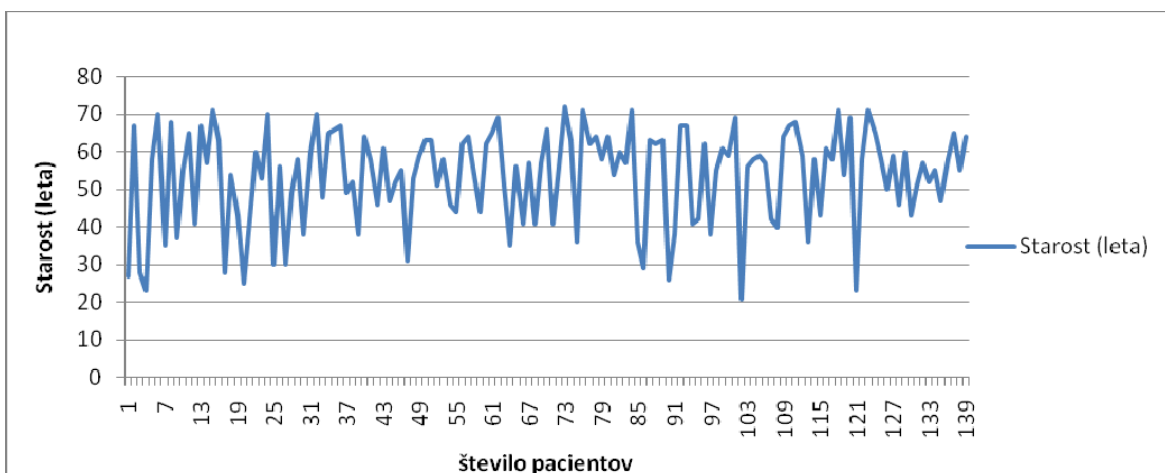
Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
45.	52	105	65
46.	55	152	42
47.	31	351	18
48.	53	118	56
49.	59	89	76
50.	63	80	85
51.	63	85	79
52.	51	109	62
53.	58	108	61
54.	46	370	15
55.	44	101	70
56.	62	149	42
57.	64	121	53
58.	54	103	66
59.	44	95	75
60.	62	369	15
61.	65	87	77
62.	69	284	19
63.	51	135	49
64.	35	136	52
65.	56	186	33
66.	41	206	31
67.	57	84	82
68.	41	98	73
69.	57	90	76
70.	66	81	83
71.	41	162	41
72.	56	152	42
73.	72	101	63
74.	63	136	46
75.	36	88	85
76.	71	110	57
77.	62	112	58
78.	64	88	76
79.	58	85	81
80.	64	88	76
81.	54	144	45

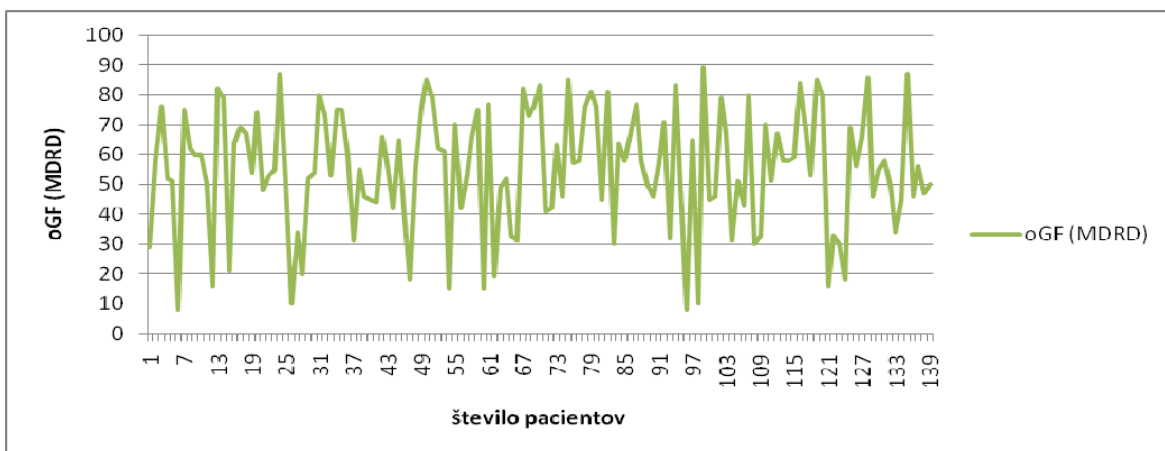
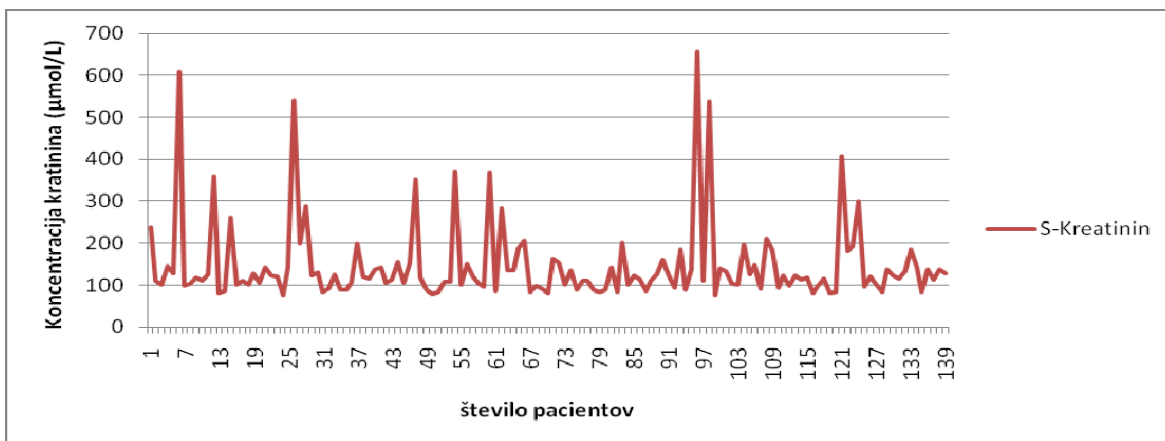
Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
82.	60	84	81
83.	57	202	30
84.	71	100	64
85.	36	124	58
86.	29	113	67
87.	63	87	77
88.	62	111	58
89.	63	126	50
90.	26	159	46
91.	38	123	57
92.	67	93	71
93.	67	185	32
94.	41	88	83
95.	42	139	49
96.	62	655	8
97.	38	110	65
98.	55	537	10
99.	61	77	89
100.	59	140	45
101.	69	134	46
102.	21	104	79
103.	56	100	67
104.	58	197	31
105.	59	125	51
106.	57	148	43
107.	42	91	80
108.	40	211	30
109.	64	183	33
110.	67	94	70
111.	68	123	51
112.	59	99	67
113.	36	124	58
114.	58	113	58
115.	43	118	59
116.	61	81	84
117.	58	99	68
118.	71	117	53



Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
119.	54	82	85
120.	69	83	80
121.	23	407	16
122.	58	183	33
123.	71	191	30
124.	65	300	18
125.	58	97	69
126.	50	120	56
127.	59	101	66
128.	46	84	86
129.	60	137	46
130.	43	124	55
131.	51	116	58
132.	57	132	49
133.	52	184	34
134.	55	142	45
135.	47	83	87
136.	58	137	46
137.	65	114	56
138.	55	137	47
139.	64	127	50
<b>Povprečje:</b>	<b>53,5</b>	<b>147,8</b>	<b>55,2</b>

Grafi za preiskovance moškega spola:





**Tabela 2: Rezultati preiskovancev ženskega spola**

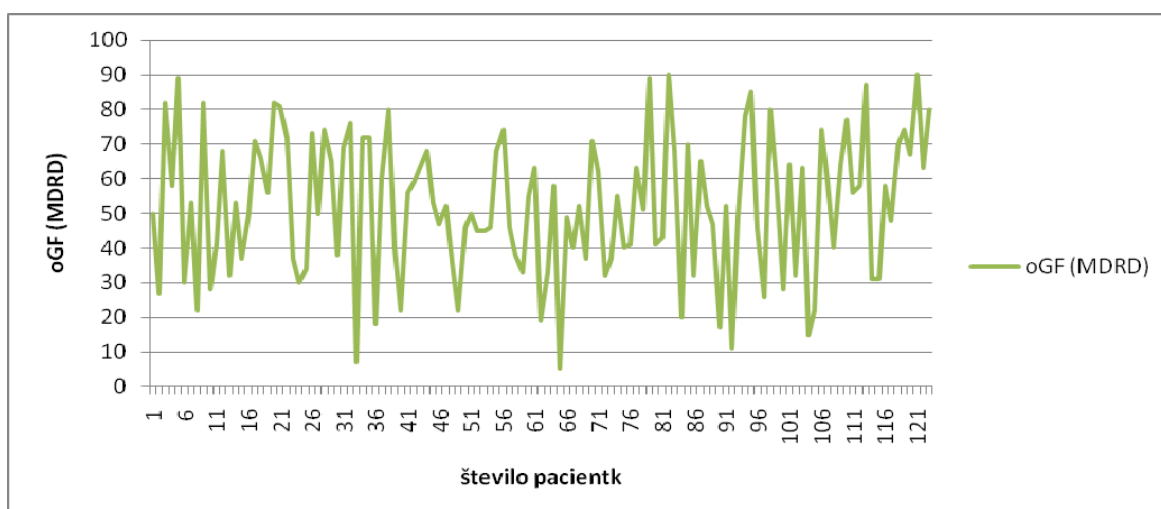
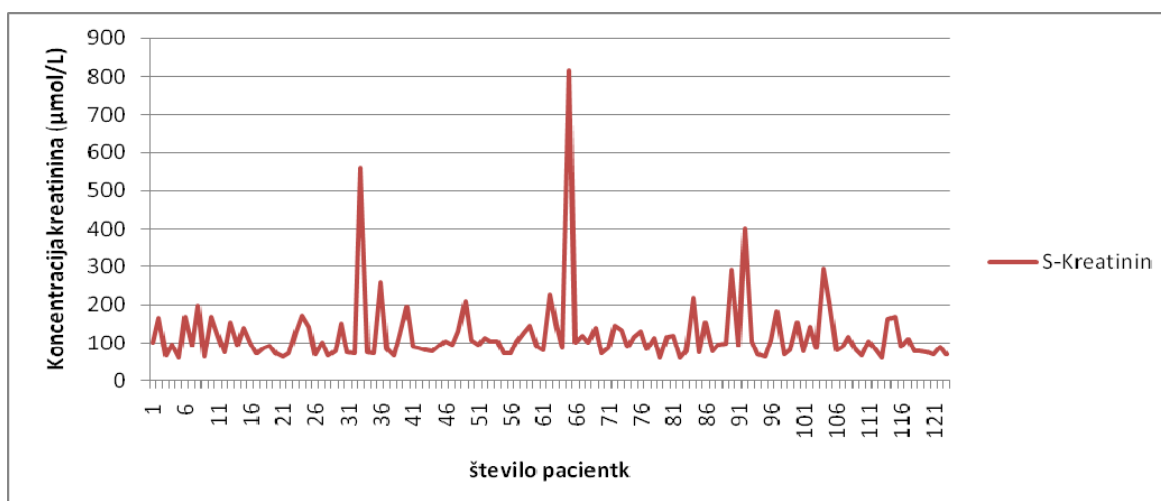
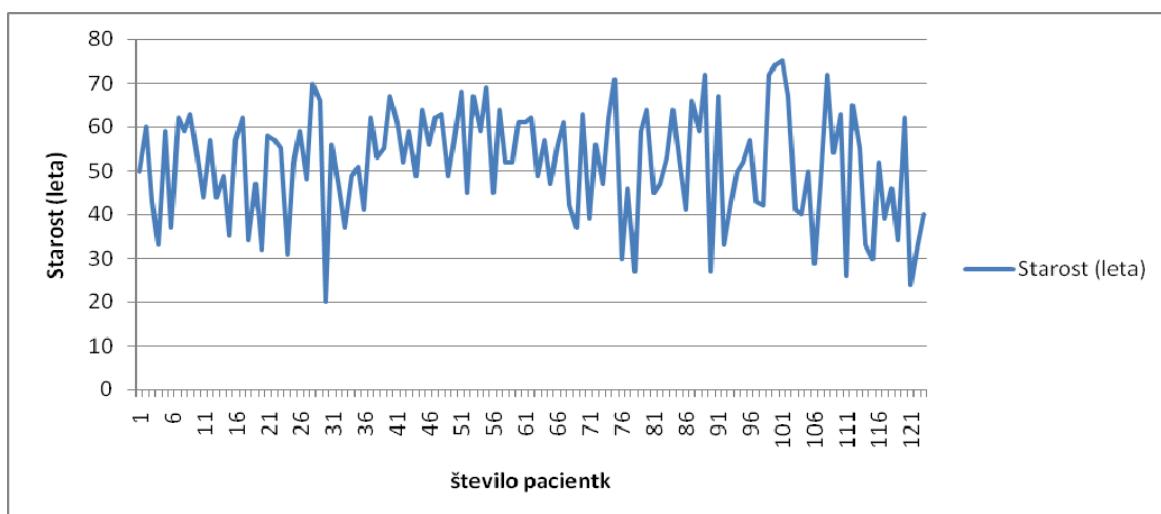
Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
1.	50	102	50
2.	60	167	27
3.	43	68	82
4.	33	96	58
5.	59	60	89
6.	37	168	30
7.	62	94	53
8.	59	199	22
9.	63	64	82
10.	53	169	28
11.	44	124	41
12.	57	76	68
13.	44	155	32
14.	49	97	53

Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
15.	35	140	37
16.	57	99	50
17.	62	72	71
18.	34	86	66
19.	47	93	56
20.	32	72	82
21.	58	65	81
22.	57	73	72
23.	55	131	37
24.	31	172	30
25.	52	143	34
26.	59	71	73
27.	48	103	50
28.	70	68	74
29.	66	77	65
30.	20	152	38
31.	56	76	69
32.	46	72	76
33.	37	559	7
34.	49	75	72
35.	51	74	72
36.	41	259	18
37.	62	84	60
38.	53	67	80
39.	55	121	40
40.	67	194	22
41.	61	89	56
42.	52	88	59
43.	59	81	63
44.	49	78	68
45.	64	92	53
46.	56	105	47
47.	62	95	52
48.	63	130	36
49.	49	210	22
50.	57	107	46
51.	68	96	50

Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
52.	45	113	45
53.	67	106	45
54.	59	106	46
55.	69	74	68
56.	45	74	74
57.	64	105	46
58.	52	127	38
59.	52	146	33
60.	61	91	55
61.	61	80	63
62.	62	226	19
63.	49	147	33
64.	57	87	58
65.	47	816	5
66.	56	101	49
67.	61	120	40
68.	42	102	52
69.	37	141	37
70.	63	72	71
71.	39	88	62
72.	56	146	32
73.	47	134	37
74.	62	91	55
75.	71	116	40
76.	30	132	41
77.	46	85	63
78.	27	112	51
79.	59	60	89
80.	64	117	41
81.	45	119	43
82.	47	62	90
83.	53	77	68
84.	64	217	20
85.	53	75	70
86.	41	155	32
87.	66	77	65
88.	59	96	52

Zaporedna št. bolnika	Starost (leta)	S-Kreatinin	oGF (MDRD)
89.	72	100	47
90.	27	292	17
91.	67	93	52
92.	33	403	11
93.	43	106	49
94.	50	69	78
95.	52	64	85
96.	57	107	46
97.	43	182	26
98.	42	70	80
99.	72	81	60
100.	74	155	28
101.	75	77	64
102.	67	143	32
103.	41	87	63
104.	40	294	15
105.	50	207	22
106.	29	80	74
107.	47	89	59
108.	72	116	40
109.	54	81	64
110.	63	67	77
111.	26	104	56
112.	65	85	58
113.	55	62	87
114.	33	164	31
115.	30	170	31
116.	52	89	58
117.	39	111	48
118.	46	77	70
119.	34	78	74
120.	62	76	67
121.	24	70	90
122.	32	91	63
123.	40	71	80
<b>Povprečje:</b>	<b>51,5</b>	<b>122,05</b>	<b>52,27</b>

Grafi za preiskovance ženskega spola:



Glede na oGF smo paciente razvrstili v pet skupin glede na stopnjo ledvične okvare.

**Tabela 3: Razvrstitev pacientov v skupine glede na oGF**

Stopnja	oGF (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	Komentar
1	≥90	normalna ali zvečana glomerulna filtracija
2	60 – 89	blago zmanjšana glomerulna filtracija
3	30 – 59	zmerno zmanjšana glomerulna filtracija
4	15 - 29	močno zmanjšana glomerulna filtracija
5	<15	ledvična odpoved, potreba po dializi ali presaditvi ledvice

Kot vidimo iz tabele 4, smo samo pri dveh pacientih izračunali glomerulno filtracijo nad 90, kar predstavlja normalno vrednost. Pri 102 pacientih (38,9 %) je padel izračun MDRD v območje med 60 in 89, kar predstavlja blago zmanjšano glomerulno filtracijo; 129 pacientov (49,2 %) je imelo izračun MDRD med 30 in 59, kar predstavlja zmerno zmanjšano glomerulno filtracijo; 22 pacientov (8,4 %) je imelo izračun MDRD med 15 in 29, kar predstavlja močno zmanjšano glomerulno filtracijo. Pri 7 pacientih (2,7 %) je izračun MDRD pod 15, kar pomeni, da presajena ledvica ne deluje in da je pacienta ponovno potrebno dializirati.

**Tabela 4: Statistični pregled pacientov**

Stopnja	Število pacientov	Število moških/žensk	Povprečna starost	Povprečna oGF	Povprečna konc. kreatinina
1	2	0/2	35,5	90	66
2	102	57/45	54,1	73,02	85,6
3	129	68/61	52,2	46,55	128,91
4	22	10/12	51,4	20,32	262,32
5	7	4/3	51,4	8,43	588,43
Σ	262	139/123			

Vrednosti kreatinina ob padajoči vrednosti MDRD počasi rastejo. V prvih dveh skupinah (glede na tabelo 4) najdemo 104 paciente (39,7 %), ki imajo po transplantaciji normalne vrednosti kreatinina. V tretji skupini so koncentracije kreatinina zmerno povišane.

Povišanje je v povprečju 25 % nad zgornjo referenčno mejo. Povprečna vrednost koncentracije kreatinina v četrti skupini je že za približno trikrat višja kot zgornja meja referenčnega območja. Pri 7 pacientih iz pete skupine je koncentracija kreatinina v povprečju presežena skoraj šestkrat.

Ker nismo pridobili podatka o tem, koliko časa je preteklo od operacije, tudi ne moremo oceniti uspešnosti posega pri posameznih pacientih, lahko pa rečemo, da je pri 90 % transplantirancev nova ledvica ustrezno prevzela svojo nalogo in da pacientom ni bilo več potrebno hoditi na dializo.

Objavljeni podatki iz različnih študij (18, 19) govorijo, da so transplantacije v povprečju uspešne v 95 -98 %. Uspešnost izražajo kot čas preživetja po transplantaciji.



## 5. SKLEP

1. Ugotovili smo, da sta koncentracija kreatinina in izračun MDRD dobra pokazatelja funkcije ledvic.
2. Ugotovili smo, da ima v opazovani skupini zvišano vrednost kreatinina 58 % pacientov (odstopanje pri moških znaša 66 %, pri ženskah pa 48 %).
3. Ugotovili smo, da je izračun MDRD boljši pokazatelj funkcije ledvic kot sam kreatinin.
4. Ugotovili smo, da je bila transplantacija uspešna v najmanj 90 % opazovane skupine. Pri 8,4% pacientih je bila glomerulna filtracija kljub transplantaciji močno zmanjšana, pri 2,7% pa je bila funkcija ledvic nezadostna.

## 6. LITERATURA

1. Prevedla: Bronka Brzin: Kako deluje? Človek in njegove bolezni, Tehniška založba Slovenije, Ljubljana, 1991: 204–214.
2. Berne Robert M., Levy Matthew N.: FIZIOLOGIJA, treće izdanje, Medicinska naklada, Zagreb 1996: 663–693.
3. Ponikvar Rafael, Buturović Jadranka - Ponikvar: Dializno zdravljenje, Klinični oddelek za nefrologijo, Interna klinika, Klinični center Ljubljana, 2004: 75 – 78, 329 – 344
4. Lock Stephen, Smith Antony: Družinski zdravstveni priročnik, Mladinska knjiga Ljubljana, 1981: 480–481.
5. Kocijančič A, Mrevlje F., Štajer D.: Interna medicina, 3. izdaja, Littera picta, Ljubljana, 2005: 937–940.
6. Myers G. L., Miller W. G., Coresh J., Fleming J., Greenberg N., Greene T., Hostetter T., Levey A.S., Panteghini M., Welch M., Eckfeldt J.H.: Recommendations for Improving Serum Creatinine Measurement: A Report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program, *Clinical Chemistry* 52:1; 2006: 5–18.
7. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. 2002; 39: S1-S000.
8. Murray P.T., Ratain M.J.: Estimation of the glomerular filtration rate in cancer patients: A new formula for new drugs, *Journal of Clinical Oncology*, Vol 21, 14; 2003: 2633–2635.

9. Wright J.G., Boddy A.V., Highley M., Fenwick J., McGill A., Calvert A.H.: Estimation of glomerular filtration rate in cancer patients, *British Journal of Cancer* 84(4); 2001: 452–459.
10. Marc Janja: Navodila in dnevniki za vaje iz klinične biokemije 1, 57.
11. Priporočila za odvzem venske krvi, Klinični center Ljubljana, 2005.
12. Interna navodila za uporabo analizatorja Roche/Hitachi, Roche Diagnostics, 2009.
13. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood: Tietz textboool og clinical chemistry, second edition, W. B. Saunders Company, 1994, 1530 -1540
14. <http://www.freewebs.com/bloomingmachines/testitpage.htm> (20.9.2010)
15. <http://www.cic-caracas.org/departments/science/Topic12.php> (4.11.2010)
16. <http://www.cpmc.org/learning/documents/kidney-ws.html> (20.9.2010)
17. <http://nefromed.blogspot.com/2009/06/ce-inseamna-hemodializa.html> (20.9.2010)
18. Gallagher M., Jardine M., Perkovic V., Cass A., Mcdonald S., Petrie J.: Cyclosporine withdrawal improves long term graft survival in renal transplantation. *Transplantation Jun 27 2009*; 87 (12): 1877-83
19. Kahan B. D., Julian B. A., Pescovitz M. D.: Sirolimus reduces the incidence of acute rejection episodes despite lower cyclosporine doses caucasian recipients of mismached primary renal allografts: a phase II trial, *Transplantation Nov 27 1999*; 68 (10): 1526-32