

**SAŽECI 2. HRVATSKOG KONGRESA
MEDICINSKE BIOKEMIJE**

OSTEOPOROZA: BIOKEMIJSKI BILJEZI KOŠTANOG METABOLIZMA

A. Stavljenić Rukavina

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Osteoporoza je učestala bolest starije životne dobi i s produljenjem prosječnog trajanja života ta bolest postaje jedan od važnih zdravstvenih i socijalnih problema suvremenog svijeta kako zbog porasta broja bolesnika, tako i veličine sredstava utrošenih u njihovo liječenje. Vodeći znak te bolesti je gubitak koštane mase koji ima za posljedicu lako lomljivu kost, te su prijelomi kosti (često spontani) najvažniji uzrok prijama na liječenje. Kost je metabolički aktivna tijekom cijelog života, premda se maksimalna vrijednost koštane mase postiže u dobi između 20 i 30 godina. Proces metaboličke pregradnje kosti koji se zbiva u morfološkoj i funkcionalnoj jedinici pregradnje kosti tijekom života osigurava cjelovitost koštanog sustava i prilagodbu novim okolnostima. Nakon završetka rasta skeleta, pregradnja koštane i trabekularne kosti se nastavlja uravnoteženim djelovanjem osteoklasta i osteoblasta uz metabolički važne čimbenike: PTH, $1,25\text{-OH}_2$ vitamin D, CT-hormone koji sudjeluju u regulaciji metabolizma kalcija i fosfora, citokine poput CSF, interleukina IL 3 i IL 1. U indukciji sinteze nove kosti važna je zadaća koštanih morfogenetskih proteina (BMP).

U osteoporozi je povećan broj aktivnih koštanih jedinica pregradnje i promijenjena je ravnoteža između sinteze i razgradnje kosti s posljedičnim smanjenjem koštane mase. Posljednjih je godina poraslo zanimanje za razvojem neinvazivnih metoda za ispitivanje koštanog metabolizma sa svrhom poboljšanja rane dijagnoze osteoporoze, predviđanja mogućih budućih lomova kosti, omogućavanja donošenja odluke o liječenju i objektivnog načina praćenja liječenja. Time je otvoreno novo

područje u laboratorijskoj dijagnostici koje pruža nove izazove u struci i istraživanju.

Stvaranje kosti moguće je ispitati mjerenjem koštane alkalne fosfataze (BAP), osteokalcina i propeptida (PCIP) kolagena tipa 1 u serumu. Razgradnja kosti prati se mjerenjem izlučivanja kalcija i hidroksiprolina urinom, praćenjem aktivnosti tartarat rezistentne kisele fosfataze u serumu (TRAP) te mjerenjem molekularnih fragmenata kolagena nastalih djelovanjem osteoklasta na kolagen: slobodnog piridinolina (PYD), deoksipiridinolina (DPD) i ukupnih poprečno vezanih peptida: N-telopeptida (NTx) i C-telopeptida (ICTP). Nove metode za određivanje koštane alkalne fosfataze, osteokalcina i fragmenata kolagena temelje se na imunokemijskom načelu primjenom monoklonskih i poliklonskih protutijela na sintetske peptide, čime je analitička provedba postala dostupnom velikom broju laboratorija. Ipak valja naglasiti da je za dijagnozu osteoporoze nezaobilazna denzitometrija kostiju, a za rano prepoznavanje gubitka koštane mase, prognozu osteoporoze i procjenu liječenja su biokemijski pokazatelji koštane pregradnje ključne pretrage. Poput svih novijih dijagnostičkih metoda i ove se moraju pažljivo procijeniti i potvrditi u kliničkim ispitivanjima.

METABOLIZAM I FUNKCIJA DUŠIKOVOG OKSIDA

B. Štraus

Radikal dušikovog oksida (NO) važan je unutar- i izvanstanični glasnik. Njegovo otkriće, kao i saznanje o njegovom metabolizmu, jedno je od najvećih dostignuća fiziologije i biokemije u zadnjem desetljeću. Intenzivnim istraživanjima tijekom zadnjih godina uspjelo se dobrim dijelom razjasniti metabolizam NO kao i njegove mnogobrojne funkcije u organizmu. Dušikov oksid stvara se pod utjecajem agonista i fizikalnih stimulansa u raznim tkivima iz L-arginina katalitičkim djelovanjem konstitutivne ili inducibilne NO-sintaze. Tako stvoreni NO važan je medijator homeostatskih procesa i mehanizama obrane organizma od mikroorganizama. Prikazana je uloga NO u regulaciji tonusa krvnih žila i krvnog tlaka, sprečavanju agregacije trombocita te kao neurotransmitera u regulaciji gastrointestinalne, respiratorne i genitourinarne funkcije, kao i uloga u nespecifičnoj imunosti zbog njegovog citotoksičnog djelovanja na mikroorganizme i tumorske stanice. Na kraju se razmatraju mogućnosti liječenja raznih patoloških stanja aktiviranjem ili inhibiranjem stvaranja NO.

**STRATEGIES TO EXCLUDE AND DIFFERENTIATE
RENAL DISEASES BY ANALYSING PROTEIN**

W.G. Guder, W. Hofmann

Institute of Clinical Chemistry, Municipal Hospital Munich-Bogenhausen, Germany

Proteinuria and haematuria are the most often detected early signs of renal disease. We have applied a new analytical strategy based on the observation that different urine protein patterns are excreted in prerenal, renal and postrenal proteinurias and haematurias. When analysed by turbidimetric procedures urine albumin, IgG, α_1 -microglobulin and α_2 -macroglobulin in morning urine can be used as marker proteins to characterize the degree of tubulo-interstitial involvement and postrenal blood "contamination". By plotting the excretion rates of the tubular and postrenal markers against that of albumin (1, 2) the information on the site of origin of proteinuria can be obtained. Tubulo-interstitial diseases are characterized by their increased α_1 -microglobulin excretion rates at normal or slightly elevated albumin concentrations. In addition, acute and chronic tubular dysfunction can be separated by measurement of tubular enzyme N-acetyl- β ,D-glucosaminidase, which is lower in chronic diseases and renal insufficiency. Provided that albumin concentration exceeds 100 mg/L, renal and postrenal forms of haematuria can be clearly separated by their different α_2 -macroglobulin/albumin ratios. The reported procedure allows the exclusion and differentiation of clinically relevant proteinurias and haematurias from a spot urine specimen.

1. Hofmann W, Rossmüller B, Guder WG, Edel HH. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992; 30:707-12.
2. Hofmann W, Schmidt D, Guder WG, Edel HH. Klin Wochenschr 1991; 69:68-75.

S1/2

QUALITY MANAGEMENT IN MEDICAL LABORATORIES: FACTS AND FABLES

J. G. Loeber

Diagnostic Laboratory for Infectious Diseases and Perinatal
Screening, National Institute of Public Health and the
Environment, Bilthoven, The Netherlands

The head of a medical laboratory that considers the question whether to take on the implementation of a quality system should try to answer the next questions:

- 1 Is the functioning of my laboratory adequate, also to the satisfaction of my "customers" (patients, physicians)?
- 2 If they were given a free choice of laboratories, would they still choose mine?
- 3 Have I got sufficient ways to measure the total quality of my laboratory?
- 4 Whenever there is discussion about the correctness of a certain laboratory result, is it possible to reconstruct the whole administrative and analytical procedure?

If a definite "yes" can be answered to these and similar questions, the laboratory probably has a running quality system already; if not, it is time to start such a system. This is not an easy task, but it can be achieved provided one should not try to have it finished too fast. The laboratory should be viewed as being a factory with various production processes. Each process should be described and criteria formulated for the necessary personnel, means and infrastructure. At the same time it should be considered how these criteria may be checked.

Several guidance documents to set up and maintain a quality system have been published in the last 5 years, all based on the European Standard EN 45001, ISO Guide 25, ISO Guide 9000, the OECD GLP principles. In the Netherlands the CCKL Code of Practice has found a wide-spread use in this respect. For each subject (e.g. personnel, technical infrastructure, sampling, analysis, reporting, etc.) a standard has been formulated by following an explanatory paragraph and minimal requirements. The Code of Practice is applicable to any kind of medical laboratory.

After initial development of a quality system it should be updated regularly. This updating is more easily achieved by choosing a modu-

lar approach: a small and simple quality manual with a variety of annexes concerning method descriptions, calibration and maintenance data, laboratory report forms, etc., rather than compiling one large document.

It is advisable to appoint a staff member or a chief technician as quality manager. There should be close collaboration between the quality manager and the head of the laboratory to convince all personnel of the need of implementation. Not only does the paper-work take time, but also this important mental turn around process unfortunately cannot be circumvented. The quality manager is in charge of regular internal checks. After it has been demonstrated that the system functions satisfactorily, application for some form of accreditation may be considered.

AKREDITACIJA LABORATORIJA

A. Stavljenić Rukavina, D. Čvorišćec

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Laboratorijski dijagnostički postupci u većini razvijenih zemalja bez obzira na sustav zdravstvene skrbi i zdravstvenog osiguranja zauzimaju značajno mjesto u ukupnoj cijeni liječenja. U prosjeku se 3 - 8% troškova liječenja odnosi na pretrage iz djelokruga laboratorijske medicine: opće i specijalne kliničke biokemije, imunologije, citologije, mikrobiologije s parazitologijom i transfuziologije. Osim u organiziranim laboratorijima u privatnom ili državnom vlasništvu u nizu zemalja se dijagnostički postupci iz specijalnosti laboratorijske medicine obavljaju ili nastoje uvesti u ordinacije ili bolničke odjele. U pogledu zakonskih propisa koji uređuju postupak osnivanja laboratorija, kontrole rada i načina financiranja postoje značajne razlike u svijetu, ali i u europskim zemljama. U cilju harmonizacije kvalitete stručnog rada uz poštivanje specijalnosti struka koje su integrirane u laboratorijsku medicinu otprije približno 8 godina nastoji se osmisliti niz pravila uobičenih u zakone ili preporuke, koje omogućuju provođenje akreditacije laboratorija za određeno područje rada. Svrha je tog postupka da se osigura visoka kvaliteta stručnog rada u laboratorijskoj medicini, da se održi i stalno unapređuje dobra stručna praksa koja se temelji na međunarodno usklađenom standardu kvalitete. Postupak akreditacije donosi pojedinoj laboratorijskoj struci jasniju poziciju u zdravstvenom sustavu; stručnu, statusnu i ekonomsku.

Normativni dokumenti koji se danas najčešće uzimaju kao predložak za izradu nacionalnog postupka provođenja akreditacije laboratorija su u europskim zemljama ISO/IEC protokol 25 (dokument Internacionalne organizacije za standardizaciju, ISO), odgovarajući europski standard EN 45001 prilagođen za tu namjenu, odnosno protokol Europske konfederacije za laboratorijsku medicinu (ECCLM) na temelju kojeg akreditaciju provodi Europska agencija za akreditaciju laboratorija (EAL).

U ovom će se pregledu raspraviti pojedini dokumenti koji su potrebni za akreditaciju prema internacionalnim standardima za pojedine specijalnosti laboratorijske medicine, razmotriti postojeće stanje u tom pogledu u Hrvatskoj i predložiti nacionalni protokol za akreditaciju (PA-HKMB).

VANJSKA KONTROLA RADA MEDICINSKO-BIOKEMIJSKIH LABORATORIJA

D. Juretić

Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, Zagreb

Medicinsko-biokemijski laboratoriji u Hrvatskoj imaju dugu tradiciju u organizaciji i sudjelovanju u programima vanjske procjene rada koja se prema ISO dokumentima definira kao sustav objektivne i povremene provjere rezultata laboratorija od strane vanjske službe i usporedbe s drugim laboratorijima da bi se ustanovilo istinito stanje. Temeljna značajka vanjske procjene rada je usporedba rezultata između različitih laboratorija; zaključci i ocjena daju se retrospektivno na osnovu statističke obrade velikog broja prikupljenih podataka. Njena osnovna svrha je osigurati objektivnu, neovisnu provjeru laboratorijskih rezultata, da bi se utvrdio stupanj interlaboratorijske usporedivosti rezultata. Međutim, ona omogućuje i usporedbu različitih metoda i instrumenata i utvrđuje njihovu pouzdanost. Analiza dobivenih rezultata, ukoliko je obuhvaćen dovoljan broj laboratorija, ukazuje i na kvalitetu upotrebljivanih reagenasa. Rezultati vanjske procjene kvalitete stoga ukazuju na aktualni, sveukupni stupanj razvoja struke u pojedinim područjima, na osnovu kojih se predlaže i potiče primjena novih selektivnijih metoda.

Poboljšanje rada laboratorija ujedno je i cilj politike zdravstvene zaštite, a nacionalni programi ih mogu provesti na dva načina, ili da omoguće edukaciju odnosno osposobljavanje i pomoć laboratorijima s lošim rezultatima, ili da ih se imenuje i onemogući u radu. Najviše nacionalnih programa vanjske procjene kvalitete rada koristi prvi pristup poboljšanju rada to jest dodatnu edukaciju i stručnu pomoć laboratoriju. Dugogodišnji rezultati naših laboratorija prikupljeni u programu vanjske procjene kvalitete od 1987. godine ukazuju da se sustavno i bez prisile poboljšava analitička kvaliteta medicinsko-biokemijskih laboratorija u Hrvatskoj jer gotovo svi laboratoriji koriste preporučene metode za pojedine analite, koeficijenti varijacije se umanjuju što ukazuje da sve veći broj laboratorija dobiva rezultate unutar granica prihvatljivosti. Preporuka radne grupe organizatora nacionalnih programa vanjske procjene rada u Europi je da nacionalni program bude edukacijski, a definira ga kao program koji omogućuje svakom sudioniku da definira uzroke loših rezultata i primijeni adekvatan postupak za njihovo poboljšanje. Organizator treba obliko-

vanjem sheme omogućiti svakom sudioniku lako uočavanje loših rezultata, navesti moguće uzroke loše izvedbe i ponuditi savjet za uklanjanje loših rezultata.

Oblikovanje programa vanjske procjene kvalitete medicinsko-biokemijskih laboratorija u Hrvatskoj slijedi navedene zahtjeve i preporuke struke; postupno i prema ugledu na Europu stvara se jezgro skupine stručnjaka koji će omogućiti obuhvat sve više analita i učestalije provođenje programa.

S1/5

DOBRA PROIZVOĐAČKA PRAKSA ZA MEDICINSKE PROIZVODE

D. Jeličić

Pliva d.d. Osiguranje kvalitete, Zagreb

Posljednjih godina pristup kvaliteti mijenjao se velikom brzinom. Postavljanjem kvalitete kao poslovnog, a zatim životnog cilja započelo se razmišljati kako osigurati ostvarenje tog cilja?

Tako su se počeli razvijati postupci (poput kontrole kvalitete, QC), preporuke (poput Dobre proizvođačke prakse, DPP; engl. Good manufacturing practice, GMP), standardi (kao ISO, BS i EN) i ideje-filozofije (poput sveobuhvatnog osiguranja kvalitete, TQM) o upravljanju i trajnom unapređivanju kvalitete.

Preporuke DPP imaju za cilj da propišu organizaciju rada te utvrde obveze i odgovornosti u području proizvodnje, kontrole i prometa lijekova, kao jedini siguran put za osiguranje standardne kvalitete lijeka odnosno medicinskog proizvoda.

Europska ekonomska zajednica (EEZ) je u proteklom periodu priprema za ujedinjenje pristupila usklađivanju i na polju preporuka DPP (unutar europskog prostora, Amerike i Japana) što je 1992. godine rezultiralo donošenjem zajedničkih smjernica pod nazivom "Good manufacturing practice for medicinal products in the European Community". Smjernice DPP daju upute o organizaciji rada proizvodnje i kontrole medicinskih proizvoda, o potrebnim prostorima i prostorijama, osoblju i stručnoj osposobljenosti osoblja, potrebnoj dokumentaciji, opremi, načinu kontroliranja kvalitete (ulazna, procesna i završna kontrola), načinu donošenja odluke o kvaliteti, kontrole stabilnosti medicinskih proizvoda, rješavanju reklamacija te, kao izuzetno važan element svakog sustava osiguranja kvalitete (QA), o provođenju nadzora, samoinspekcije nad pridržavanjem dogovorenih pravila.

Bit svih nastojanja oko osiguranja kvalitete odnosno primjene smjernica DPP u industriji je u tome da se svim radnjama u poslovnom ciklusu pristupa disciplinirano i u skladu s napisanim uputama (SOP), da za svaki postupak postoji dokumentirani trag, dokaz o pouzdanosti (rezultat validacije) te da se provodi nadzor nad ispunjavanjem svih obveza i zadataka u poslovnom sustavu, a sa ciljem osiguranja standardno kvalitetnog medicinskog proizvoda.

S1/6

REFERENTNE VRIJEDNOSTI OSNOVNIH BIOKEMIJSKIH SASTOJAKA SERUMA ŠKOLSKE DJECE I ADOLESCENATA S PODRUČJA GRADA ZAGREBA

Z. Flegar-Meštrić

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur", Zagreb

Profil biokemijskih sastojaka seruma tijekom puberteta i adolescencije odraz je ne samo intenzivnog rasta i razvoja, nego i načina života, sklonosti i navika jelu i piću, tjelesne aktivnosti, psihičkih opterećenja i stresa, ovisnosti o pušenju, alkoholu i/ili drogi, kao i zdravstvenog statusa djece i adolescenata.

Primjenom preporuka Podkomiteta za referentne intervale Nacionalnog komiteta za kliničko-laboratorijske standarde objedinjenim u NCCLS C28-P dokumentu iz 1992. godine, na reprezentativnom uzorku 998 školske djece i adolescenata grada Zagreba u dobi od 8 do 18 godina života, referentnim ili/i rutinskim analitičkim metodama odredili smo referentne vrijednosti metabolita, elektrolita, mikroelemenata, enzima, proteina, lipida i lipoproteina u serumu.

Primjenom neparametarske statističke metode određeni su referentni intervali ovisno o dobi i spolu koji prema fiziološkom statusu i vanjskim obilježjima odgovaraju populaciji kojoj ispitanici pripadaju, a koji osiguravaju točnu i efikasnu, medicinski odgovarajuću, transverzalnu procjenu individualnih rezultata laboratorijskih analiza školske djece i adolescenata tijekom intenzivnog rasta i razvoja.

Izrađeni profil biokemijskih sastojaka seruma za razdoblje puberteta i adolescencije na referentnoj populaciji grada Zagreba čini ishodne vrijednosti za izravan transfer na druge laboratorije na području grada Zagreba, uz uvjet da postoji jedinstveni postupak uzimanja krvi za analizu i zadovoljavajuća razina preciznosti i točnosti primjenjivanih analitičkih postupaka, odnosno neizravno na druge populacije, uz odgovarajuće provjere njihove pravovaljanosti prema za to predviđenom protokolu.

IMPLANTATION AND TROPHOBLAST DIFFERENTIATION

O. Genbačev-Krtolica

University of California, San Francisco, USA

Implantation and subsequently placenta formation establish a transient, cooperative physical and biochemical interaction between the fetal and maternal compartment. Contact between fetal and maternal tissue is established by the trophoctoderm, the first differentiated and functional embryonic organ which gives rise to the hemorial placenta. Normal placental development depends on the differentiation of the specialized placental epithelial cells, termed cytotrophoblast (CTBs). Two differentiation pathways are possible. In floating cho-ionic villi, STB stem cells detach from the basement membrane and fuse to form a syncytium (ST) which covers the villus and "floats" in maternal blood. This ST plays an important role in nutrient, waste and gas exchange. In anchoring villi, in addition to ST formation, CTB cells form columns that attach to and invade the uterus (interstitial invasion) and blood vessels (endovascular invasion). CTB invasion anchors the fetus to the mother and creates the large diameter, low-resistance vessels that carry blood to the floating villi at the maternal-fetal interface. We and others have used two approaches to study CTB differentiation process along the invasive pathway. Firstly, by analyzing tissue sections from placental bed biopsy specimen, we were able to analyze CTB protein and RNA expression *in vivo*. Secondly, we used three *in vitro* models, isolated CTB cells, co-culture of CTBs and endometrium and chorionic villi explants, to study mechanisms of trophoblast cell differentiation and invasion. This presentation will focus on *in vitro* models of implantation and on the role of two classes of molecules in invasion: integrin cell-ECM adhesion receptors and proteinases.

S3/2

ULOGA PRO- I ANTIOKSIDATIVNIH MEHANIZAMA U HUMANOJ REPRODUKCIJI

M. Gavella

Klinika za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma "Vuk Vrhovac", Zagreb

Za normalno funkcioniranje svake stanice pa tako i za preživljavanje i funkciju spermija, neophodna je ravnoteža između pro- i antioksidativnih mehanizama. Oksidativni stres je neravnoteža do koje dolazi zbog povećanog stvaranja kisikovih radikala i/ili zbog smanjenja aktivnosti čimbenika antioksidativnog sustava. Predmnjevani mehanizam gubitka funkcije spermija kao posljedice oksidativnog stresa uključuje prekomjerno stvaranje slobodnih kisikovih radikala, poglavito superoksidnog aniona, koji mogu inducirati lipidnu peroksidaciju u membrani spermija, a posljedično tome i gubitak njihove funkcije. Međutim, dok ova hipoteza već ima prilično čvrste znanstvene temelje, dotle je istraživanje veze između antioksidativnog obrambenog potencijala spermija i idiopatske neplodnosti, uprkos obećavajućih preliminarnih zapažanja, još uvijek nedostatno. Otvoreno je pitanje dolazi li do neravnoteže između oksidativnih i antioksidativnih mehanizama samo zbog prekomjernog stvaranja štetnih slobodnih kisikovih radikala, koji mogu inhibirati antioksidativne enzimske sustave prisutne u spermijima, ili je ona posljedica manjka enzimskih i/ili neenzimskih antioksidativnih komponenti u sjemenoj plazmi, koje "čiste" ili potiskuju stvaranje štetnih radikala. Stoga je i svrha ovog prikaza ukazati na važnost utvrđivanja izvanstaničnih antioksidativnih mehanizama kao i unutarstaničnih zaštitnih sustava u spermijima kako za razvoj novih dijagnostičkih i terapijskih postupaka tako i za pripremu spermija za *in vitro* oplodnju.

ALZHEIMEROVA BOLEST I STARENJE

M. Trbojević-Čepe

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Alzheimerova bolest (AD) je degenerativno oboljenje središnjeg živčanog sustava koja se pretežno javlja uz kliničku sliku gubitka pamćenja (demencije) i poremećaja ponašanja. Bolest je sporadična, nema jasnog genetičkog uzroka, s vrškom incidencije u petom i šestom desetljeću života. Produženjem životnog vijeka, bolest postaje značajan medicinski kao i socioekonomski problem.

Patoanatomski se javlja kao progresivan i selektivan gubitak neurona pretežno u neokorteksu i hipokampusu. Histopatološki je bolest označena prisutnošću patoloških izvanstaničnih senilnih plakova (SP), unutarstaničnih neurofibrilarnih klupka (NFT) i naslaga unutar krvnih žila (angiopatijom). Osnovnu jedinicu patoloških fibrilarnih struktura (amiloida) unutar SP čini mali peptid β -A₄, a unutar NFT, tau-protein. Bolest se može protumačiti i kao cerebralni oblik amiloidoze. Osim u AD, senilni plakovi se javljaju jedino još u Downovom sindromu i starenju. Tijekom sazrijevanja SP, peptidu β -A₄ se pridružuju različiti proteini (Ig, komplement, inhibitori proteaza, apo E i dr.) i anorganski element (aluminosilikati). Bez obzira što je osnovni poremećaj, čimbenik "vrijeme" i proces "nakupljanja" očito imaju značajnu ulogu u patogenezi bolesti.

Peptid β -A₄ ($\approx$ 4,2 kD) normalan je i topljivi proizvod metabolizma različitih staničnih elemenata. Nastaje iz velikog β -amiloid prekursor-skog proteina (β -APP $\approx$ 200 kD) koji je integralni transmembranski glikoprotein. Fragment β -A₄ je djelomice uklopljen u hidrofobni matriks membrane (14 - 15 aminokiselina), a dio je slobodan u izvanstaničnom prostoru (28 aminokiselina). Kojim se mehanizmom ovaj fragment odcijepi da bi mogao stvoriti β -amiloid, danas još nije posve jasno. Poznato je da se proteoliza prekursor-skog β -APP odvija na dva načina. Prvim, sekretornim putem nastaje veći topljivi fragment (105 - 135 kD) i manji, membranski vezani fragment. Od nijednog danas dokazanog fragmenta ne može nastati β -A₄, jer ga nijedan od njih ne sadrži u cjelosti. Drugim, vjerojatno endosomalno-lizosomskim putem odcijep-ljuje se kompleks koji blizu svog NH₂-terminalnog kraja sadrži β -A₄ i stoga od njega može nastati β -amiloid.

Sekretorni oblik β -APP koji je pretežno zastupljen u živčanom sustavu identičan je proteazi Nexin II koja ima funkciju inhibitora

određenih serin-proteaza. Peptid β -A₄ i sekretorni oblici β -APP mogu se dokazati u normalnim likvorima, kao i njihove promjene u AD i tijekom starenja. Histopatološki, senilni plakovi i NFT se mogu dokazati u manjem broju u mozgu starijih ljudi. Što je granica koja razdvaja normalni proces starenja i neurodegeneracije od patološkog procesa? Takav potencijal svake jedinice vjerojatno je uvjetovan genetskim nasljeđem i okolišem u kojem preživljuje.

MORFOLOŠKE I FUNKCIONALNE PROMJENE GRANULOCITA: DIJAGNOSTIČKI PRISTUP

B. Labar

Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Razdioba bolesti granulocita polazi od kvantitativnih i kvalitativnih promjena tih stanica. Smanjeni broj, neutropeniju uzrokuje smanjena granulocitopoeza ili ubrzana destrukcija granulocita u krvi i tkivima. Povećani broj, neutrofilija povezuje se s povećanom i ubrzanom funkcijom granulocitne loze. Poremećaji adhezije, pokretljivosti i kemotaksije te smanjena fagocitna sposobnost ubrajaju se u kvalitativne promjene. U ovu skupinu još spadaju defekt unutarstaničnog uništavanja mikroorganizama, kao i poremećaji višestrukog mehanizma. Dio se kvalitativnih promjena može prepoznati u promjeni strukture jezgre i organela citoplazme posebice granula (tablica 1)

Tablica 1. Razdioba promjena granula i organela u neutrofilima

A. Poremećaj azurofilnih granula 1. Kvantitativni: – nedostatak granula – manjak granula – višak granula 2. Kvalitativni – manjkavi sadržaj granula – nasljedni manjak peroksidaze – abnormalne varijante – Auerovi štapići – Sindrom Chediack-Higashi
B. Poremećaj specifičnih granula 1. Kvantitativni – nedostatak granula – manjak granula – višak granula 2. Kvalitativni – manjkavi sadržaj granula – abnormalne varijante
C. Ostalo 1. Alder-Reillyeva anomalija 2. May-Heglinova anomalija 3. Dohleova tjelešca

Dijagnostički pristup u bolesti granulocita polazi od određivanja broja leukocita i diferencijalne bijele krvne slike. U kvantitativnih poremećaja potrebno je procijeniti kinetičke parametre granulocita određivanjem staničnosti koštane srži (punkcija i biopsija koštane srži), ispitivanjem sposobnosti stanične proliferacije granulocitne loze mjerenjem ugradnje radioaktivnih (^3H) timidina, DF^{32}P , ili manje sigurnim metodama kao što su mjerenje mitotičkog indeksa, scintigrafijom koštane srži s ^{51}Cr i ^{99}Tc . Stimulacijski testovi granulocitne loze endotoksinom, adrenalinom ili glukokortikoidima, iako jednostavni, nisu standardizirani i praćeni su nepoželjnim reakcijama. Reakcija granulocita na upalu može se semikvantitativno mjeriti metodom kožnog prozora (Rebuckov test, Boydenov test). U procjeni funkcionalne sposobnosti matičnih hematopoetskih stanica sve se češće koriste *in vitro* testovi kulture koštane srži kojima se ispituje vijabilnost, klonogena sposobnost i koncentracija tih vrlo nezrelih ishodišnih stanica granulocitne loze.

Temeljni test probiranja funkcionalnih promjena u granulocita je ispitivanje morfoloških značajki granulocita u koštanoj srži i krvi bojenjem po MGG te bojenjem na peroksidazu i imunoperoksidazu. Uz protutijela na CD11b/CD18 protočnom se citometrijom može dokazati odsutnost receptora C3b na površini granulocita, što je jedan od dokaza sindroma poremećene adhezije granulocita. Testovi ingestije, bilo morfološki ili kvantitativni, te degranulacije (oslobađanje laktoferina) uz testove agregacije i adhezije također se koriste u dijagnostici ovog sindroma. Kroničnu granulomatoznu bolest moguće je dokazati testovima koji mjere metabolizam kisika u inaktivnim granulocitima, tj. ispitivanjem redukcijskog potencijala granulocita za nitroblue-tetrazolium ili mjerenjem nastanka superoksida odnosno vodikovog peroksida. Danas se u dijagnostici funkcionalnih promjena koriste, posebice kod kronične granulomatozne bolesti, testovi koji mjere metabolizam kisika u staničnim organelama, npr. određivanje citokroma b_{558} u granulocitnoj membrani, NADPH oksidaze u citosolu i membrani te stvaranje superoksidnog aniona u membrani granulocita.

FAGOCITNE FUNKCIJE NEUTROFILA U ZDRAVLJU I BOLESTI

J. Lukač, D. Kordić, B. Ladika, Z. Kusić

Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Fagocitoza se drži najvažnijom obrambenom funkcijom i glavnim izvršnim mehanizmom za uklanjanje napadačkih, stranih, mrtvih, promijenjenih ili na bilo koji način nepoželjnih stanica i čestica iz organizma. Od tri najvažnije skupine imunokompetentnih stanica - granulociti, monociti, limfociti - granulociti su, a među njima neutrofili, najbrojniji. Igraju ključnu ulogu u akutnoj upali i zaštiti od mikroorganizama i najvažniji su profesionalni fagociti. Većina bakterijskih vrsta kojima je čovjek izložen nije patogena. No najveći dio njih neopasan je upravo stoga što spontano biva fagocitiran čim prijeđe neku od zaštitnih zapreka ljudskog organizma. Samo razmjerno malen broj bakterijskih vrsta, sposobnih izbjeći ingestiji ili pak digestiji od strane fagocita, mogu se doista nazvati patogenima. Za zaštitu od takvih mikroorganizama ljudski je organizam razvio složeni sustav humoralnih i staničnih imunoloških reakcija koje napokon najčešće opet završavaju uklanjanjem patogena putom fagocitoze. Fagocitoza počinje privlačenjem neutrofila na mjesto djelovanja ili kemotaksijom posredovanom kemokinima ili drugim kemotaksijskim tvarima (GM-CSF, IL-8). Slijedi izlaženje iz krvnih kapilara dijapedezom posredovanom adhezijskim molekulama (selektini L, P i E; integrini Mac-1, LFA-1, ICAM-1). Dolazi do kontakta sa ciljnom česticom ili adhezije (putom receptora za Fc fragment protutijela i komponenti komplemenata) i njenog ulaska u fagocit (ingestija) te uništavanja (unutarstanično ubijanje, digestija) enzimskim mehanizmima ovisnima ili neovisnima o kisiku. Iznose se laboratorijske metode procjene svake od spomenutih faza fagocitoze, napose metode kojima se služe autori rada u procjeni ingestije i digestije fluorescencijom s pomoću akridin-oranža te unutarstaničnog ubijanja lučenjem kisikovih i dušikovih radikala i raspravlja o kliničkim aspektima poremećaja fagocitnih funkcija, napose u onkoloških bolesnika.

S5/3

DIFERENCIJACIJSKI BILJEZI STANICA MIJELOIDNE LINIJE

B. Užarević

Zavod za imunologiju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Stanice mijeloidne linije nastaju u koštanoj srži od ishodišne mijeloidne multipotentne matične stanice. Diferencijacijom, proliferacijom i sazrijevanjem stvaraju se funkcionalno zrele stanice, tj. granulociti, monociti/makrofagi, eritrociti i trombociti. Razvojni stupnjevi granulocitopoeze prate se morfološki i fenotipski, pri čemu se ove stanice mnogo bolje dokazuju prema svojim morfološkim osobitostima. Fenotip stanica moguće je odrediti praćenjem specifičnih diferencijacijskih biljega (antigena). To su makromolekule koje se najčešće nalaze na površini stanica i mogu se otkriti s pomoću specifičnih protutijela te tako određuju vrstu stanice koja ih nosi. Tijekom razvoja (razmnožavanja i diferencijacije) stanice neke biljege zadržavaju ili gube i očituju nove pa se prema tome razlikuju diferencijacijski stupnjevi razvoja. Pri tome redovito biljezi nisu specifični za razvojni stupanj stanice, a često ni za pojedinu staničnu liniju (npr. CD34, CD10, HLA-DR). Naime, sazrijevanje stanica je kontinuirani proces pa je nemoguće postaviti oštre granice u vremenu pojavljivanja diferencijacijskih biljega. Stoga se zrelost stanica najbolje opisuje analizom morfoloških, imunofenotipskih i citogenetskih značajki. U novije vrijeme se sve više određuju unutarцитoplazmatski biljezi koji su specifični za staničnu liniju, npr. MPO za mijeloidnu liniju i pomažu pri postavljanju dijagnoze akutne mijeloidne leukemije (AML).

Matične stanice, koje imaju veliku sposobnost razmnožavanja i diferencijacije, dijele se na multipotentne i usmjerene stanice. Matične stanice granulocitne linije (CFU-GM, CFU-G, CFU-E) iskazuju biljege HLA-DR i CD34 te panmijelocitne biljege CD13 i CD33. Usmjerene matične stanice su diferenciranije i kod granulocitne linije započinju s mijeloblastom (većinom iskazuju iste biljege kao i multipotentna matična stanica), koji sazrijeva u promijelocit (gubi se biljeg HLA-DR i CD34), uz stvaranje novih biljega CD11b i CD15. Daljnje faze razvoja ne pokazuju osobitosti u stvaranju površinskih biljega. Pri imunofenotipizaciji mijeloidnih stanica najčešće se rabi niz komercijalno proizvedenih protutijela koja su specifična za određeni biljeg. Pri prvom postavljanju dijagnoze AML za imunofenotipizaciju rabi se sljedeća kombinacija protutijela: CD34, anti HLA-DR, CD13 i CD33.

Dodatna proširena analiza fenotipa AML podrazumijeva uporabu protutijela na anti CD14, CD15, PLT-1 i GLY-A. Imunofenotipizacija zloćudnih poremećaja stanica mijeloidne linije neophodna je kod: 1. postavljanja dijagnoze AML FAB M0, M6 i M7, 2. diferencijalne dijagnoze AML FAB M5a (nediferencirana) kada su citokemijske reakcije negativne i 3. ostalih oblika AML FAB M1 - M5 gdje ima potvrdnu ulogu.

S5/4

OTKRIVANJE MINIMALNE OSTATNE BOLESTI KOD BOLESNIKA S MIJELOIČNOM LEUKEMIJOM

R. Zadro

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Zadnjih desetak godina došlo je do neočekivanog napretka u molekularnoj biologiji, naročito u primjeni tehnologije analize nukleinskih kiselina u proučavanju raka kod ljudi. Hematološke maligne bolesti su upravo pravi model za istraživanje genetskih i molekularnih abnormalnosti u raku. Tako je prva pokazana kromosomska abnormalnost vezana uz rak kod ljudi Philadelphia (Ph') kromosom u kroničnoj mijeloičnoj leukemiji. Na citogenetskoj razini pokazano je da je to rezultat recipročne translokacije. Molekularna analiza takvog genskog premještanja uzrokovanog kromosomskom translokacijom izvodi se na razini DNA i RNA pomoću različitih tehnika molekularne biologije. U dijagnostici i praćenju bolesnika se za otkrivanje takvih genskih premještanja koristi lančana reakcija polimeraze (PCR).

U ovom izlaganju bit će prikazane dvije kromosomske translokacije: t(9;22) i t(15;17) i uporaba PCR analize u njihovom otkrivanju.

Translokacija t(9;22) koja je tipična za kroničnu mijeloičnu leukemiju uključuje c-abl stanični onkogen i BCR gen. Lom u c-abl genu zahvaća prvi intron, a u BCR genu *breakpoint cluster region*. Posljedica te translokacije je stvaranje bcr/abl prijepisa abnormalne veličine i proteina s abnormalnom veličinom, funkcijom, strukturom i smještajem u stanici. Svaki kronični mijeloproliferativni poremećaj kod kojeg je dokazan bcr/abl prijepis dijagnosticira se kao kronična mijeloična leukemija. Analiza bcr/abl prijepisa pomoću PCR koristi se za dijagnosticiranje kronične mijeloične leukemije: kod Ph' negativnih bolesnika, kao potvrda Ph' pozitivnih slučajeva, za dokazivanje kronične mijeloične leukemije u blastičnoj transformaciji, u kroničnoj mijeloproliferativnoj bolesti, kod neobjašnjivih neutrofilija i granulocitnih hiperplazija i u diferencijalnoj dijagnostici kronične mijelomonocitne leukemije. PCR analiza nadalje služi za praćenje bolesnika s kroničnom mijeloičnom leukemijom tijekom i nakon terapije, nakon transplantacije koštane srži, za otkrivanje minimalne ostatne bolesti, kao potvrda remisije na molekularnoj razini i za rano otkrivanje relapsa.

Akutna promijelocitna leukemija (AML-M3) udružena je sa specifičnom translokacijom t(15;17) koja uključuje PML i RAR α gen. Gen koji nastaje kao posljedica te translokacije otkriva se pomoću PCR analize koja se koristi u dijagnostici i praćenju uspješnosti određenih vrsta terapije.

S5/5

HEMOREOLOGIJA U POREMEĆAJIMA HEMOSTAZE

V. Lipovac

Klinika za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma "Vuk Vrhovac", Zagreb

Glavni hemoreološki parametri koji određuju viskoznost krvi su hematokrit, viskoznost plazme, agregacija i sklonost eritrocita promjenama oblika te broj i sklonost leukocita promjenama oblika. Poremećaj jednog ili više hemoreoloških čimbenika ima za posljedicu povećanje viskoznosti krvi. Nastale promjene mehanizmom povratne sprege dalje povećavaju hiperviskoznost krvi i pogoršavaju početne poremećaje te postupno dovode do pojave ishemije, tromboze, gangrene itd. Brojna klinička i epidemiološka ispitivanja potvrdila su povezanost između hemoreoloških promjena i bolesti s poremećajima hemostaze. Znatna utjecaj na stupanj hemoreoloških promjena imaju i genetski čimbenici, stres, lijekovi i dr. Većina se hemoreoloških poremećaja danas može *in vitro* mjeriti specifičnim i preciznim metodama, ali širu primjenu u kliničkoj praksi jedino je steklo određivanje viskoznosti plazme. U posljednje vrijeme postignut je znatan napredak u ispitivanju mehanizama nastanka hemoreoloških poremećaja na molekularnoj razini, što omogućuje bolje razumijevanje interakcije između pojedinih krvnih stanica kao i učinka medijatora i njihovog djelovanja na stanice endotela. Djelotvornost pojedinih postupaka i farmakoloških agensa na poboljšanje hemoreoloških svojstava krvi potvrđena su u raznim *in vitro* ili u kratkoročnim *in vivo* ispitivanjima, ali još nedostaju dugoročna ispitivanja koja bi pokazala uspješnost terapijskih postupaka u prevenciji hemoreoloških poremećaja.

S5/6

SELECTED TOPICS IN HEMATOLOGICAL PRACTICE: FOCUS ON THROMBOPHILIA AND ACTIVATED PROTEIN C RESISTANCE

I. Vučenik

Department of Medical and Research Technology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA

Thrombophilia is a hemostatic disorder characterized by thromboembolism and thrombosis. Factors causing thrombophilia may be inherited or acquired. Inherited alterations of coagulation proteins clearly associated with a prethrombotic state are: antithrombin III deficiency, protein C deficiency, protein S deficiency, dysfibrinogenemias, and recently discovered, activated protein resistance (APC-resistance). Alternately, acquired risk factors include surgery, pregnancy, immobilization, oral contraceptives, and inflammatory states.

In 1993 APC-resistance was described as a newly recognized cause of thrombophilia. Soon it has become apparent that APC-resistance in Western societies is the most frequent genetic risk factor for familiar thrombophilia, and that it is at least tenfold more common than any of the other genetic causes of thromboembolic disease, despite the fact that its prevalence may vary significantly between different populations. It affects an estimated 5% of the general population, and it was found in up to 60% of patients with venous thrombosis. The mode of inheritance is suggested to be autosomal dominant. The pathogenesis of APC-resistance is associated with a single point mutation in the factor V gene, which predicts substitution of an arginine at position 506 with a glutamine. This abnormality was found in more than 90% of patients with APC-resistance. Mutated factor V is also known as factor V Leiden. Thrombin and factor Xa activate mutated factor V normally, while its impaired inactivation by APC results in life-long hypercoagulability. Laboratory determination of APC-resistance can be made with a functional, APTT-based, APC-resistance test and with factor V gene mutation analysis. Because these two methods provide complementary information, both the functional APC-resistance test and the factor V gene mutation analysis are required for optimal evaluation of a single patient. This approach is not always possible for practical and economic reasons. The suggested management of APC-resistant patients is prophylactic treatment in situations known to provoke thrombosis, such as major surgery, pregnancy, or usage of oral contraception.

In the USA venous thromboembolism is the third most common cardiovascular disease after acute ischemic syndrome and stroke. This accounts for 250,000 hospitalizations and 50,000 deaths annually, and represents a major health concern, that is potentially preventable. Although not cost-effective, general screening for anticoagulant protein deficiencies to identify high risk individuals and prevent thrombosis is recommended.

FIZIOLOŠKI INHIBITORI - BILJEZI NASTANKA TROMBOEMBOLIJE

B. Raić

Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KB "Sestre milosrdnice",
Zagreb

Zgrušavanje krvi je autokatalitički proces koji se sam ograničuje. Središnji mu je događaj stvaranje trombina. Složeni mehanizmi kontroliraju nastale aktivne komponente u pojedinim sekvencama sustava zgrušavanja. Trombin je mnogoznačna serinska proteaza koja hidrolizira topljivi protein plazme fibrinogen u netopljivu fibrinsku mrežu krvnog ugruška. Stvaranje trombina na mjestu oštećene krvne žile je brz, ali visoko regulirani proces, koji ima važnu ulogu u hemostazi i nastanku tromboze te upali i proliferaciji. Vrijeme života aktivnog trombina ograničuju fiziološki inhibitori.

Najznačajniji i najviše izučen je sustav antitrombina (II - VI). Anti-trombin III (AT III) inhibira trombin i aktivirane čimbenike zgrušavanja F XIIa, F IXa i F Xa, kao i plazmin i kalikrein. Klinički je značajna inaktivacija α -trombina i F Xa. Trombin i AT III tvore čvrsti kompleks koji nastaje sporo. Ova reakcija je tisuću puta brža u prisutnosti heparina. Aktivno mjesto trombina (serin) reagira s reaktivnim mjestom (arginin) kompleksa heparin-AT III. Završetkom reakcije heparin se oslobađa, a kompleks trombin-AT III uklanjaju neutrofili. Inhibicija F Xa nastaje stvaranjem binarnog kompleksa AT III-F Xa. Heparin veže i aktivira AT III, ali se ne veže za samu molekulu F Xa. Protutijela protiv trombina inhibiraju vezanje trombina za fibrinogen, trombomodulin i trombocite. Protein C (PC) je drugi važan fiziološki, cirkulirajući inhibitor zgrušavanja. Ovisan o vitaminu K, ovaj zimogen normalno je aktiviran trombinom vezanim za trombomodulin na površini endotela krvne žile. Aktivirani PC proteolitički inaktivira F VIIIa i F Va, i na taj način smanjuje stvaranje trombina. Protein S, također o vitaminu K ovisan protein, je kofaktor aktiviranog PC i kao takav igra značajnu ulogu u prirodnom protuzgrušavajućem sustavu. Poznat je također endogeni inhibitor tkivnog čimbenika posrednika u mehanizmu zgrušavanja. To je TFPI koji izravno inhibira F Xa. Povratnom spregom koči F VIIa-tkivni faktor kompleks, koji je odgovoran za pokretanje zgrušavanja. U plazmi je vezan za lipoproteine uključujući LDL, HDL i Lp(a). Trombociti ga otpuštaju nakon što su pobuđeni trombinom.

Danas se svi navedeni fiziološki inhibitori određuju laboratorijski u kliničke svrhe. Urođeni manjak ovih fizioloških inhibitora povećava rizik od tromboze.

S4/1

NOVEL OBSERVATIONS ON NITRIC OXIDE BIOLOGY: AMINO ACID TRANSPORT AND THE IMMUNE SYSTEM

C.A.R. Boyd

Department of Human Anatomy, University of Oxford, Oxford, UK

Nitric oxide (NO) has unexpectedly been found to have a critical role in cell signalling, for example in the brain, in the immune response, in cardiovascular and reproductive physiology. When the biosynthetic pathways of NO production are activated, production of NO can cause important clinical problems (e.g. septic shock). The cationic amino acids arginine, lysine and histidine were shown more than 20 years ago to be transported in animal cells by a system (called y^+) which was characterised by its independence of extracellular sodium ions and its ability to translocate in addition to these three amino acids some neutral amino acids (e.g. homoserine) in the presence of sodium. Over the last 5 years there have been three major developments. The molecular identification of system y^+ as being via the CAT family of gene products (having twelve transmembrane domains) which have 3 characterized gene products (CAT1, CAT2A, CAT2B); the realisation that in addition to y^+ there are transporters of very high affinity for a broader range of amino acids as substrates (systems y^+L , b_0^+) which are clearly distinct from system y^+ ; and the understanding that arginine delivery, required as the substrate for NO biosynthesis, may be rate-limiting for NO production, i.e. that the rate of cationic amino acid transport across the plasma membrane may regulate NO production. Recent experiments show transport of arginine to be a potential site for the regulation of tissue-specific NO production and thus a target for therapeutic intervention for pathological circumstances associated with abnormalities resulting from stimulated NO production. Results of preliminary work on sepsis patients will be reviewed with respect to observed alterations in cationic amino acids transport found in human peripheral blood mononuclear cells.

S4/2

ULOGA KOŠTANIH MORFOGENETSKIH PROTEINA U REGENERACIJI KOSTI I BUBREGA

S. Vukičević

Zavod za anatomiju Medicinskog fakulteta, Zagreb

Koštani morfogenetski proteini (BMPs) članovi su TGF- β super-obitelji i otkriveni su na temelju svoje sposobnosti da uzrokuju stvaranje kosti na ektopičnom mjestu. Predklinička istraživanja ukazala su na lokalnu djelotvornost BMPs u liječenju defekata dugih kosti, u kraniofacijalnoj rekonstrukcijskoj kirurgiji i liječenju paradentoze. Klinički pokusi su u tijeku, a preliminarni rezultati su potvrdili predklinička istraživanja. Nedavno otkriveni hrskavični morfogenetski proteini (CDMPs) važni su za razvoj hrskavice i kosti okrajina, a mutacija u CDMP-1 genu uzrokuje Hunter-Thompsonovu hondro-displaziju. Osim u stvaranju nove kosti, BMPs djeluju i kao signalne molekule u razvoju okrajina, zubi, epifizne ploče i bubrega. Jedan od članova BMP obitelji, osteogeni protein-1 (BMP-7) ključan je za razvoj metanefričkog mezenhima i njegovih derivata u razvitku bubrega čovjeka i miša. Miševi s nefunkcionalnim BMP-7 genom umiru unutar 24 sata nakon okota zbog zatajenja bubrega. Prva predklinička istraživanja uloge OP-1 u bolestima bubrega ukazala su da profilaktička i terapijska primjena OP-1 u štakora s akutnim zatajenjem bubrega zbog okluzije bubrežne arterije znatno poboljšava biokemijske i tkivne parametre bubrežne funkcije. U životinja s kroničnim zatajenjem bubrega OP-1 sprečava brzo propadanje funkcije glomerula i smanjuje mortalitet. Otkrivanje mehanizama kojima OP-1 (BMP-7) pospješuje regeneraciju kosti i očuvanje bubrežnih funkcija bitno će doprinijeti razumijevanju procesa cijeljenja i prevencije bolesti.

S4/3

CATECHOLAMINES, ENDORPHINS, BIOACTIVE PEPTIDES AND STRESS

O. Zinder

Rambam Medical Center Haifa, Israel

The human response to stress is a complex physiological event involving numerous neuronal and metabolic pathways. The perception of stress, whether physical or psychological, triggers the activation of a cascade of events usually initiated at the level of the hypothalamus. This series occurs via secretion of a number of peptide molecules which act as releasing or inhibiting factors in the continuation of the stress response cascade. These peptides include CRF (Corticotropin Releasing Factor), PRF (Prolactin Releasing Factor), TRF (Thyrotrophic Releasing Factor) and others. These compounds flow through the neural pathways in the brain and activate secretion of hormones (Prolactin, TSH, GH, others), trophic substances (ACTH) and peptide precursors such as POMC (Pro-opio-melano-cortin), from the pituitary gland. While POMC acts as a parent compound, stimulated by CRF to be secreted and broken down to ACTH, β -lipoprotein and MSH, the other secretory products of the pituitary have an immediate and profound effect on peripheral tissues, e.g. stimulation of cortisol secretion by the adrenal gland. Endorphines, the endogenous opiates are released via POMC cleavage, and exert their effect mainly within the central nervous system, binding to pain receptors and inhibiting their response. Catecholamines are quickly released in the brain, the sympathetic nervous system, and from the adrenal medulla, in response to stress. The regulatory activities of the catecholamines in maintaining blood glucose levels, providing free fatty acids as metabolic fuel, and adjusting cardiovascular pressures, are key factors in maintenance of physiological homeostasis. The adrenal medulla also contains very large amounts of enkephaline (as well as other active peptides) which are co-stored together with epinephrine and not with norepinephrine. Secretion from the adrenal medulla following stimulation by acetylcholine shows preferential release of norepinephrine, while basal secretion is mainly epinephrine. The mechanism of secretion, its physiological consequences, the clinical relevance and diagnostic importance in measurement of these regulatory compounds, and their action on peripheral tissues will be discussed.

S4/4

CISTIČNA FIBROZA: OD GENA DO GENSKE TERAPIJE**N. Canki-Klain**

Neurološka klinika Medicinskog fakulteta, Zagreb

Cistična fibroza (CF) je najčešća potencijalno letalna autosomna recesivna bolest u bijelaca s poprečnom učestalošću 1:2500 novorođenčadi. Sam naziv ukazuje na osnovno patološko anatomsko obilježje kojeg čine cistične tvorbe egzokrinih žlijezda nastale zbog začepjenja njihovih izvodnih kanala gustom sluzi što sekundarno prati infekcija i bujanje vezivnog tkiva. Premda se CF prvenstveno očituje na razini egzokrinih žlijezda, bolest više ili manje zahvaća sve stanice u tijelu, a najčešći simptomi potječu sa strane dišnog, probavnog i spolnog sustava.

Otkriće CF gena 1989. godine epohalnog je značenja za medicinsku genetiku. Izolacija i identifikacija CF gena te definiranje građe i funkcije genskog proizvoda nazvanog CFTR ("cistično fibrozni transmembranski regulator provodljivosti") rezultat su novog znanstvenog pristupa već uspješno iskušanog na primjeru Duchenneove mišićne distrofije 1987. godine. Taj postupak prvotno poznat pod nazivom "obrnuta" ("reverse") genetika, danas sve više zamjenjuje novi naziv "položajno kloniranje".

Revolucionarno otkriće FC gena znatno je doprinijelo poboljšanoj i ranoj dijagnostici bolesti, otkriću zdravih heterozigota, sigurnijem prenatalnom otkrivanju bolesnih plodova te omogućilo bolje razumijevanje patofiziološkoga procesa čime je otvoren put genskoj terapiji.

Ispitivanja koja su još u tijeku imaju za cilj ustanoviti međusobne odnose građe i funkcije normalnog i oštećenog genskog proizvoda, utvrditi doprinos različitih mutacija na heterogenost fenotipa bolesnika te odrediti strategije za rješenje molekularnih nenormalnosti u CF epitelu. Tim istraživanjima je od 1992. godine pridružen transgenični životinjski model. Genska terapija na čovjeku započeta 1993. godine polako napreduje, ali ne zaboravimo taj kompleksni zahvat zahtijeva savršenu koordinaciju stručnjaka različitih profila od staničnih biologa, molekularnih genetičara, fiziologa, imunologa, toksikologa, virusologa, bakteriologa i drugih do kliničara.

S4/5

X-VEZANE KROMOSOMSKE BOLESTI**J. Sertić**

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Svaku gensku bolest uzrokuju promjene u strukturi DNA, što doводи do poremećaja na razini strukture i funkcije proteina, ili disrupcije stanica i organa. Danas je poznato 3 700 gena, od kojih su 3 440 autosomni, a 260 X-vezanih s fenotipovima koji su klinički proučeni. Prema tome kromosom X je bogat genima i zauzima važno mjesto u morbidnoj anatomiji genoma. Molekularnom dijagnostikom moguće je otkriti genske lezije i defektne proteine te analizirati patogenezu nasljednih bolesti. Danas se već rutinski koriste tehnike *in vitro* enzimskog umnožavanja DNA za analizu mutacija i *Western blot* u analizi proteina. Najčešće se utvrđuju unutargenske delecije i substitucije nukleotida, kao i novootkriveni oblik dinamičnih mutacija tzv. ponavljeni slijed istovjetnih nukleotida otkrivenih kod X-vezanih bolesti. Njihova je osobitost da se pri prijenosu iz generacije u generaciju broj istovjetnih nukleotida povećava i korelira s težinom bolesti i dobi nastanka. Analiza nukleinskih kiselina ima dijagnostičku vrijednost kada su utvrđeni polimorfni biljezi kloniranih gena, kada je DNA i RNA jednostavniji analit od drugih i kada je dijagnoza brza, točnija, specifičnija i osjetljivija. Molekularna medicina znatno pridonosi povezivanju genotipa i fenotipa te razumijevanju X-vezanih poremećaja među kojima su najučestalije neuromuskularne bolesti (Duchenne/Beckerova i facioskapulohumoralna mišićna distrofija, Charcot-Marie-Tooth neuropatia, spinalno-bulbarna mišićna atrofija, sindrom fragilnog X i druge) i imunodeficijencije. Naši rezultati pokazuju da učestalost mutacija za neke od navedenih bolesti u Hrvatskoj je u skladu s drugim Europskim zemljama. Navedenim dijagnostičkim pristupom moguće je dobiti uvid u strukturu gena i proteina te otkriti bolesnika prije prvih simptoma bolesti, čak prenatalno. Heterogenost unutar populacije također je moguće otkriti, te je klinička vrijednost dijagnostička i prognostička.

DNA-FINGERPRINTING

K. Barišić

Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, Zagreb

Genom većine eukariotskih organizama sadrži veliku količinu neekspimiranih (nekođirajućih) DNA sekvenci. U neekspimiranim dijelovima genoma nalazi se velik broj sekvencijskih varijanti (polimorfizama) pojedinačne vrste. Značajan dio ovih nekođirajućih sekvenci predstavljaju ponavljajući elementi. Iako funkcionalna uloga jednostavnih, tandemski aranžiranih ponavljajućih sekvenci nije poznata, one su postale iznimno važne sekvence za istraživanje eukariotskog genoma, primjerice, upotrebljavajući sonde koje sadrže jednostavne ponavljajuće motive DNA-*fingerprinting* može se primijeniti za individualnu identifikaciju i analizu genetičkih odnosa u biljaka, životinja i čovjeka.

Kad se radi o ljudskom genomu, najbolje su istražena hipervarijabilna područja genoma povezana s genima za inzulin, β -globulin i mioglobin. Konstruiranje sonde koja se temelji na tandemski ponavljanoj sekvenci od 33 bazna para pronađenoj u prvom intronu gena za mioglobin dalo je novu dimenziju u *fingerprintingu* individualnog ljudskog genoma. Ove kratke tandemski ponavljane sekvence, koje se nasljeđuju po Mendelovom zakonu, raspršene su po genomu uz veliku varijabilnost u broju ponavljanja. Konstruirana sonda otkriva većinu visokovarijabilnih lokusa istovremeno, dajući, nakon digestije restrikcijskim enzimom, profil DNA-ulomaka potpuno specifičan za svaku jedinku. Ovakav polimorfizam ima značajnu praktičnu primjenu u forenzičkoj medicini i analizi roditeljstva te ostalim obiteljskim genetičkim ispitivanjima.

S6/1

CARBOHYDRATE TUMOR MARKER: BASIS FOR A SIMPLE CANCER SCREENING TEST

A.M. Shamsuddin

Department of Pathology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore,
Maryland, USA

The sialic acid-free disaccharide D-galactose- β -[1 $\rightarrow$ 3]-N-acetyl-D-galactosamine (Gal-GalNAC) is expressed in the mucus secretions of various epithelial cancers including those of the colon, breast, lung, prostate, pancreas, etc. The expression of Gal-GalNAC in the "normal" tissues and their secretions away from, but within the general field of the cancers indicate the operation of a field-effect phenomenon (Shamsuddin et al, Cancer Res. 55:149-52, 1995).

Gal-GalNAC in the tissues or in the mucus secretions can be easily detected by enzymatic oxidation (10 minutes) followed by color reaction by Schiff's reagent (1 minute). Using the rectal mucus as the sample, this test has yielded a very high sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value for colon cancer screening. Together with its cost-effectiveness it offers as a great tool in our strategies for early detection and hence control of colon cancer. Because of its high accuracy (as opposed to the fecal occult blood tests), it would reduce the number of unnecessary colonoscopies, thereby decreasing the total health-care cost to the society.

Performance of mucus test in colon cancer screening

Parameters	Fecal occult blood test	Rectal mucus test
Sensitivity	4,5% - 50,0%	80,0 - 100%
Specificity	4,3% - 50,0%	92,4 - 100%
Stability	< 5 days	> 9 years
Restriction	diet/drug	none
Discomfort	aesthetic	minimal
Required #	6	1
Total cost	\$ 10,00	~ \$ 10,00

Similar expression of this marker in cancers of breast, lungs, prostate, pancreas, makes it a potentially useful general cancer screening test by using their secretions, eg. nipple secretions or aspirate, prostatic massage secretions, bronchial secretions and sputum, etc.

S6/2

TUMORSKI BILJEZI: VEZA IZMEĐU *IN VITRO* I *IN VIVO* ISTRAŽIVANJA U TUMORSKIM BOLESTIMA

D. Cvrtila

Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Kao rezultat stalnog napretka pri istraživanju malignih bolesti i s obzirom na razvoj osjetljivih metoda *in vitro* dijagnostike (RIA, LIA, EIA, imunohistokemija) posljednjih je dvadesetak godina pronađeno mnogo spojeva koje sintetiziraju ili sintezu induciraju tumorske stanice. Ti se spojevi luče u cirkulaciju, druge tjelesne tekućine ili su prisutni kao antigeni na površini stanica. Nazivamo ih tumorskim biljezima jer, svaki na svoj način je karakterističan za neku od faza tijeka maligne bolesti. Nažalost, podaci dobiveni određivanjem tumorskih biljega nisu kliničarima jednako korisni u svim fazama razvoja maligne bolesti. Neki biljezi daju nam podatke o tipu i lokalizaciji malignog rasta, dok su drugi indikativni za stupanj bolesti, za praćenje bolesnika nakon terapije, odnosno za prognozu bolesti.

Iako se još uvijek vode rasprave o kliničkoj vrijednosti biljega, najnovijim je napretkom terapije tumora povećana i klinička vrijednost određivanja tumorskih biljega. U velikim je ispitivanjima dokazano da je dijagnostička značajnost za odgovarajuće maligne bolesti određena odnosom osjetljivost/specifičnost te prediktivnom vrijednošću koja se može postići s datim određivanjem. Na klinici se zahtijeva da testovi za tumorske biljege moraju imati specifičnost veću od 95% i osjetljivost veću od 50%.

Budući da gotovo za svaki maligni tumor postoji jedan ili više pogodnih biljega, važno je znati koji će biljeg biti uporabljen u koju svrhu, npr. za dijagnozu i diferencijalnu dijagnozu, za poboljšanje prognostičkog predviđanja, za ocjenu terapijskih postupaka i za ranije dokazivanje ponovne pojave bolesti. Iako svi do danas poznati biljezi ispunjavaju neke od navedenih kriterija, samo se u iznimnim slučajevima biljezi mogu koristiti za probiranje ili primarnu dijagnozu. Općenito je prihvaćeno da se najveća vrijednost određivanja većine tumorskih biljega iskazuje u praćenju uspjeha terapije i pridruženoj ranoj dijagnozi ponovne pojave bolesti ili metastaza. U mnogim takvim slučajevima tumorski biljezi mogu dati podatke o promjeni ponašanja tumora od 1 do čak 12 mjeseci prije nego li to mogu *in vivo* dijagnostički postupci. Ta se spoznaja može korisno uporabiti za odgovarajuću terapiju.

U ovom radu, uz neka teorijska razmatranja o tumorskim biljezi-
ma, opisat će se rezultati određivanja biljega u serumu i u citosolu
tkiva tumora te procijeniti njihova uloga u prognozi i praćenju tijeka
bolesti u bolesnica s karcinomom dojke. Od mnogih pronađenih i
predloženih biljega u tu svrhu, određivali smo CEA, CA 15-3, CA M26,
CA M29 i TPS, zatim receptore steroidnih hormona kao biokemijske
pokazatelje hormonske ovisnosti tumora, čije vrijednosti pomažu u
klinici pri procjeni vjerojatnosti odgovora na hormonsku terapiju,
odnosno katepsin D kao nezavisni prognostički čimbenik za određiva-
nje bolesnica s visokim rizikom za diseminaciju bolesti jer izlučeni
katepsin olakšava invaziju tumorskih stanica u okolinu.

MOLEKULARNO-GENETIČKA OSNOVA RAZVOJA TUMORA

K. Pavelić

Zavod za molekularnu medicinu Instituta "Ruđer Bošković", Zagreb

Za nastanak zloćudnog tumora ključne su tri skupine gena: proto-onkogeni, supresorski geni i geni za popravak DNA. Strukturne ili funkcionalne promjene tih gena mogu pridonijeti nastanku i razvoju raka bez obzira je li riječ o nasljednim ili stečenim tumorima. Svaka normalna stanica posjeduje složeni mehanizam za primanje poticajnih signala rasta iz okruženja i njihov prijenos kroz citoplazmu u jezgru gdje se aktiviraju geni odgovorni za diobu stanice. Stoga će se poremećaji na bilo kojoj stepenici tog procesa odraziti i na diobu stanice. Geni koji to nadziru zovu se protoonkogeni i supresorski geni. Proto-onkogeni kodiraju za brojne dijelove signalnog puta, uključujući čimbenike rasta, membranske receptore, citoplazmatske posrednike signala, čimbenike transkripcije. Strukturne i funkcionalne promjene pretvaraju ih u onkogene i imaju za posljedicu poremećaj staničnog ciklusa. S druge strane, inaktivacija supresorskih gena također rezultira poremećenim, nekontroliranim diobama, jer je primarna funkcija tih gena negativna regulacija staničnog ciklusa. Osobito je važna uloga gena p53 za kojeg se pretpostavlja da je ujedno i tzv. čuvar genoma. Osim što regulira aktivnost ciklina i enzima, ciklin-ovisnih kinaza, koji izravno sudjeluju u diobi stanica, taj gen "čuva" organizam time što omogućava stanicama da poprave mutacije ili aktiviranjem programirane smrti ukoliko su oštećenja obimna. Većina tumora posljedica je nagomilavanja genetičkih grešaka. U izlaganju će biti predložen primjer višestrukih genetičkih promjena u nastanku neuroendokrinih tumora. Također će biti riječi o nasljednom raku dojke, jajnika i debelog crijeva. Bit će spomenuti i najnoviji rezultati o genu nm23-H1 koji bi mogao biti odgovoran za metastaziranje. Naposljetku bit će naznačena strategija ranog otkrivanja raka primjenom genetičkih biljega te novi pristupi liječenju - tzv. gensko liječenje raka.

S6/4

**VRIJEDNOSTI CA 15-3 U SERUMU I CITOSOLU
MALIGNOG TKIVA BOLESNICA S RAKOM DOJKE****R. Petrinović, D. Graf, J. Biškup, F. Knežević**

Klinika za tumore, Zagreb

Ispitivali smo moguću korelaciju između cirkulirajućeg (serumskog) biljega CA 15-3 i onog koji se nalazi u malignom tkivu bolesnica s rakom dojke. Također smo ispitali postoji li veza između koncentracije biljega, patohistološke dijagnoze, stadija tumora i hormonskih receptora. Ispitivanjem je obuhvaćeno 343 bolesnice u dobi od 30 do 86 godina. CA 15-3 određivan je MEIA metodom (Abbott), a estrogenski i progesteronski receptori RIA metodom. Preoperativni CA 15-3 bio je povišen (> 28 J/ml) kod 17,4% bolesnica, s tim da postoji statistički značajna razlika ($p > 0,01$) između bolesnica s pozitivnim limfnim čvorovima u aksili i onih bez njih. Kod prve skupine ($n = 190$) CA 15-3 u serumu bio je povišen kod 25,4% bolesnica ($x = 36$ J/ml), a kod druge skupine ($n = 153$) biljeg je bio povišen u 7,4% slučajeva ($x = 22$ J/ml). Raspon koncentracije CA 15-3 u citosolu malignog tkiva iznosio je 0,5 - 2 434 J/mg proteina ($x = 240$ J/mg proteina), a pokazalo se da su statistički značajne razlike između tkiva s pozitivnim hormonskim receptorima i onih bez njih. Također postoje značajne razlike između koncentracije biljega u serumu i tkivu različitih stadija te koncentracije hormonskih receptora.

LABORATORIJSKE PRETRAGE U KARCINOMU ŠTITNJAČE

Lj. Lukinac

Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Maligni tumori štitnjače su relativno rijetka bolest od koje boluje oko 1%, a umire oko 0,5% svih onkoloških bolesnika. Bolest se najčešće javlja u dobi od 30 do 60 godina i češća je u žena nego u muškaraca. Dijagnostički postupci za otkrivanje karcinoma štitnjače su: klinički nalaz, ultrazvuk vrata, citopunkcija čvora štitnjače, scintigrafija štitnjače, a ponekad se radi i radiološka obrada vrata, kompjutorizirana tomografija ili nuklearna magnetska rezonancija. Karcinomi štitnjače dijele se na dvije osnovne skupine: diferencirani su papilarni i folikularni, a nediferencirani anaplastični i medularni.

Diferencirani karcinomi štitnjače su najučestaliji (oko 80%), manje su maligni i pogodni su za liječenje s radioaktivnim jodom (^{131}J). Tim bolesnicima se nakon provedene tiroidektomije određuje koncentracija tireoglobulina (Tg) u serumu i radi scintigrafija cijelog tijela ^{131}J . Pritom se obvezno određuje koncentracija tireotropina (TSH) i titar tireoglobulinskih protutijela (TgP) u serumu. Naime, za uspjeh scintigrafije koncentracija TSH mora biti veća od 30 mU/L. Pozitivan titar TgP može, pak, dati lažno pozitivne vrijednosti Tg. Ostatak štitnjače uklanja se ablacijskom dozom ^{131}J , a liječenje udaljenih metastaza provodi se jednokratnim ili višekratnim terapijskim dozama ^{131}J . U praćenju tih bolesnika moguće je, također, kromatografskim postupkom odrediti radioaktivnost endogeno obilježenih hormona štitnjače trijodtironina i tiroksina (^{131}J -T3/T4) koje stvara ostatak tkiva štitnjače ili udaljene metastaze.

Dijagnosticiranje medularnog karcinoma štitnjače temelji se na povišenoj koncentraciji kalcitonina u serumu i pozitivnoj histokemijskoj metodi bojenja amiloida s kongo-crvenilom. U praćenju tih bolesnika korisno je i određivanje koncentracije karcinoembrijskog protugena ili neuronske specifične enolaze.

Anaplastični karcinomi ne izlučuju neki specifični tumorski biljeg, nemaju sposobnost nakupljanja ^{131}J , slabije reagiraju na radioterapiju i kemoterapiju pa stoga imaju lošu prognozu.

S6/6**TUMORSKI BILJEZI U PLEURALNIM IZLJEVIMA****I. Malešič, J. Pohar**

Bolnica Topolšica, Slovenija

Jedan od mnogobrojnih problema u dijagnostici plućnih bolesti je prisutnost tekućine u pleuralnoj šupljini. Česti uzrok izljeva je kongestivna srčana greška, a sve brojniji su primjeri gdje su uzrok maligna oboljenja. To često zahtjeva različite dijagnostičke postupke, od kojih su mnogi invazivni i ne sasvim bezopasni. Točna dijagnoza se osniva na pozitivnim citološkim i histološkim rezultatima. Međutim, broj lažno negativnih rezultata je prevelik, da bismo bili zadovoljni samo s tom vrstom dijagnostike. U našem radu pratili smo LDH i četiri biljega malignih oboljenja: AFP, CEA, feritin i citokeratinski fragment 19 (CYFRA) kod 130 bolesnika. Od toga je bilo 36 bolesnika s malignim i 94 s nemaligim izljevom. Koncentracije CEA i CYFRA su značajno više u malignim izljevima nego u nemaligim izljevima. Druga dva biljega, AFP i feritin ne pokazuju izrazitu značajnost. Zanimljiva je pozitivna korelacija između feritina i LDH kod malignih i nemalighnih pleuralnih izljeva. Od četiri biljega, koja smo pratili, jedino CEA i CYFRA imaju dijagnostičku vrijednost pri otkrivanju maligne etiologije pleuralnog izljeva.

S6/7

KROMOSOMSKE TRANSLOKACIJE I PREUREĐENJE GENA U LIMFATIČKIM NEOPLAZMAMA

B. Grahovac, J. Bingulac-Popović

Odjel za molekularnu imunogenetiku Hrvatskog zavoda za transfuziju, Zagreb

U posljednjih deset godina postignut je značajan napredak u razumijevanju bioloških i molekularnih mehanizama normalne limfopoeze i patogeneze limfatičkih neoplazmi. Najveći doprinos tom napretku načinjen je a) proučavanjem imunoglobulinskih gena (Ig) i gena T-staničnog receptora (TCR) te spoznajama o načinu formiranja njihove klonske raznolikosti i b) istraživanjem strukture i funkcije gena uključenih u kromosomske translokacije koje se sustavno pojavljuju kao citogenetski biljezi određenih limfatičkih leukemija i limfoma.

Tijekom diferencijacije i sazrijevanja T i B limfocita, Ig i TCR geni prolaze cikluse genskog preuređenja koji završavaju stvaranjem proteinskih proizvoda - specifičnih klasa imunoglobulina i T-staničnih receptora na površini limfocita. Razlike u sekvencama preuređenih gena u normalnom tkivu i tumorskom tkivu predstavljaju osnovu za dokazivanje klonske tumorske proliferacije i praćenje eliminacije tumorskog tkiva tijekom terapije.

Prisutnost kromosomskih abnormalnosti u tumorskim bolestima očituje se na citogenetskoj razini kao delecija, translokacija ili inverzija kromosomskog materijala. Delecija je najčešće povezana s gubitkom tumorskog - supresor gena, dok u procesima inverzije ili translokacije dolazi do loma kromosoma i premještanja genskog materijala u druge regije istog kromosoma ili se genski materijal procesom recipročne translokacije razmjenjuje između dva kromosoma. Proučavanjem gena uključenih u translokacije u limfatičnim neoplazmama, utvrđena su dva osnovna načela. Po prvom, dolazi do prijenosa protoonkogena u regiju gena koji kodiraju T-stanični receptor ili imunoglobulinske lance, što ima za posljedicu aktivaciju protoonkogena, a po drugom, dolazi do spajanja dijelova dva različita gena u jedan hibridni gen, koji kodira protein s novom strukturom i izmijenjenom funkcijom. Aktivirani onkogeni i novonastali kimerični geni najčešće kodiraju proteine koji djeluju kao transkripcijski čimbenici, ukazujući da promjene u transkripciji imaju značajno mjesto u zloćudnoj promjeni stanica.

Napredak u dijagnostici limfatičkih leukemija i limfoma postignut je uvođenjem tehnika molekularne biologije, Southern blot metode i polimerazne lančane reakcije (PCR). Southern blot metodom definira

se poremećaj na genskoj razini, određivanjem mjesta loma na kromosomu. Kloniranjem tih regija otkriveni su geni uključeni u translokacije, definirana je organizacija novonastale regije koja izravno utječe na funkciju premještenih ili novonastalih hibridnih gena. Uvođenjem PCR metode, koja omogućuje enzimsku sintezu milijuna kopija specifičnih sekvenca DNA, moguće je određivanjem jedne maligne stanice u 10^5 do 10^6 zdravih stanica. Primjenom ove visoko osjetljive metode, osim dobivanja podataka o prirodi molekularnog poremećaja, moguće je otkriti ostatne maligne stanice poslije završetka terapije, u remisiji bolesti ili u ranim stadijima recidiva bolesti.

S2/1

URGENT MEDICINE AND THE LABORATORY

A.M. Kelly

Royal Alexandra Hospital, Paisley, UK

Urgent medicine demands a fast response from the laboratory. In the past, the time required to transport, centrifuge, analyse and report results of specimens resulted in unacceptable turn-around times (TAT). Now with the introduction of pneumatic tube systems for transportation, whole blood analysers and on-line reporting systems TATs have been dramatically reduced.

It has been advocated that off-site laboratories are not required and that the central laboratory can provide both STAT, critical care and routine services (1). This must be the most cost effective solution. Ideally the central laboratory and the radiology department should be at the hub of the hospital complex and radiating from there the units which require urgent services:

Accident and Emergency Unit	Intensive Care Medical Unit (Coronary Care)
Special Care Baby Unit	Intensive Care Surgical Unit
Theatres	

This ideal is rarely met and it may be that even with state-of-the-art transport systems the geographic situation of the acute medical units necessitates an off-site laboratory.

Turn-around times:

Staffes et al (2) claim to have reduced TATs from 15 to 2 - 3 minutes for STAT specimens and from 30 to 5 minutes for routine specimens by the use of custom made request forms and off-site laboratories equipped with rapid assay analysers. Wherever the laboratory is sited 10 minutes should be the target TAT for STAT specimens but many of us still struggle to maintain a 30 minute response throughout the 24 hours.

Laboratory investigations:

Fast TATs demand whole blood analysers for the determination of:

Blood Gases	Glucose
Sodium	Haemoglobin
Potassium	Calcium - ionised

Laboratories providing STAT services to critical care units also require to provide investigations using serum, plasma and urine for:

Urea	Creatinine	Total Calcium	Bilirubin
Albumin	Cardiac Enzymes	Magnesium	(& Conjugated)
Lactate	RBC + WBC Counts	Platelets	PCV
PT/INR	PTT	Osmolality	CRP
Salicylate	Paracetamol	Theophylline	Digoxin

Dry chemistry stick tests for Troponin T - Myocardial Infarction and Trypsin II - Pancreatitis have recently been described and should be included in the repertoire.

Staffing:

The service can most cost effectively be obtained from the central laboratory and this should guarantee a quality service and the most efficient use of staff. However geography may require off-site laboratories and the question of how they are staffed requires consideration. Unless the acute medical units generate a large volume of STAT specimens throughout the 24 hour day it is unlikely to be cost effective for laboratory personnel to provide the service. Alternative options should be considered.

Although controversial, the staffing model of Near Patient Testing or Point of Care Testing may provide a solution. The use of non-laboratory personnel, usually junior medical or nursing staff, necessitates training in:

Patient Preparation	Specimen Collection
Analytical Methodology	Interpretation & Documentation
Health and Safety	of Results
Routine Equipment Maintenance	Quality Assessment & Documentation

Individual competence must be objectively and independently assessed before any tests are carried out on patients specimens. Details of staff authorised to conduct testing should be recorded. It should also be understood that infrequent use can lead to inaccuracy and difficulty with interpretation of results.

Healthcare reforms have meant cost reduction of laboratory investigations. Advances in test kits, portable analysers and desk top analysers have increased, at a price, the potential for testing outwith the central laboratory. On the other hand pneumatic tube systems, fast analysers and on-line reporting systems have reduced the TATs of the central laboratory. It is therefore necessary to objectively assess operating practice and cost effectiveness in terms of patient outcomes before redesigning system to meet the needs of Urgent Medicine.

1. Winkelman JW, Wybenga DR. Am J Clin Pathol 1994; 102:7-10.
2. Steffes MW, Gillan JL, Fuhrman SA. Clin Chem 1996; 42:387-91.

S2/2

PATOBIOKEMIJA I DIJAGNOSTIKA ŠOKA

E. Topić

Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Bez obzira koji je od uzroka odgovoran za nastanak šoka, smanjenje krvnog volumena predstavlja osnovni čimbenik u njegovu razvoju i uvijek ga prate prepoznatljive biokemijske promjene. Šok nastaje kao sekundarna pojava nakon nekog težeg poremećaja kao što je akutni srčani infarkt, ozljede, teške hemoragije, opekline, infekcije itd, a patogeneza šoka može se podijeliti u tri stadija: 1. stadij kompenzirane hipotenzije, 2. stadij smanjene perfuzije i 3. stadij poremećaja mikro-cirkulacije i oštećenja stanične membrane.

Laboratorijska dijagnostika mora odgovoriti na pitanje razvija li se šok u sklopu osnovne bolesti, je li šok prisutan i do koje mjere su zahvaćeni organi oštećeni. Osnovne hitne pretrage u dijagnostici šoka su: kompletna krvna slika, koagulogram, elektroliti, ureja, kreatinin, osmolalnost plazme i mokraće, glukoza, laktati te acidobazna ravnoteža.

Biokemijske analize samo uzastopno i učestalo uzimanih uzoraka mogu biti odlučujuće za postupak liječenja. Primjerice, plinove u krvi valja analizirati svaka 3 do 4 sata, a uzorke uzimati iz arterijske krvi jer oni iz venske krvi ne daju objektivne podatke. Usporedba sadržaja plinova u krvi u uzorcima uzetim iz karotidne arterije i jugularne vene potrebna je radi procjene metabolizma moždanih stanica u dijagnosticiranju moždane smrti. U dijagnosticiranju razvoja akutne plućne insuficijencije potrebne su uz analizu plinova u krvi i elektrolita i rendgenske snimke pluća, koje valja ponavljati bar dvaput na dan.

Koncentracija hemoglobina i hematokrita pokazuju stupanj hemodilucije i sposobnosti krvi za prijenos kisika, kao i stupanj dilucije ostalih staničnih i plazminih sastojaka krvi. Broj trombocita, koncentracije fibrinogena i protrombina te vrijednosti djelomičnog tromboplastinskog i trombinskog vremena dat će uvid u koagulacijski mehanizam u šoku. Bijela krvna slika s diferencijacijom stanica, koncentracija glukoze, elektrolita i laktata u serumu redovite su dnevne pretrage. Aktivnost LDH, CK i njegovih izoenzima upozoravaju na veličinu oštećenja tkiva u šoku. Podaci o koncentraciji ukupnih proteina, a posebice albumina mogu označiti razmjere katabolizma i kvantificirati potrebu za koloidima u tijeku liječenja. Procjena funkcije jetre i gušterače (aktivnost enzima ALT, AST, alkalne fosfataze i

amilaze u serumu) prijeko su potrebne bar dvaput na dan. Procjena bubrežne funkcije provodi se trajnim mjerenjem satne diureze i učestalim mjerenjem osmolalnosti plazme i mokraće te koncentracije kreatinina, natrija, kalija i ostatnog dušika u serumu.

Noviji pokazatelji akutnih stanja bolesnika koja uzrokuju razvoj šoka danas su proteini akutne faze te pokazatelji antioksidativnog statusa bolesnika.

S2/3

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA HITNIH STANJA**N. Vukelić**

Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Zadatak hitnog laboratorija u pružanju hitne medicinske pomoći je da u najkraćem mogućem vremenu pruži liječniku brz, točan i precizan dijagnostički podatak da bi što prije postavio dijagnozu i započeo liječenje. Spektar pretraga mora omogućiti dijagnozu najčešćih akutnih stanja kao što su: bolesti hemostaze, krvarenja, anemije, upale, akutne bolesti srca, jetre, bubrega i pankreasa, šećerna bolest, stanja kome i trovanja. Hitna laboratorijska dijagnostika prisutna je na svim razinama zdravstvene zaštite, slijedeći (ovisno o kadrovskim i tehničkim mogućnostima) specifične zahtjeve liječnika.

Pretečom hitnog laboratorija smatra se laboratorij za određivanje plinova u krvi, utemeljen za vrijeme epidemije *polia* u Danskoj 1952. godine. Razvoj i napredak medicinskih struka te potreba za razvojem jedinica intenzivne skrbi zahtjevali su odgovarajuću laboratorijsku podršku pa je hitni laboratorij za plinske analize prerastao u multidisciplinarni hitni laboratorij koji prvenstveno prati potrebe hitne medicine, jedinica intenzivne skrbi i kirurških struka.

Broj i opseg pretraga koji se zahtjevaju od hitnog laboratorija bilježe eksponencijalni porast u zadnjih 25 godina i nužno su doveli do usavršavanja postojećih i razvoja novih laboratorijskih tehnika i analitičkih instrumenata. Značajno mjesto dobile su metode suhe kemije i tehnike koje se temelje na primjeni senzora i biosenzora, a značajan napredak u hitnoj laboratorijskoj dijagnostici donijele su tehnike i instrumenti za analizu sve većeg broja analiza iz uzorka pune krvi.

Nove tehnike i instrumenti omogućuju izvođenje laboratorijskih pretraga i izvan prostora laboratorija - neposredno uz bolesnika (u liječničkoj ordinaciji, odnosno u dislociranom hitnom laboratoriju smještenom uz hitnu ambulantu, jedinicu intenzivne skrbi i kiruršku dvoranu).

AKUTNI INFARKT MIOKARDA

N. Vrkić

Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Okluzija koronarne arterije trombom na mjestu ruptуре ateromatozne ploče, izravnim je uzrokom ireverzibilnog oštećenja miokarda, a prethodi mu na prvom mjestu ateroskleroza, koja započinje već u djetinjstvu. Danas se znade za nekoliko stotina gena čiji su proizvodi odgovorni za aterogenezu. Osim hereditarnih, uključeni su i klasični rizični čimbenici: muški spol, poodmakla dob, pušenje, hipertenzija, visok sadržaj LDL kolesterola, Lp(a) i pretilnost. Okosnica patogeneze je oksidacija glavnog aterogenog lipoproteina LDL te djelatnosti staničnog sustava monocit (makrofag) - glatka mišićna stanica - endotelna stanica. Proces se zbiva u intimi arterije, a počinje gomilanjem pjenušavih stanica ("masne pruge") koje narastaju u ateromatoznu i na kraju fibroznu ploču. Završnica ateroskleroze je proboj ploče i napuknuće prema lumenу žile praćeno trombozom i akutnom okluzijom lumena, što uzrokuje ishemiju i akutni infarkt miokarda (AIM).

Prevenција ishemične srčane bolesti sastoji se primarno od kontrole hiperkolesterolemije te uklanjanja i kontrole klasičnih čimbenika rizika. Inhibitori oksidacije lipoproteina se još klinički istražuju (vitamin E, Vitamin C, β -karoten, selen, malo alkohola, čaj, inhibitor fosfolipaze).

Dosadašnja dijagnostika ostavlja 1 do 3 AIM neprepoznata, a više od 40% bolesnika ima neselecionirani tretman. Zato se traga za novim biljezima koji će omogućiti ranu dijagnostiku i trombolitičku terapiju. Uz uobičajeno kinetičko praćenje aktivnosti enzima CK, CK-MB i LDH, predloženi su noviji biljezi: masena koncentracija CK-MB, određivanje podoblika tkivnog MB₂ i plazmatskog MB₁, mioglobin, troponin T i I te miozin (laki lanci). Ističe se troponin T kao rani i kasni pokazatelj AIM. Ujedno je i prognostički biljeg za mikroinfarkte u bolesnika s nestabilnom anginom pectoris, pokazatelj uspješnosti trombolitičke terapije te procjenitelj reperfuzije i veličine infarkta.

Analitika novih biljega temeljena je na kvantitativnim imunokemijskim metodama s monoklonskim protutijelima, koje se mogu automatizirati i dovršiti unutar 30 - 45 minuta. Razvijene su i brze kvalitativne analize: lateks-aglutinacijski test za mioglobin i test trake s monoklonskim protutijelima obilježenim zlatom za određivanje troponina T.

S2/5

HITNA STANJA ZBOG OTROVANJA, DROGA I JATROGENOG DJELOVANJA LIJEKOVA

V. Rumenjak

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Suvremeni svijet, zahvaljujući tehnološkim postignućima, okružen je brojnim biološki aktivnim, a time i potencijalno otrovnim kemijskim spojevima. Smatra se da je broj danas poznatih kemijskih spojeva oko $4,4 - 5 \times 10^6$ i taj se broj neprestano povećava. Svakodnevno ih se koristi oko 100 000. Svi oni, osim koristi, nose i opasnost po zdravlje jer uneseni u organizam mogu uzrokovati tešku bolest ili čak smrt.

Liječenje tih bolesnika suočeno je s brojnim problemima: brojnost i polimorfizam simptoma te njihov intenzitet i poteškoće u prepoznavanju otrova. Zbog svega toga liječenje se najčešće ograničava na održavanje vitalnih funkcija u čemu medicinsko-biokemijski laboratorij ima važnu ulogu. Zadaća medicinsko-biokemijskog laboratorija je učiniti analize kojima se prate funkcionalni poremećaji nastali kao posljedica otrovanja i ustanoviti radi li se doista o otrovanju (toksikološke analize). Prva skupina analiza ovisi o simptomima otrovanja koji prevladavaju i obuhvaća analize koje se svakodnevno izrađuju u medicinsko-biokemijskom laboratoriju. To su uglavnom analize kojima se procjenjuje promjena acidobazne ravnoteže te funkcije jetre i bubrega. Drugu skupinu analiza čine specifični postupci za utvrđivanje prisutnosti otrova i za njegovu identifikaciju. Te analize zahtjevaju specijalne postupke i instrumente te se najčešće izvode u specijaliziranim laboratorijima. Unatoč tome, i medicinski biokemičar u laboratoriju primarne zdravstvene zaštite treba poznavati osnovne toksikološke analize. U skladu s načelima dobre laboratorijske prakse, preporuča se da svaki laboratorij primarne zdravstvene zaštite ima mogućnost izrade najosnovnijih toksikoloških analiza. Vrstu i broj tih analiza treba odabrati u dogovoru s liječnicima i prema stanju na terenu.

DIJAGNOSTIKA HITNIH NEUROLOŠKIH STANJA

K. Samošćanec

Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Hitna stanja vezana uz neurološkog bolesnika mogu nastati zbog upalnih procesa različite etiologije, zbog cerebrovaskularnog inzulta (CVI) odnosno biti posljedica traumatoloških stanja. Preporučeni program hitnih pretraga likvora sastoji se od makroskopskog pregleda, citološke analize stanica likvora te određenih biokemijskih pokazatelja u likvoru kao što su koncentracija proteina, glukoze, laktata i klorida. Najčešće upalne bolesti, encefalitis i meningitis, laboratorijski se diferenciraju na temelju krvne slike i citološko-biokemijske analize likvora. U akutnoj upali mozga, encefalitisu, krvna slika pokazuje povišenu sedimentaciju te leukopeniju koju zamjenjuje leukocitoza. Likvor je bistar, bezbojan ili lagano opalescira. Broj stanica je umjereno povišen i citološki su mješovite da bi, što bolest duže traje, neutrofilne granulocite zamijenili limfociti. Koncentracija proteina je povišena, dok je koncentracija glukoze u granicama normale ili lagano povišena. Uz povišenu temperaturu i glavobolju glavni klinički simptom je menin-gizam u kojem bolesnik pokazuje sliku akutnog meningitisa, ali nalaz likvora je gotovo normalan što ga razlikuje od meningitisa. Upala moždanih ovojnica, meningitis, se prema promjenama u likvoru može podijeliti na gnojni meningitis s izrazito visokim brojem neutrofilnih granulocita i serozni meningitis s povišenim brojem stanica i to prvenstveno limfocita. U gnojnom meningitisu likvor može biti bezbo-jan, ali najčešće je mutan, bjelkast, žućkast ili žućkasto zelenkast. Broj stanica iznosi $\approx 10\,000$ u mm^3 . Koncentracija proteina je izrazito povišena i to pretežno globulina (Pandy +++). Uz izrazito jaku gla-vobolju i povraćanje vodeći klinički simptom je ukočenost šije koja nastaje zbog povišenog tlaka i toksične iritacije spinalnog korijena. Uz patološki nalaz likvora to je najpouzdanija potvrda dijagnoze meningitisa.

Cerebrovaskularni inzulti se prema etiologiji dijele na ishemične i hemoragične. Ishemični CVI, koji nastaje zbog smanjenog protoka krvi kroz mozak, ima za posljedicu smanjenu količinu kisika i drugih metabolita u mozgu. Pretrage krvi i likvora ne pokazuju neke posebne promjene. Hemoragični CVI, koji nastaje zbog intrakranijalne hemo-ragije, razlikuje se od ishemičnog CVI već na temelju makroskopskog i/ili mikroskopskog pregleda likvora. Likvor dobiven lumbalnom puk-cijom je hemoragičan i ukoliko je hemoragija svježja, nakon centrifu-

giranja je bistar, bezbojan. Ukoliko je do hemoragije došlo ranije tada je likvor nakon centrifugiranja ksantokroman. Broj stanica u likvoru je sličan odnosu u punoj krvi. Koncentracija proteina je povišena, kao i globulini. Koncentracije klorida, laktata i glukoze su u granicama normale.

HITNA STANJA U PULMOLOGIJI

S. Dodig

Specijalna bolnica za bolesti dišnog sustava djece i mladeži Srebrnjak, Zagreb

Hitna stanja najbolji su ispit znanja i umijeća za cijeli tim zdravstvenih djelatnika pa tako i za medicinskog biokemičara koji mora dobro poznavati opća načela fiziologije i patofiziologije dišnog sustava. Tim stručnjaka u laboratoriju uvijek treba biti spreman za akutno ugroženog respiratornog bolesnika koji ima astmu, plućnu emboliju odnosno plućni infarkt, plućni edem, koji je predoziran lijekovima, koji je životno ugrožen zbog otrovanja plinovima ili je na bilo koji način doveden u stanje akutne respiracijske insuficijencije.

Osnovne pretrage kojima se utvrđuje stanje akutnog bolesnika su pretrage plinova u krvi, pretrage parametara acidobazne ravnoteže i mjerenje koncentracije elektrolita u serumu. Dobra laboratorijska praksa pri mjerenju plinova u krvi u mnogome se razlikuje od svakodnevne prakse kod ostalih biokemijskih pretraga, jer za određivanje plinova u krvi velika se pozornost treba obratiti na brojne posebne predanalitičke interferencije povezane s održavanjem analizatora, uzorkovanjem, eventualnom pohranom uzorka te samom pretragom. Tumačenju nalaza se posebno treba pristupiti kod bolesnika koji su na umjetnoj oksigenaciji, kada u obzir treba uzeti količinu udahnutog kisika i alveo-arterijski gradijent kisika.

S2/8

OKSIDATIVNI STRES I AKUTNE KOMPLIKACIJE ŠEĆERNE BOLESTI

M. Vučić, N. Car, B. Ročić

Klinika za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma "Vuk Vrhovac", Zagreb

Oksidativni stres u šećernoj bolesti nastaje kao posljedica kako povećanog stvaranja slobodnih radikala, tako i kvalitativnih i/ili kvantitativnih poremećaja obrambenog antioksidativnog sustava. Uloga poremećene ravnoteže između pro- i antioksidativnih čimbenika u razvitku kasnih komplikacija šećerne bolesti predmetom je intenzivnih istraživanja. Međutim, značaj ovog patofiziološkog mehanizma u akutnim komplikacijama šećerne bolesti slabo je rasvijetljen. Dijabetička ketoacidoza je kompleksni metabolički poremećaj čije značajke su apsolutan i/ili relativan manjak inzulina, koji se biokemijski očituje hiperglikemijom, ketozom zbog ubrzane lipolize te acidozom. Navedene biokemijske promjene, kao i energetska neravnoteža koja prati dijabetičku ketoacidozu pogoduju stvaranju toksičnih slobodnih radikala. Cilj ovog istraživanja bio je u praćenju odgovora staničnog i izvanstaničnog antioksidativnog obrambenog sustava na akutni oksidativni stres, i to određivanjem aktivnosti superoksid-dismutaze u eritrocitima i ukupnog antioksidativnog potencijala plazme u bolesnika s dijabetičkom ketoacidozom. Uočena je zanimljiva međuovisna dinamika staničnih i izvanstaničnih komponenti antioksidativnog obrambenog sustava tijekom uspostavljanja metaboličke homeostaze. Polučeni rezultati ukazuju na značajnu ulogu antioksidativnog sustava u svekolikom obrambenom potencijalu protiv akutnog metaboličkog stresa.

HITNA LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA U PRIMARNOJ ZDRAVSTVENOJ ZAŠTITI

B. Krmek-Helfrih, B. Bojčić, Lj. Brijaček, V. Piškur

Medicinsko-biokemijski laboratorij DZ Osijek

Medicinsko-biokemijski laboratorij DZ Osijek pokriva potrebe za laboratorijskom dijagnostikom 150 000 osiguranika i ima organiziran smjenski rad. Opremljen je jednim višekanalnim analizatorom s 8 STAT programa, jednim jednokanalnim analizatorom i dva hemato-loška brojača. Hitna laboratorijska dijagnostika je integralni dio medicinsko-biokemijskog laboratorija, što znači da hitne analize obavljaju isti ljudi, na istim aparatima, u istim prostorima u kojima se obavlja i rutinski rad. Analize čiji se rezultati očekuju hitno, unutar 15 - 20 minuta, ne duže od 1 sata su STAT analize. Često u svakodnevnom radu u primarnoj zdravstvenoj zaštiti (PZZ) zahtjevi za hitnim STAT analizama imaju drugačije značenje. Jedan od načina da se ograniči neopravdanost hitnih zahtjeva je uvođenje jednog prijelaznog stupnja prioriteta - ASAP ("AS SOON AS POSSIBLE"). Napravljen je pregled hitnih zahtjeva upućenih u medicinsko-biokemijski laboratorij u periodu od ožujka do svibnja 1996. godine koji pokazuje:

1. Od ukupnog broja laboratorijskih zahtjeva 11% čine hitni zahtjevi.
2. Najveći broj zahtjeva upućen je u vremenu od 14 do 17 sati (36,6%), što zahtijeva smjenski rad ili pripravnost u laboratoriju PZZ.
3. 66% zahtjeva se odnosi na dječju populaciju.
4. Najčešći hitni zahtjevi u PZZ odnose se na krvnu sliku (43,9%), sedimentaciju eritrocita (15,1%), DKS (21,6%) i analizu urina (14,8%).

Da bi se zadovoljio kriterij vremena u hitnim zahtjevima, sedimentaciju eritrocita trebalo bi zamijeniti određivanjem CRP.

USEFULNESS OF A NEW RAPID BEDSIDE TROPONIN T ASSAY IN PATIENTS WITH CHEST PAIN

M.M. Hirschl

Department of Emergency Medicine, New General Hospital, Vienna, Austria

Objectives: We evaluated the usefulness of a rapid, qualitative, bedside immunoassay, for cardiac-specific troponin T in patients with chest pain.

Background: Cardiac-specific troponin T is a marker for myocardial cell damage. Recently, a rapid qualitative bedside immunoassay for troponin T has been developed. **Methods:** In 116 patients admitted to the hospital with acute chest pain an electrocardiogram was performed and blood samples were drawn to determine CK-MB and troponin T qualitatively and quantitatively. We evaluated the sensitivity and specificity of the rapid troponin T assay for diagnosis of acute myocardial infarction, the likelihood ratios of positive and negative troponin T assay results and a comparison to CK-MB measurements for diagnosis of myocardial infarction.

Results: A concordant result between quantitative troponin T and qualitative troponin T assay was observed in 183 (96%) tests. The sensitivity of the rapid troponin T assay for detecting acute myocardial infarction increased significantly according to the number of hours elapsed after onset of chest pain from 17% for patients presenting within 4 hours to 71% for patients presenting in the time interval greater than 8 hours from onset of chest pain ($p < 0,001$). Specificity ranged from 83% to 93% in the three time intervals evaluated. A concordant result between CK-MB measurement and rapid troponin T assay was observed in 159 (83%) tests. In 14/191 tests a positive rapid troponin T and a negative CK-MB assay was observed, in 9/14 (64%)

cases this result was true positive for rapid troponin T assay and in 5/14 (36%) cases false negative.

Conclusions: As sensitivity and specificity of the rapid troponin T assay are comparable with CK-MB measurements, rapid troponin T is a simple and useful laboratory tool for the bedside triage in patients with chest pain.

R2/2

NOVE SPOZNAJE O DIJAGNOSTICI SRČANOG INFARKTA: TROPONIN T

E. Topić

Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Razlikovanje akutnog srčanog infarkta, angine pectoris i drugih srčanih sindroma povezanih s pridruženom simptomatologijom od bitne je važnosti u strategiji liječenja bolesnika s kardiovaskularnim bolestima. Dosadašnja dijagnostika srčanog infarkta koja prema preporuci Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) uključuje prekardijalnu bol u trajanju najmanje 30 minuta, specifične promjene u EKG te porast katalitičke koncentracije enzima (CK, CK-MB, LDH) s tipičnim promjenama aktivnosti u jedinici vremena, ne prepoznaje oko 4% bolesnika. Činjenica je da čak 30% bolesnika umire prije nego što dođe do bolnice.

Napori uloženi posljednjih godina u traženje pouzdanijih dijagnostičkih mogućnosti doveli su do otkrića novog biološkog pokazatelja srčanog infarkta, troponina T, te do razvoja metoda za njegovo kvalitativno dokazivanje odnosno mjerenja njegove koncentracije u krvi. Troponin T dio je proteinskog kompleksa kontraktilnog aparata u poprečno prugastoj muskulaturi koji je sastavljen od tri podjedinice: troponina T, C i I. Troponin T je najveća molekula ovog kompleksa (37 000 D) i njegova uloga je da veže troponinski lanac tropomiozina kao i da povezuje susjedne tropomiozinske molekule. Većina troponina T (94%) vezana je strukturno u mišićnim stanicama, dok je ostatak slobodan u citoplazmi. Molekula troponina T srčanog mišića razlikuje se u rasporedu određenih aminokiselina od molekule troponina T u skeletnoj muskulaturi. Upravo razlika u rasporedu aminokiselina troponinske molekule omogućila je razvoj imunokemijskih metoda za dokazivanje i mjerenje koncentracije kardiospecifičnog troponina T u serumu, plazmi ili punoj krvi.

Rezultati dosadašnje procjene troponina T pokazali su da troponin T:

1. ima visoku osjetljivost i specifičnost poglavito u bolesnika s pridruženom ozljedom skeletne muskulature,

2. pruža dijagnostičku vrijednost jednaku onoj koja se dobije mjerenjem CK-MB u bolesnika u ranoj fazi srčanog infarkta (unutar prva 24 sata) odnosno veću dijagnostičku vrijednost od vrijednosti CK-MB u bolesnika koji su u bolnicu došli 48 i više sati nakon infarkta,

3. omogućuje dijagnozu srčanog infarkta i nakon 1 - 2 tjedna od početka bolova,

4. omogućuje procjenu rizika za nastanak infarkta u bolesnika s nestabilnom anginom pectoris,

5. neinvazivan je pokazatelj uspjeha trombolitičke terapije i

6. omogućuje procjenu nastanka srčanog infarkta tijekom i nakon učinjenog operativnog zahvata aortokoronarnog premoštenja.

R3/1

LIPID DISORDERS: APO A1/B AND LP(a), SIMPLE ROUTINE METHODS FOR THE MEASUREMENT OF IMPORTANT RISK FACTORS

G. Günther

Apolipoprotein(s) A1 and B have been known for a long time as important factors for the establishment of an individual's atherosclerotic risk. Simple routine methods based on turbidimetric measurements which can be used on routine photometric analysers, are presented and the performance data are discussed.

Lp(a) in contrast to Apo A1 and Apo B has for quite awhile been evaluated with respect to its value for atherosclerotic risk assessment. Only a few years ago these studies showed quite clearly that Lp(a) is an independent risk factor for development of atherosclerotic lesions. Structure and function of Lp(a) are shown and the correlation between genetic variations and the assay response is discussed. The turbidimetric routine method is presented and it is proved that this methodology, though simple is able to produce reliable results.

R4/1

TUMORSKI BILJEZI: PREGLED

I. Čepelak

Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb

U laboratorijskoj dijagnostici malignih tumora značajno mjesto ima određivanje koncentracije tumorskih biljega, odnosno proizvoda tumorskih stanica ili stanica normalnog tkiva, izraženih lokalno (tkivni biljezi) ili akumuliranih u tjelesnim tekućinama (cirkulirajući biljezi), a kao odgovor na prisutnost tumora. Pojavljuju se kao odraz genetskih i/ili biokemijskih promjena povezanih s malignom bolesti.

Niz godina su naponi istraživača i kliničara usmjereni k otkrivanju tzv. "idealnog" tumorskog biljega visoke dijagnostičke osjetljivosti i specifičnosti, odnosno biljega koji će biti koristan za:

- a) dijagnozu primarne bolesti u simptomatskoj populaciji,
- b) prognozi primarne bolesti,
- c) kontroli liječenja primarne bolesti,
- d) ranom otkrivanju relapsa primarne bolesti i poglavito, s obzirom na stalno povećanu incidenciju malignih bolesti
- e) za pretraživanje asimptomatske populacije na primarnu bolest.

Otkrićem i proizvodnjom monoklonskih protutijela načinjen je određen napredak u laboratorijskoj dijagnostici malignih bolesti, jer su otkriveni neki novi tumorski biljezi, a postupci za određivanje od ranije poznatih (CEA, AFP, HCG, ACP i dr.) i novijih (CA 15-3, CA 125, CA 72-4, CA 19-9, CYFRA 21-1, NSE i dr.) tumorskih biljega su unaprijeđeni čime je povećana analitička osjetljivost i specifičnost.

Međutim, većina se zdravstvenih djelatnika unatoč tome danas slaže da se samo nekoliko tumorskih biljega po svojim značajkama približava statusu "idealnog", dok je glavna klinička upotreba ostalih tumorskih biljega u kontroli liječenja primarne bolesti. Upotreba tumorskih biljega u kontroli liječenja, pri tome se osniva na činjenici da koncentracija tumorskog biljega u serumu bolesnika s pozitivnim tumorskim biljekom, predstavlja grubi indeks veličine i/ili aktivnosti malignog tumora. Postoji stoga potreba mjerenja više različitih tumorskih biljega istovremeno, a mišljenja o broju, i o tome koje tumorske biljege koristiti kao primarne, a koje kao sekundarne se razlikuju. Istraživanja se i dalje nastavljaju, a očekuje se da će povećanim razumijevanjem procesa karcinogeneze biti pronađeni i prikladni tumorski biljezi za pojedina maligna oboljenja.

R4/2

IMMUNOCHEMISTRY BY BOEHRINGER MANNHEIM**V. Heriban**

- * basic principles of immunochemical technology from Boehringer Mannheim
- * concept of immunochemical kits
- * main instrumentation for immunochemistry
- * principles of work with ES 300 (machine and the software)

R5

**BIOKEMIJSKI PROBIR SINDROMA DOWN
I OTVORENE MALFORMACIJE ŽIVČANE CIJEVI**

Sindrom Down je najčešći uzrok mentalne retardacije u djece. Učestalost pojave sindroma Down je 1 na 700 novorođene djece. Otvorene malformacije živčane cijevi su među najčešćim kongenitalnim malformacijama čija učestalost je 1 na 400.

Neinvazivno prenatalno probiranje trostrukim testom otkriva trudnoće sa značajnim rizikom sindroma Down ili otvorene malformacije živčane cijevi da bi se na vrijeme ponudio siguran, ali invazivan dijagnostički postupak, citogenetska analiza nakon amniocenteze.

Trostruki test je metoda probiranja fetalnih aneuploida, kod koje se određuju tri hormona u majčinoj cirkulaciji: α -fetoprotein (AFP), nekonjugirani estriol (nE_3) i humani korionski gonadotropin (hCG). Koncentracije tri serumska biljega, starost majke i ultrazvučna procjena gestacije koriste se za izračun vjerojatnosti ugroženosti trudnoće sindromom Down. Trudnice u kojih je izračunata vrijednost veća od vjerojatnosti odabrane kao granična vrijednost svrstavaju se u pozitivne i preporuča im se amniocenteza i citogenetsko ispitivanje.

Koncentracija AFP koristi se u procjeni pojave otvorene malformacije živčane cijevi u trudnoći. Trudnice u kojih je AFP povišen (najmanje dva i pol puta u odnosu na medijan koncentracija u nor-

malnoj trudnoći) smatraju se pozitivnima u probiru te im se također preporuča citogenetska dijagnostika.

Svojstva trostrukog testa su ograničen uspjeh otkrivanja i moguća pojava lažno pozitivnih rezultata. Trostruki test otkriva 75 - 100% trudnoća sa sindromom Down uz incidenciju 21 - 32% lažno pozitivnih rezultata u trudnica starijih od 35 godina. U mlađih žena uspješnost otkrivanja je manja (50 - 60%), ali i broj lažno pozitivnih rezultata (5 - 7%). Trostruki test otkriva 3 od 4 trudnoća s otvorenom spinom bifidom (75%) i gotovo sve trudnoće s anencefalusom.

R5/1

HUMANI KORIONSKI GONADOTROPIN, NEKONJUGIRANI ESTRIOL I α -FETOPROTEIN: BIOKEMIJA I FIZIOLOGIJA

E. Suchanek

Zavod za kliničku biokemiju i biologiju reprodukcije Klinike za ženske bolesti i porode Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Humani korionski gonadotropin je prvi biljeg trudnoće. Njegova građa određuje izbor metode za određivanje s obzirom na osjetljivost i specifičnost. Estriol je estrogen koji prevladava u trudnoći. Nastaje pretvorbom iz dehidroepiandrosteron-sulfata kojemu je izvor u kori nadbubrežne žlezde fetusa. Androgen se aromatizira u posteljici te se kao ukupni ili slobodni estriol određuje u serumu ili urinu majke. Najviša fiziološka koncentracija α -fetoproteina je u trudnoći. Žumanjčana vrećica i fetalna jetra su izvor ovog proteina.

R5/2

BIOCHEMISTRY AND STATISTICS OF TRIPLE TEST. FIRST TRIMESTER DOWN'S SYNDROME BIOCHEMICAL MARKERS

D. Fuller

Johnson & Johnson Clinical Diagnostics

Discussion of the efficacy of age-related risk assessment in comparison with second trimester triple parameter testing. The optimisation of AFP, nE3 and hCG and application of associated software to determine detection and screen positive rates. Assessment of first and second trimester biochemical parameters.

R5/3

NEINVAZIVNO PRENATALNO PROBIRANJE SINDROMA DOWN I OSTALIH FETALNIH ANEUPLOIDIJA TROSTRUKIM TESTOM

K. Huderer-Đurić

Zavod za kliničku biokemiju i biologiju reprodukcije Klinike za ženske bolesti i porode Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

U 986 trudnica starijih od 35 godina izračunat je rizik fetalnih aneuploidija kombinacijom starosti majke, biokemijskih i ultrazvučnih parametara. Neposredno nakon uzimanja krvi u svih ispitanica primjenjena je amniocenteza, a zatim citogenetska analiza na stanicama plodove vode.

Izračunati rizik u sve 4 trudnoće sa sindromom Down bio je manji od 1 : 50. Trostruki test je jednako uspješno otkrio dvije trisomije 13 i 18. U trudnoći s trisomijom 22, izračunati rizik je bio 1 : 222. Udio lažno pozitivnih rezultata za graničnu vrijednost 1 : 400 bio je 50,4%, za vrijednost 1 : 300 44,7%, kod rizika 1 : 200 37,9% i 1 : 100 27,4%.

U prosudbi nužnosti invazivne dijagnostike kod trudnica starijih od 35 godina, rezultate trostrukog testa treba uspoređivati s vjerojatnošću 1 : 100. Tada bi u našem ispitivanju bilo nepotrebno učiniti 708 (71,8%) amniocenteza pri čemu bi svi slučajevi trisomija 21, 18 i 13 bili otkriveni uz prevenciju 3,5 - 7 spontanih pobačaja uzrokovanih zahvatom amniocenteze.

R6/1

PHOTOMETRY: EVALUATION AND APPLICATION IN CLINICAL LABORATORY

K. Ewald

Eppendorf, Netheler, Hinz GmbH

Photometers

Since 1949 photometers developed at Eppendorf have been setting standards in their field. The high degree of accuracy with which spectral line photometers work, the fine reproducibility of their results, plus their easy, uncomplicated operation have all contributed towards the popularity of the photometric measurement principle both in the medical field and in industry for research and routine work.

Flame photometer

The Eppendorf's photometer expertise goes even further. It is possible, using the Eppendorf Flame photometers, to determine the concentration of electrolytes in the blood. The company introduced the first flame photometer in 1955.

With its wide range of photometers, Eppendorf reaffirms its aim: to produce systems which are fully compatible and which complement one another right from easy-to-use, hand-held devices through to fully automatic sample handling and on to complete data processing solutions for the laboratory.

01/P1

AKREDITACIJA MEDICINSKO-BIOKEMIJSKIH LABORATORIJA U HRVATSKOJ: PRIJEDLOG

D. Čvorišćec, A. Stavljenić Rukavina

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

- Svrha:** * Vanjska provjera kojom treba utvrditi pridržava li se medicinsko-biokemijski laboratorij dogovorenih standarda u organizaciji i provođenju poslova medicinsko-laboratorijske dijagnostike
- Tko:** * Akreditacijsko tijelo pri Hrvatskoj komori medicinskih biokemičara
- Vrste:** * Privremena akreditacija (12 mjeseci)
* Puna akreditacija (4 godine)
* Uvjetna akreditacija (12 mjeseci)
- Sadržaj:** * Pravilnik o kvalitativnim sustavima i dobroj laboratorijskoj praksi u medicinsko-biokemijskim laboratorijima
* Pravilnik o sadržaju, rokovima i postupku stručnog usavršavanja i provjere stručnosti medicinskih biokemičara
* Pravilnik o kategorizaciji medicinsko-biokemijskih laboratorija
* Pravila dobre laboratorijske prakse u liječničkoj ordinaciji, dislociranom laboratoriju i uz bolesnički krevet
* Preporučene i alternativne metode u medicinskoj biokemiji, hematologiji, koagulaciji i laboratorijskoj imunologiji
- Zašto:** * Dobivanje službene potvrde o osposobljenosti medicinsko-biokemijskog laboratorija za rad.

01/P2

ANALITIČKA PROCJENA ANALIZATORA DIMENSION AR

I. Alpeza, V. Rumenjak, D. Rogić

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Cilj rada bio je analitička procjena analizatora Dimension AR (DuPont Medical Products). Dimension AR je diskretni višekanalni biokemijski analizator kapaciteta do 300 spektrofotometrijskih i 200 potencijometrijskih (ISE) određivanja na sat. Procjena analizatora provedena je u skladu s propisima i standardima Europskog savjeta za kliničko-laboratorijske standarde (ECCLS). Ispitane su sljedeće analize: glukoza, amilaza, aminotransferaze, kreatin-kinaza, laktat-dehidrogenaza, ukupni bilirubin, ukupni proteini, albumin i kreatinin te natrij, kalij i kloridi. Ispitana je preciznost unutar dana, preciznost iz dana u dan, *carryover* uzorka i reagensa, korelacija s analizatorima Olympus AU 800 i Kodak Ektachem 500 te utjecaj hiperbilirubinemije, lipemije i hemolize. Dobiveni su sljedeći rezultati: nepreciznost unutar dana iznosila je od 0,3% za natrij i kloride u području visokih vrijednosti do 5,4% za ALT u području niskih vrijednosti; nepreciznost iz dana u dan iznosila je od 0,4% do 6,2%; koeficijenti korelacije dobiveni usporedbom s analizatorima Olympus AU 800 i Kodak Ektachem 500 bili su prihvatljivi za sve analize osim amilaze.

01/P3

PROCJENA OLYMPUS REAGENSA ZA ODREĐIVANJE LIPAZE

A. Bilić, D. Rogić, M. Lovrić, D. Čvorišćec

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Olympus AU 800 je otvoreni, diskretni i selektivni automatski analizator, s mogućnošću istovremenog rada 35 analiza (uključujući ISE). Analizator ima mogućnost analize rutinskih, hitnih (dva kriterija hitnosti) i kontrolnih uzoraka s prosječno 1 200 analiza na sat. Cilj rada bila je primjena i procjena reagensa za određivanje lipaze u serumu tvrtke Olympus. Zbog važnosti određivanja lipaze u dijagnostici bolesti pankreasa, uvedena je kolorimetrijska metoda s 1,2-di-

gliceridom kao supstratom. Lipaza iz seruma hidrolizira 1,2-diglicerid, a mjeri se apsorpcija obojenog proizvoda, kinondiimina, na 540 nm. Kalibracija se provodi priloženim kalibratorom koncentracije 245 U/L, a linearnost metode je do 600 U/L. Nepreciznost unutar i između dana je ispitana korištenjem komercijalnog kontrolnog seruma (koeficijent varijacije unutar i između dana manji od 5%). Usporedba s turbidimetrijskom metodom provedena je na 50 uzoraka. Rezultati su statistički obrađeni metodom po Passingu i Bablocku. Dobivena jednadžba pravca regresije je: $y = 4,28x + 17$, a koeficijent korelacije $r = 0,9996$. Dobiveni rezultati su pokazali da je kolorimetrijska metoda određivanja lipaze u serumu pouzdana, brza i po svim osobinama prihvatljiva za svakodnevni rad.

01/P4

PROCJENA APARATA OLYMPUS AU 560

G. Predovan, N. Baljak, J. Kronja-Negro

Služba za laboratorijsku dijagnostiku Opće bolnice Zadar

Cilj ispitivanja: procjena aparata Olympus AU 560.

Materijal i metode: a) netočnost i nepreciznost (2 kontrolna seruma i 1 *pool* serum analizirani su desetput dnevno tijekom 3 dana, a potom svaki dan tijekom 3 tjedna); b) *carry-over*: pripremljen je *pool* serum s visokim i niskim vrijednostima glukoze, urata, kreatinina, AST i ALT te analiziran niz od po tri uzorka (visoki, niski, visoki, niski...); c) linearnost: od *pool* seruma s visokim vrijednostima navedenih analita napravljeno je 5 razrijeđenja; d) interferencije - utjecaj hemolize, lipemije i bilirubina: pripremljeni su *pool* serumski od hemoliziranih, lipemičnih i ikteričnih seruma; svi su analizirani, uključujući i normalne, na aparatima Olympus AU 560, Astra-8 i RA-XT; e) usporedba s drugim aparatima (Astra-8, RA-XT).

Rezultati: iz dobivenih rezultata vidljiva je visoka reproducibilnost aparata Olympus AU 560 te dobra usporedivost referentnih vrijednosti kod većine metoda.

Zaključak: treba riješiti problem interferencija i izuzetno je važna kvaliteta vode.

01/P5

ANALITIČKA KVALITETA I KLINIČKA VALJANOST ODREĐIVANJA C-REAKTIVNOG PROTEINA

A.M. Ivanišević, N. Vrkić, A. Zubčić, E. Topić

Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

C-reaktivni protein (CRP) je protein akutne faze čije određivanje se drži svrsishodnim i u bolesnika s reumatskim oboljenjima. Cilj ovoga rada bila je procjena korisnosti određivanja CRP u različitim reumatskih oboljenja sa stajališta analitičke kvalitete i kliničke valjanosti. Koncentracija CRP mjerena je imunoturbidimetrijskom metodom s reagensom CRP-UNIMAT 3 tvrtke Hoffman La Roche na automatskom analizatoru Cobas Myra Plus (Hoffman La Roche) u uzorcima seruma 69 reumatskih bolesnika i 30 zdravih ispitanika. Bolesnici su bili podijeljeni u tri skupine: skupina A je sadržavala 10 bolesnika oboljelih od psorijatičnog artritisa, skupina B 25 bolesnika oboljelih od reumatoidnog artritisa i skupina C 34 bolesnika oboljela od ostalih reumatskih bolesti. Analitička kvaliteta utvrđena je određivanjem nepreciznosti (u seriji i između serija), netočnosti (usporedbom s drugom metodom te s kontrolnim serumom) te linearnosti metode. Klinička valjanost je utvrđena testiranjem specifičnosti, osjetljivosti, prediktivne vrijednosti i efikasnosti testa. Vrijednost testa za razlikovanje zdrave populacije od one s raznim reumatskim oboljenjima procijenjena je statističkom analizom, tzv. ROC krivuljom. Rezultati su pokazali sljedeće: nepreciznost u seriji iznosila je 3,18%, između serija 4,09%, a netočnost prema kontrolnom serumu 0,71%. Usporedba s reagensom tvrtke Human izražena je jednadžbom linearne regresije: $y = 1,017x - 1,704$ i pripadajućim koeficijentom korelacije $r = 0,9952$. Metoda je linearna do 160 mg/L. Kliničko ispitivanje na odlučujućoj razini od 5 mg/L (gornja granica referentnog područja) pokazalo je osjetljivost od 72%, specifičnost od 71%, najvišu prediktivnu vrijednost pozitivnog testa 67% te negativnog testa preko 80%. Najveća efikasnost testa jest preko 70%. ROC krivulje su pokazale da određivanje CRP ima dostatnu mogućnost za razlikovanje različitih reumatskih oboljenja. Površina krivulje za skupinu A bila je 0,67, za skupinu B 0,74 i za skupinu C 0,43. Preliminarni rezultati su pokazali da mjerenje CRP imunoturbidimetrijskom metodom ima dobru analitičku kvalitetu te da može zadovoljiti i kliničke zahtjeve u praćenju reumatskih oboljenja.

01/P6

VRIJEDNOSTI PROTEINA C, PROTEINA S, AKTIVIRANOG PROTEINA C I OSJETLJIVOSTI AKTIVIRANOG PROTEINA C U OVISNOSTI O SPOLU, DOBI I KRVNIM GRUPAMA

L. Honović¹, R. Zadro², A. Stavljenić Rukavina²

¹ Medicinsko-biokemijski laboratorij Opće bolnice Pula, ² Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

U procesu zgrušavanja krvi uz koagulacijske čimbenike jednako važnu ulogu imaju i čimbenici koji na različite načine sprečavaju pojavu zgrušavanja krvi. Među takve čimbenike spadaju protein C (PC), protein S (PS) te nedavno otkrivena osjetljivost aktiviranog proteina C (oAPC). Nasljedni ili stečeni nedostaci PC i PS udruženi su s povećenom predispozicijom nastanka tromboembolijskih bolesti. Osobitu predispoziciju posjeduju osobe starije od 50 godina, one s oštećenom funkcijom jetre te osobe koje duže vrijeme primjenjuju oralnu antikoagulantnu terapiju ili oralne kontraceptive. Mjerenjem vrijednosti PC, PS, APC i oAPC u skupini zdravih dobrovoljnih davatelja krvi (65 muškaraca i 35 žena), nastojalo se odrediti vrijednosti spomenutih parametara u ovisnosti o spolu, dobi te krvnim grupama. Ispitanici su podijeljeni u pet skupina prema dobi i osam skupina prema pripadnosti krvnoj grupi. Vrijednosti dobivene mjerenjem spomenutih parametara bile su u području referentnih vrijednosti proizvođača reagensa, ali općenito su niže u žena nego u muškaraca. Izuzetak predstavljaju vrijednosti PC i PS u skupinama ispitanika iznad 50 godina starosti kod kojih su vrijednosti mjerenih parametara više u žena nego u muškaraca. Praćenje ovisnosti mjerenih vrijednosti o krvnim grupama pokazalo je sljedeće rezultate: najviše vrijednosti PS, PC i APC nađene su u A- krvnoj grupi, najniže vrijednosti PS i PC u A+ krvnoj grupi, a najniže vrijednosti APC u AB+ krvnoj grupi. Rezultati ispitivanja pokazuju ovisnost PS, PC, APC i oAPC o spolu, dobi i krvnim grupama što je od značaja u tumačenju nastanka tromboembolijskih bolesti. Promjene vrijednosti praćenih parametara kod žena u odnosu na muškarce u skupinama iznad 50 godina mogu se protumačiti kao posljedica promijenjenog hormonskog statusa. Stoga se ukazuje potreba da svaki laboratorij utvrdi svoje referentne vrijednosti za muškarce i žene u toj životnoj dobi.

01/P7

ISPITIVANJE DIALAB REAGENSA ZA ODREĐIVANJE PROTROMBINSKOG I AKTIVIRANOG PARCIJALNOG TROMBOPLASTINSKOG VREMENA

L. Honović¹, L. Bilić-Zulle², V. Brkljačić³, R. Zadro³, A. Stavljenić Rukavina³

¹ Medicinsko-biokemijski laboratorij Opće bolnice Pula, ² Zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Rijeka, ³ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Ispitivanjem reagensa tvrtke Dialab za određivanje protrombinskog vremena (PV) i aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena (APTV), nastojalo se utvrditi jesu li navedeni reagensi usporedivi s reagensima koji se koriste u dnevnom radu Zavoda za hematologiju i koagulaciju KZLD KBC Zagreb. Ispitivanjem je obuhvaćeno određivanje nepreciznosti unutar dana i iz dana u dan te netočnosti s kontrolnom plazmom i usporedbom s reagensima tvrtke Ortho. Nepreciznost unutar dana određena je višekratnim (30x) mjerenjem uzoraka komercijalne referentne plazme, a iz dana u dan mjerenjem uzoraka kontrolnih plazmi s deklariranim vrijednostima u normalnom i patološkom području ispitivanih parametara. Ispitivanje netočnosti s kontrolnim plazmama provedeno je tijekom 10 dana. Usporedna mjerenja provedena su na 30 uzoraka plazme bolesnika, a rezultati su obrađeni metodom po Passingu i Bablocku. Dobiveni rezultati pokazali su vrlo nizak koeficijent varijacije za nepreciznost unutar dana ($KV_{PV[\%]} = 4,22\%$, $KV_{PV[INR]} = 3,45\%$ i $KV_{APTV} = 1,08\%$) te nepreciznost iz dana u dan ($KV_{PV[\%]} za patološke vrijednosti = 2,52\%$ i $KV_{PV[\%]} za normalne vrijednosti = 1,28\%$, $KV_{PV[INR]} za patološke vrijednosti = 5,29\%$ i $KV_{PV[INR]} za normalne vrijednosti = 4,57\%$ te $KV_{APTV} za patološke vrijednosti = 1,55\%$ i $KV_{APTV} za normalne vrijednosti = 2,44\%$). Podudarnost rezultata dobivenih uporabom reagenasa tvrtki Dialab i Ortho izražena je koeficijentom korelacije ($r_{PV[\%]} = 0,991$, $r_{PV[INR]} = 0,994$, $r_{APTV} = 0,979$). Visoki stupanj točnosti potvrđen je primjenom kontrolnih plazmi s deklariranim vrijednostima, a utvrđeni bias bio je u granicama dozvoljenih odstupanja (za PV od 4,67 do 6,91% i za APTV od 4,11 do 6,55%). Visoka reproducibilnost rezultata, stupanj točnosti i podudarnost s drugim reagensima čine Dialab reagense za određivanje PV i APTV prihvatljivim za svakodnevni rad u koagulacijskom laboratoriju.

01/P8

UTJECAJ KONCENTRACIJE KALCIJA U OTOPINAMA ZA DIJALIZU NA KONCENTRACIJE UKUPNOG KALCIJA, FOSFORA I PARATHORMONA U SERUMU

S. Šimek, M. Pauro, M. Pirija, J. Bangov

Opća bolnica Pula

Cilj rada bio je utvrditi hoće li smanjenjem koncentracije kalcija (Ca) u otopinama za dijalizu doći do pada koncentracije Ca u serumu te hoće li pri tome biti ublaženi simptomi koji su posljedica hiperkalcemije. Ispitivanje je izvršeno kod 11 bolesnika na hemodijalizi (HD) kod kojih je izražena hiperkalcemija ($x = 3,23 \pm 0,80$ mmol/L). Oni su bili dijalizirani uz upotrebu otopina sa standardnom koncentracijom Ca (1,875 mmol/L). Odredili smo koncentracije ukupnog Ca, fosfora (P) i intaktnog parathormona (PTH) prije i nakon četverosatne dijalize. Zatim su bolesnici u razdoblju od tri mjeseca bili na HD s otopinom s nižom koncentracijom Ca (1,50 mmol/L). Nakon toga ponovili smo ista određivanja. Ukupni Ca i P određivani su kolorimetrijski (o-krezol-ftalein i molibdat), a PTH imunoradiometrijski. Uporedili smo dobivene vrijednosti prije i nakon HD s obje otopine. Nađen je statistički značajan pad u koncentraciji Ca ($t = 2,23$, $p < 0,05$). Nije nađena značajna promjena u koncentraciji P, dok su vrijednosti intaktnog PTH porasle kod svih bolesnika (prosječno 51%), osobito kod onih s već izraženim hiperparatireoidizmom. Upotreba otopina za dijalizu s koncentracijom Ca od 1,50 mmol/L osigurava niže koncentracije Ca u serumu što dovodi do poboljšanja kvalitete života bolesnika. Međutim, postoji opasnost da se u dužem razdoblju pojačaju neželjene posljedice sekundarnog hiperparatireoidizma.

01/P9

KREATININ KLIRENS: ENZIMSKA METODA U ODNOSU NA JAFFEOVU METODU ODREĐIVANJA KONCENTRACIJE KREATININA U SERUMU I DNEVNOM URINU

V. Šerić, Z. Venžera, S. Mendler, D. Kozmar

Odjel za medicinsku biokemiju KB Osijek

Određivali smo koncentraciju kreatinina u serumu i dnevnom urinu kod zdravih osoba ($n = 25$) i bubrežnih bolesnika ($n = 38$) s dvije metode: enzimskom metodom (Boehringer Mannheim amidohidrolaza) na Hitachi 704 i Jaffeovom metodom na Beckman Astra 8. Iz dobivenih vrijednosti kreatinina izračunat je klirens endogenog kreatinina koji je standardiziran na površinu tijela. U obje promatrane skupine kreatinin je bio značajno snižen ($p < 0,05$), tj. niži za 20 do 25 $\mu\text{mol/L}$ kada je koncentracija određivana enzimskom metodom u odnosu na Jaffeovu metodu. Klirens kreatinina bio je značajno viši ($p < 0,05$), za najmanje 0,5 ml/s, kada je izračunat iz vrijednosti kreatinina dobivenih enzimskom metodom u odnosu na Jaffeovu metodu. Prednost određivanja kreatinina enzimskom metodom u odnosu na Jaffeovu metodu je manji broj interferirajućih tvari, zbog čega klirens kreatinina izračunat iz vrijednosti kreatinina dobivenih enzimskom metodom predstavlja osjetljiviji parametar u odnosu na klirens kreatinina izračunat iz vrijednosti kreatinina dobivenih Jaffeovom metodom.

01/P10

PLASMA VISCOSITY AND FIBRINOGEN IN HYPERTENSIVE ELDERLY PATIENTS

A. Pop Stefanova¹, M. Adžić², M. Pajkouska²

¹ Institute of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, ² Institute of Gerontology "13 Noemvri" ; Skopje, Macedonia

The ratio among the blood pressure, plasma fibrinogen concentration and plasma viscosity has been analyzed. The patients examined were above 75-years of age, having a clinical verification of hypertension. They were hospitalized in the Geriatric Institute in Skopje. The rheologic parameters were analyzed in a group of patients ($n =$

30) with an age limit of 75 - 99 years, $x = 79,3 \pm 9,38$, and the blood pressure was regulated by hypertensive therapy. Plasma fibrinogen concentration was measured by thrombine method of Clauss, albumin concentration by BCG, and plasma viscosity was determined by plasma viscosimeter of the Frezenius firm. The results obtained were confronted by a reference group ($n = 25$) whose blood pressure ranged within normal limits. In the moment of blood sampling for biochemical analyses, the cases examined showed blood pressure ranging from 120/70 to 180/100 mmHg ($x = 144,78/78,42 \pm 36,27/20,8$). Elevated blood pressure had 52,1% of the group. Plasma viscosity values ranges from 1,08 - 2,29 mPas ($x = 1,30 \pm 0,23$) and those values compared as to the reference group ($x = 1,22 \pm 0,05$) showed in 54% higher values, while in 62,5% plasma fibrinogen had pathological values from 2,51 - 6,6 g/L ($x = 4,33 \pm 1,0$). There are data in literature speaking about some plasma metabolites which are decreasing with the age such as albumin, while the plasma fibrinogen concentration is increasing. The interpretation of the biochemical analyses in elderly patients should be done individually depending on their clinical picture.

01/P11

OSIGURANJE I KONTROLA KVALITETE ZA HPLC ANALIZE

I. Tramišak, F. Plavšić

Centar za biomedicinska istraživanja KBC Zagreb

Osiguranje kvalitete se bavi procjenom svih analitičkih postupaka (od skupljanja uzoraka do interpretacije rezultata). Kontrola kvalitete (QC) je dio osiguranja kvalitete (QA). Zadatak kontrole kvalitete je potvrda da analitički rezultati - nalazi izdani u nekom laboratoriju udovoljavaju specifičnim zahtjevima ili potrebama korisnika. U ovom radu prikazana je jedna od metoda kontrole kvalitete koja ispunjava i dokumentira zahtjeve za pouzdanom, točnom i preciznom HPLC analizom. To uključuje validaciju koja pokazuje da metoda u načelu udovoljava zahtjevima, testiranje aparata koje pokazuje da aparat radi ispravno i precizno te "test podesnosti sustava" koji pokazuje da su rezultati dobiveni tom metodom i na tom aparatu, koristeći određenu kolonu za zadanu analizu točni i precizni, ako se isključe sve pogreške koje se ne odnose na opremu ili metodu.

01/P12

**UNUTARNJA PROVJERA KVALITETE U KLINIČKOM
MEDICINSKOM BIOKEMIJSKOM LABORATORIJU****B. Užarević, D. Čvorišćec, A. Stavljenić Rukavina**

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Jedan od zahtjeva sustava osiguranja kvalitete prema ISO 9001 i 9004 je provođenje unutarnje provjere kvalitete (engl. internal audit). Po definiciji ISO 8402, to je sustavno i neovisno ispitivanje kojim treba utvrditi odgovaraju li aktivnosti koje se odnose na kvalitetu i s njima povezani rezultati planiranim zadacima, mogu li se učinkovito ostvariti i jesu li podobni za postizanje kvalitete. Prvenstveni cilj unutarnje provjere kvalitete je provjera djelotvornosti sustava kvalitete i njegovo unapređenje ili priprema za certifikaciju. Zahtjevi koje unutarnja provjera kvalitete mora zadovoljiti su sljedeći: unutarnju provjeru kvalitete provodi osoblje neovisno od onoga koje ima izravnu odgovornost za aktivnosti koje se prosuđuju; rezultati unutarnje provjere kvalitete moraju se zapisati i dati osoblju odgovornom za područje prosudbe, koje mora pravodobno poduzeti mjere popravka; radnje koje slijede nakon unutarnje provjere kvalitete moraju se potvrditi i zapisati učinkovitost poduzetih mjera popravka. U osiguranju sustava unutarnje provjere kvalitete sudjeluje tim za kvalitetu (QT) koji se sastoji od predstavnika posloводства za kvalitetu, stručnjaka za osiguranje kvalitete i unutarnjih kontrolora kvalitete. Prikazan je način provođenja unutarnje provjere kvalitete u KZLD Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb.

01/P13

**PROCJENA OLYMPUS REAGENSA
ZA ODREĐIVANJE IMUNOGLOBULINA****D. Rogić, N. Vrkić, M. Lourić, A. Bilić, D. Čvorišćec**

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Olympus AU 800 je otvoreni, diskretni i selektivni automatski analizator čije analitičke mogućnosti obuhvaćaju spektrofotometriju, turbidimetriju, lateks-aglutinaciju i homogenu EIA. Svrha ovog rada bila je primjena i procjena reagensa za određivanje koncentracije

imunoglobulina u serumu (imunoturbidimetrijska metoda završne točke) tvrtke Olympus. Određivanje nepreciznosti unutar i između dana, provedeno korištenjem komercijalnih kontrolnih seruma, pokazalo je da se metoda odlikuje niskom nepreciznošću (koeficijent varijacije unutar i između dana manji od 5% za sva tri imunoglobulina). Usporedba s imunonefelometrijskom metodom (Behring) provedena je s ukupno 103 uzorka, a rezultati statistički obrađeni metodom po Passingu i Bablocku. Dobivene jednadžbe pravca regresije i koeficijenti korelacije su:

$$\text{IgG}_{\text{Olympus}} = 1,079 \text{ IgG}_{\text{Behring}} - 0,089 \quad r = 0,983$$

$$\text{IgA}_{\text{Olympus}} = 1,056 \text{ IgA}_{\text{Behring}} - 0,092 \quad r = 0,990$$

$$\text{IgM}_{\text{Olympus}} = 0,753 \text{ IgM}_{\text{Behring}} + 0,115 \quad r = 0,972$$

Netočnost je ispitana dodavanjem standardnih otopina imunoglobulina pripravcima *pool* seruma, a rezultati pokazuju kako su odstupanja od očekivane vrijednosti unutar prihvatljivih granica (95 - 103%). Usporedba uzoraka koji sadrže monoklonske imunoglobuline ukazuje na nužnost primjene uvijek iste metode pri longitudinalnom praćenju bolesnika. S obzirom na dobivene rezultate, smatramo da imunoturbidimetrijska metoda određivanja imunoglobulina zadovoljava sve kriterije prihvatljivosti za svakodnevni rad.

01/P14

REFERENTNE VRIJEDNOSTI β_2 -MIKROGLOBULINA U SLINI DJEČE

M. Pop Stefanova-Trposka¹, A. Pop Stefanova²

¹ Klinika za ortodonciju Stomatološkog fakulteta; ² Institut kliničke biokemije Medicinskog fakulteta; Skopje, Makedonija

Cilj našeg ispitivanja bio je odrediti referentne vrijednosti β_2 -mikroglobulina u slini djece zbog primjene u dijagnostici upalnih stanja gingive kod djece s ortodontskim napravama. Ispitivano je 50 zdrave djece u dobi od 8 do 14 godina s Klinike za ortodonciju na Stomatološkom fakultetu u Skopju. Uzorci sline su uzimani ujutro, prije ortodontskog tretmana, bez stimuliranja lučenja. Isti su odmah analizirani na Institutu kliničke biokemije Medicinskog fakulteta u Skopju. Uzorci sline centrifugirani su u specijalnim "Salivette" epru-

vetama te koncentracije β_2 -mikroglobulina određene metodom ELISA. Srednja vrijednost koncentracije β_2 -mikroglobulina u slini zdrave djece iznosila je 1,350 mg/L.

01/P15

REZULTATI VANJSKE KONTROLE KVALITETE RADA KOAGULACIJSKIH PRETRAGA U HRVATSKOJ

G. Parag, D. Juretić¹

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur", ¹ Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta; Zagreb

Pod pokroviteljstvom Hrvatskog društva medicinskih biokemičara u međulaboratorijski stručni nadzor od 1994. godine uključeni su i koagulacijski parametri: protrombinsko vrijeme (PV) i fibrinogen. Registrirana su 103 laboratorija. Za određivanje PV i fibrinogena koristi se automatska tehnika u 51. laboratoriju i manualna u 52 laboratorija. Za određivanje fibrinogena radi se Claussova metoda u 98% laboratorija. Kao reagens za PV koriste se tromboplastini različitih proizvođača (Behring 23%, Organon 23%, BioMerieux 17%, Imunološki zavod 17%, Boehringer 10%). Rezultate PV svaki je laboratorij izrazio u sekundama, kao postotak aktivnosti, kao omjer protrombinskog vremena (PR) i kao Internacionalni normalizirani omjer (INR). Za izračunavanje PR obuhvaćeni laboratoriji koriste standardnu liofiliziranu komercijalnu plazmu (37%) i vrijednost aritmetičke sredine 20 svježih normalnih plazmi (38%). Rezultati PV izraženi kao INR pokazuju visoki interlaboratorijski koeficijent varijacije (KV = 18,5%) zbog korištenja tromboplastina različite osjetljivosti (ISI = 1,0 - 2,4). Korištenjem tromboplastina visoke osjetljivosti (ISI = 1,0 - 1,2) dobiveni su odlični rezultati za INR i niži interlaboratorijski koeficijent varijacije (KV = 7%).

01/P16

PROCJENA DUGOTRAJNE PRECIZNOSTI U MJERENJU KONCENTRACIJE SPECIFIČNIH PROTEINA

Z. Drezga, E. Topić, A. Zubčić

Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice, Zagreb

Određivanje dugotrajne preciznosti u sklopu svakodnevnih pretraga je važan pokazatelj kontrole kvalitete rada kliničko-biokemijskog laboratorija. Između mnogih raspoloživih komercijalnih uzoraka, tek nekoliko obuhvaća kontrolu specifičnih proteina, među kojima je i Serodos (Human). Cilj ovog rada bio je da se pomoću kontrolnog seruma Serodos provjeri unutarnja kontrola kvalitete mjerenja specifičnih proteina. Uz svakodnevnu seriju mjerenja koncentracije specifičnih proteina u serumu mjerena je njihova koncentracija i u kontrolnom serumu Serodos. Ispitana je netočnost metode usporedbom deklariranih vrijednosti i izmjerenih vrijednosti (R%) te nepreciznost iz dana u dan IgG, IgM, IgA, haptoglobina, α_1 -antitripsina, ApoA, ApoB, transferina i albumina. Nepreciznost iz dana u dan određivana je za imunoglobuline tijekom 73 dana, za haptoglobin i α_1 -antitripsin tijekom 62 dana, a za apoproteine, transferin i albumin tijekom 20 dana. Koncentracija imunoglobulina mjerena je metodom elektroimunoprecipitacije, haptoglobin, α_1 -antitripsin i transferin metodom radijalne imunodifuzije, dok su ApoA, ApoB i albumin određivani imunoturbidimetrijskom metodom. Rezultati netočnosti mjerenja IgG, IgM, IgA, haptoglobina, α_1 -antitripsina, ApoA, ApoB, transferina i albumina u kontrolnom serumu su sljedeći: 3,6%; 8,4%; 3,4%; 22%; 2,4%; 0,6%; 1,7%; 2,8% i 0,2%. Visoki postotak odstupanja (22%) nađen je jedino pri određivanju koncentracije haptoglobina. Koeficijent varijacije kao mjera nepreciznosti iznosio je od 1,2% do 9,1%. Najniži koeficijent varijacije nađen je kod albumina (CV = 1,2%; srednja vrijednost = 44 g/L), a najviši kod transferina (CV = 9,1%; srednja vrijednost 3 148 mg/L). Navedeni rezultati pokazuju da je kontrolni serum Serodos pogodan za unutarnju kontrolu kvalitete u svakodnevnom radu kod svih ispitivanih parametara, osim haptoglobina ako se određivanje provodi radijalnom imunodifuzijom.

01/P17

PREGLED REZULTATA VANJSKE KONTROLE HEMATOLOŠKIH PRETRAGA U RAZDOBLJU OD 1989. DO 1996. GODINE

A. Nazor, D. Juretić¹

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur", ¹ Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta; Zagreb

Komisija za vanjsku kontrolu kvalitete Hrvatskog društva medicinskih biokemičara od 1989. godine (s prekidom 1991. - 1992.) triput godišnje provodi kontrolu sljedećih hematoloških pretraga: broja leukocita, eritrocita, hemoglobina i hematokrita iz kontrolnog stabilnog uzorka krvi; retikulocita iz vitalno obojenih preparata briljant-krezil-modrilom i diferencijalne krvne slike uz morfologiju stanica krvi iz razmaza obojenih May-Grünwald-Giemsa metodom. U svakoj kontroli šalju se uzorci u 153 laboratorija. U pregledu rezultata prikazat će se za svaku pojedinu kontrolu: udio laboratorija koji je sudjelovao u kontroli; izjava laboratorija o kvaliteti poslanih uzoraka, što se odnosi na preparate retikulocita i preparate krvi i postotak dobrih, zadovoljavajućih i nezadovoljavajućih rezultata. Može se zaključiti da je s obzirom na dosadašnje dobrovoljno sudjelovanje u kontroli, odaziv laboratorija dobar (80 - 90%). Utisak je, da izjava laboratorija o kvaliteti preparata dijelom ovisi o tehničkoj izvedbi preparata, a dijelom i o problemu - patologiji koja je obuhvaćena određenom kontrolom. Najznačajniji dio, a to je broj nezadovoljavajućih rezultata, također se može dovesti u vezu s problemom, odnosno patologijom pojedine kontrole, a dijelom sigurno ovisi o opremi pojedinog laboratorija. Bilo bi idealno kada bi se postigla prava svrha ove kontrole, a to je da svaki laboratorij, koji nije zadovoljio, sam potraži bilo stručnu bilo tehničku pomoć. Tada bi slijedeće kontrole trebale pokazati bitno poboljšanje rezultata.

03/P1

LECITIN-KOLESTEROL-ACIL-TRANSFERAZA U ŽENA NA NADOMJESTNOJ ESTROGEN-PROGESTAGENSKOJ TERAPIJI U POSTMENOPAUIZI

N. Šolajić-Božičević¹, M. Čubrilo-Turek², B. Salzer, A. Stavljenić
Rukavina³

¹ Zavod za kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta, ² Klinika za unutrašnje bolesti Opće bolnice "Sveti duh", ³ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb; Zagreb

Poznato je da se smrtnost od kardiovaskularne bolesti srca (KB) u žena približava onoj u muškaraca tek nakon menopauze. Ovaj nalaz se često tumači kao posljedica više koncentracije HDL, a niže LDL lipoproteina u plazmi i nižim indeksom ateroskleroze u žena generativne dobi pod utjecajem estrogena. Hormonska nadomjestna terapija u postmenopauzi mogla bi stoga imati pozitivan učinak na smanjenje rizičnih lipoproteina u plazmi i time posredno utjecati na razvoj KB. Lecitin-kolesterol-acil-transferaza (LCAT) je ključni enzim u procesu esterifikacije kolesterola i time u metabolizmu lipoproteina, osobito HDL, čiji je glavni apolipoprotein ApoI ujedno koenzim ovom enzimu. Svrha ovog rada bila je da se ispita djeluje li nadomjestna terapija estrogen-progestagenskim preparatima na aktivnost LCAT, koncentraciju HDL kolesterola i omjer HDL i LDL kolesterola. Obrađena je 81. žena u postmenopauzi koje su prosječno 18 mjeseci uzimale 17-estradiol, estriol i noretisteron-acetat peroralno te isti broj žena kontrolne skupine iste dobi koje nisu ni u kom obliku uzimale hormonsku nadomjestnu terapiju nakon menopauze. U obje je skupine određena koncentracija lipida (ukupni kolesterol, HDL i LDL kolesterol, triacilglicerol) i apolipoproteina ApoI, ApoII i ApoB preporučenim metodama. Aktivnost LCAT određena je neizravno mjerenjem omjera esterifikacije kolesterola. Pokazalo se da je u skupini žena na nadomjestnoj hormonskoj terapiji aktivnost LCAT značajno viša od one izmjerene u kontrolnoj skupini te da taj nalaz prati viša koncentracija HDL kolesterola, a niža LDL kolesterola. Nasuprot tome koncentracija triacilglicerola je viša, ali ne značajno, u žena pod hormonskom terapijom nego li u kontrolnoj skupini. Lipoproteinski indeksi: ukupni kolesterol/HDL kolesterol i LDL kolesterol/HDL kolesterol su značajno niži u žena na nadomjestnoj terapiji u usporedbi s kontrolnom skupinom. Koncentracije apolipoproteina i Lp(a) nisu se razlikovale u ove dvije skupine. Preliminarna analiza rezultata ispitivanja ukazuje na povoljan učinak nadomjestne hormonske terapije na sastav lipoproteina i veličinu esterifikacije kolesterola te mogući protektivni učinak na razvoj KB.

03/P2

NOVE MOGUĆNOSTI MJERENJA VRLO NISKIH KONCENTRACIJA 17 β -ESTRADIOLA U PLAZMI

D. Tišlarić, M. Kadrnka-Lourenčić¹, G. Stipančić¹

Endokrinološki laboratorij i ¹ Klinika za pedijatriju KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Razvojem i usavršavanjem radioimunoloških testova nastoje se njihove metodološke karakteristike, točnije razina osjetljivosti, prilagoditi specifičnim potrebama u kliničkoj procjeni dobivenih rezultata. Od osobite je važnosti mogućnost točnog i preciznog mjerenja 17 β -estradiola (E2) u području izrazito niskih koncentracija kakve nalazimo u djevojčica u predpubertetskom razdoblju, odnosno bolestima i poremećajima koje prati i hipoestrogenizam kao jedan od pokazatelja. Dosadašnji testovi pokazuju nedovoljnu preciznost upravo u takvim okolnostima. U našem radu primijenili smo radioimunološku metodu čija je razina osjetljivosti 10 pmol/L, dakle omogućeno je precizno mjerenje koncentracije E2 u plazmi kojoj dosadašnji testovi nisu bili prilagođeni. Ispitivanjem je obuhvaćeno 30 djevojčica s različitim dijagnozama: pubertas praecox, anorexia nervosa, Turnerov sindrom, kao i ispitanice kojima je tijekom primjene terapije praćenje koncentracije E2 neophodno kao pokazatelj uspješnosti liječenja. Sve su ispitanice podvrgnute 2-satnom GnRH-testu, tijekom kojeg je praćena koncentracija gonadotropina u plazmi, kao i koncentracija bazalnog, odnosno estradiola u cirkulaciji nakon završenog testa.

03/P3

5 α -ANDROSTAN-3 α ,17 β -DIOL KAO MOGUĆI BILJEG PREKOMJERNE PROIZVODNJE ANDROGENIH HORMONA U ŽENA

D. Tišlarić, M. Alač¹, M. Petek

Endokrinološki laboratorij KB "Sestre milosrdnice", ¹ KB "Dubrava"; Zagreb

Značajnost problema hirzutizma, odnosno hiperandrogenizma u žena, usmjerava ispitivanja na pronalaženje relevantnog parametra za pravovremeno otkrivanje tog poremećaja. 5 α -androstan-3 α ,17 β -diol (ADG) jedan je od pokazatelja čija je koncentracija u cirkulaciji vjerojatno istovremeno odraz aktivnosti 5 α -reduktaze u perifernoj

konverziji testosterona, kao i enzima glukuronil-transferaze u jetri. Novija ispitivanja ističu moguće adrenalno podrijetlo ADG te postaju zanimljivi odnosi ADG prema mogućim prekursorima. Našim ispitivanjem obuhvaćene su 63 ispitanice u dobi od 20 do 40 godina podijeljene u: skupinu bolesnica s umjerenim hirzutizmom i normalnim profilom androgena u plazmi, skupinu bolesnica s vrlo naglašenim hirzutizmom i znakovima virilizacije te povišenim cirkulirajućim androgenima i skupinu normalnih ispitanica. Cilj ovog rada bio je ispitati korelaciju između ADG u plazmi i androgenih hormona ovarijalnog i adrenalnog podrijetla. Statistički značajna korelacija ustanovljena je između koncentracija ADG i dehidroepiandrosteron-sulfata (DHEA-S) u plazmi.

03/P4

AKTIVNOST ALKALNE FOSFATAZE U KRVNOM SERUMU SVINJA-NAZIMICA TIJEKOM ESTRUSNOG CIKLUSA

T. Gojmerac¹, B. Mandić², M. Munk¹, N. Bilandžić¹

¹ Hrvatski veterinarski institut, ² Institut "Vuk Vrhovac"; Zagreb

Reproduksijski ciklus svinja-nazimica reguliran je složenom endokrinom aktivnošću na razini centralnog živčanog sustava i gonada, a što se odražava na vrijednosti staničnih elemenata i biokemijskih parametara krvi, odnosno krvnog seruma. Rezultati prethodnih ispitivanja ukazuju, da osim kod patoloških stanja i kod određenih fizioloških stanja u reproduksijskom ciklusu svinja (estrus, graviditet, laktacija), dolazi do promjena u aktivnosti aminotransferaza (alanin-aminotransferaze i aspartat-aminotransferaze) i alkalne fosfataze u serumu. Svrha ovog rada bila je ispitati aktivnost alkalne fosfataze u serumu devet svinja-nazimica, križanaca između švedskog i njemačkog landrasa, težine 80 - 100 kg, starosti 6 - 7 mjeseci, tijekom estrusnog ciklusa, s posebnim osvrtom na aktivnost tog enzima na dan početka estrusa (dan 0). Početak estrusa određen je praćenjem ponašanja svinja-nazimica ("riding test") i određivanjem koncentracije 17 β -estradiola (17 β -E) i progesterona (P) u serumu. Rezultati ispitivanja upućuju na zaključak, da je aktivnost alkalne fosfataze u serumu svinja-nazimica tijekom ispitivanih dana estrusnog ciklusa, bila u granicama fizioloških vrijednosti (42,3 $\pm$ 3,0 do 68,6 $\pm$ 5,6 U/L). Najviša vrijednost aktivnosti alkalne fosfataze u serumu svinja-nazimica izmjerena je

na dan početka estrusa (dan 0), ali ta promjena nije bila značajna. U isto vrijeme, izmjerena je najniža koncentracija P ($0,42 \pm 0,02$ ng/ml) i značajno ($p < 0,001$) niža koncentracija 17β -E ($28,0 \pm 1,1$ pg/ml) u odnosu na koncentraciju tog hormona 24 sata prije početka estrusa ($112,0 \pm 15,6$ pg/ml), što ukazuje na početak estrusa ispitivanih životinja.

03/P5

BRAIN LIPIDS AND PROTEIN KINASES A AND C IN THE HUMAN BRAIN DURING AGING

D. Mikačić, I. Kračun, S. Šale, T. Ariga, R.K. Yu

Croatian Institute for Brain Research, Zagreb University School of Medicine;
University of Virginia, Richmond, USA

According to our knowledge there is no study on the distribution of different species of gangliosides and protein kinases A (PKA) and C (PKC) in different brain regions in the adult human brain and aging. Since the gangliosides or ceramide/sphingosine serve as pool generating modulators of PKC and PKA in neuronal membranes, we analysed "a" and "b" series of gangliosides and protein kinases system in distinct brain regions of the adult human brain and during aging. We determined the distribution of gangliosides and activities of PKA and PKC in 10 different regions of adult human brain (50 years of age, $n = 3$) and during age range 20 - 80 years ($n = 20$). Our results demonstrated that PKC activity is differentially distributed in the adult human brain showing the highest values in frontal cortex (300 cpm/mg protein/h) and the lowest in mesencephalon, thalamus and striatum (50 cpm/mg protein/h), similar to gangliosides concentration. However, PKA activities were the highest in mesencephalon, striatum and hippocampus but lowest in frontal cortex. During human aging, gangliosides concentration and PKA activity in cortical regions (frontal, visual and cerebellar cortex) increased until 40 years and decreased until 80 years of age. We suppose that decreased concentration of total gangliosides during aging might decrease PKC activity in senescent cortical regions. Moreover, it seems that switch from "a" series of gangliosides which are decreasing after 40 years of age to "b" series of gangliosides which are increasing, might be a trigger for decreased PKC activity in senescent human cerebral cortex in Alzheimer's disease.

03/P6

NEPLODNOST MUŠKARCA I BIOKEMIJSKA ISPITIVANJA SJEMENA

J. Wagner, M. Fijačko, K. Paradinović, J. Pavela

Odjel za medicinsku biokemiju KB Osijek

Različiti biokemijski biljezi su pokazatelji funkcije spolnih žljezda, npr. limunska kiselina, cink, γ -glutamiltransferaza i kiselna fosfataza su biljezi za prostatu; fruktoza i prostaglandini za sjemenne mjehuriće; slobodni L-karnitin, glicerofosfokolin i α -glukozidaza za epididimis. Biokemijske analize koje su učinjene u ejakulatu kod 260 muškaraca omogućuju nam ispitivanje odnosa između sekrecijske funkcije različitih akcesornih spolnih žlijezda i svojstva spermija te kakvi su njihova pokretljivost, sazrijevanje, metabolizam itd. Uz osnovno ispitivanje (količina uzorka, pH, koncentracija spermija u uzorku, likvefakcija, vitalnost, motilitet) učinjeno je biokemijsko ispitivanje kisele fosfataze, fruktoze, cinka, limunske kiseline i L-karnitina. Količina cinka i limunske kiseline u ejakulatu je mjera sekrecije prostate. Postoji dobra korelacija između cinka, limunske kiseline i kisele fosfataze. Niska aktivnost kisele fosfataze i jako smanjena pokretljivost spermija ukazuju na disfunkciju prostate. Fruktoza u ejakulatu odražava sekrecijsku funkciju sjemenih mjehurića, a isto tako pokazatelj je i opstrukcije u muškom reproduktivskom sustavu. Patološki snižene vrijednosti ili čak odsutnost fruktoze mogu ukazati na postojanje upale, odnosno prirođenih anomalija u području sjemenih mjehurića i njihovih izvodnih putova, koje je povezano s hipospermijom (volumen manji od 2 ml), uz azospermiju, odnosno aspermiju. U takvim je slučajevima pH ejakulata znatno niži, ejakulat ne koagulira jer nema proteina, a aktivnost kisele fosfataze je vrlo visoka zbog nedovoljnog razrjeđenja prostatične sekrecije s vezikularnom sekrecijom. L-karnitin je najvažniji biljeg epididimisa. Snižene koncentracije L-karnitina kod azospermije odgovaraju mjestu opstrukcije u epididimisu ili opstrukciji u vaza deferens. Pravilna procjena je moguća samo ako se bolesnik prati dulje vremena i ako analize uključuju čimbenike koji odražavaju i funkciju prostate i funkciju sjemenih mjehurića. No, potrebno je naglasiti da se biokemijske analize ne mogu primijeniti kao test za neplodnost muškarca, ali ako su korektno izvedene, mogu biti vrlo korisne u razjašnjavanju nekih od uzroka neplodnosti.

03/P7

ZNAČENJE VRIJEDNOSTI ŽUČNIH KISELINA U PROGNOZI PERINATALNOG ISHODA U TRUDNICA S INTRAHEPATALNOM KOLESTAZOM

E. Fišić, B. Beljan

Zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Rijeka

Učestalost teških jetrenih oboljenja u trudnica iznosi oko 0,1%. U trudnica s intrahepatalnom kolestazom bilježi se veća učestalost prijevremenih poroda, češća pojava patnje fetusa i iznenadna smrt u trudnoći i porodu. Cilj ovog rada bio je odrediti vrijednost biokemijskih parametara intrahepatalne kolestaze u trudnoći, u prognozi perinatalnog ishoda, s osobitim osvrtom na koncentracije ukupnih žučnih kiselina u serumu. Identifikacijom čimbenika rizika za nepovoljan tijek i ishod takvih trudnoća mogao bi se poboljšati nadzor fetusa u trudnica s intrahepatalnom kolestazom. Obradili smo serume 20 trudnica gestacijske dobi između 28 i 40 tjedana s dijagnosticiranom intrahepatalnom kolestazom. Od biokemijskih parametara pratili smo žučne kiseline, aktivnost alkalne fosfataze, γ -glutamyltransferaze (GGT), aspartat-aminotransferaze (AST), alanin-aminotransferaze (ALT) te vrijednosti ukupnog i konjugiranog bilirubina. Koncentracija ukupnog bilirubina bila je povišena u 11 bolesnica, a konjugiranog bilirubina u 12 bolesnica. Povećana aktivnost alkalne fosfataze zabilježena je u 15 trudnica. Aktivnost AST bila je povišena u 14, a ALT u 15 bolesnica dok je aktivnost GGT bila povećana u 5 trudnica. Za razliku od gore navedenih parametara, vrijednost ukupnih žučnih kiselina bila je povećana u svih 20 trudnica s intrahepatalnom kolestazom. Čini se da su žučne kiseline u serumu oboljelih trudnica najbolji predskazatelj tijeka trudnoće i perinatalnog ishoda, pri čemu nagli višestruki porast vrijednosti žučnih kiselina, najmanje deseterostruko više od referentnih vrijednosti, ukazuje na nepovoljan tijek trudnoće i povećan rizik za plod.

metodi Hughesa i suradnika. Citogenetskim praćenjem vidi se postupni prijelaz mozaicizma (46,xy/46,xy, t(9;22)) u kimeru te gubitak Philadelphia kromosoma 3 mjeseca nakon transplantacije. Na temelju prvih nalaza PCR analize ustanovljeno je alternativno cijepanje mRNA tj. prisutnost b_3a_2 i b_2a_2 prijepisa. PCR pozitivitet zadržao se neposredno nakon transplantacije da bi nakon tri mjeseca transplantirana koštana srž potpuno istisnula leukemijske stanice, što je potvrdio negativan nalaz PCR analize. Citogenetskom analizom, a posebice otkrivanjem bcr/abl prijepisa pomoću PCR uspješno se može pratiti poslijetransplantacijsko nestajanje leukemijskih stanica.

05/P4

ODREĐIVANJE ANTIKARDIOLIPINSKIH PROTUTIJELA

A. Ilić, D. Martinović

Odjel za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku i Klinika za unutarnje bolesti, KB Split

Odavno je poznato da kod bolesnika sa sistemskim eritemskim lupusom (SLE) s tromboembolijskim poremećajima su prisutna antifosfolipidna protutijela. U posljednje vrijeme određivanje antifosfolipidnih protutijela dobiva sve veći značaj u dijagnostici zbog njihove pojave u bolesnika s autoimunim, infekcijskim, malignim, limfoproliferativnim i drugim bolestima. Ova protutijela mogu uzrokovati širok spektar kliničkih simptoma (venske i arterijske tromboze, trombocitopenije, smrt fetusa, plućne hipertenzije, endokardijalne bolesti, migrene). Antifosfolipidna protutijela su IgG, IgM i rijetko IgA klase. Određivali smo kardiolipinska protutijela s pomoću gotovih reagensa tvrtke Dialab (ELISA tehnika). Referentne vrijednosti su za kardiolipinska protutijela IgG klase < 12 GPL jed/ml i za kardiolipinska protutijela IgM klase < 6 MPL jed/ml. Kardiolipinska protutijela IgG i IgM klase određena su kod 374 bolesnika (303 žene i 71. muškarca). Ukupno je testirano 554 seruma bolesnika (472 seruma žena i 82 seruma muškaraca). U 362 (65,3%) uzorka (bez obzira na spol) dobivene su vrijednosti kardiolipinskih protutijela IgG klase < 12 GPL jed/ml. Međutim, u 145 (40,1%) uzoraka s referentnim vrijednostima kardiolipinskih protutijela IgG klase dobivene su povećane vrijednosti kardiolipinskih protutijela IgM klase (> 6 MPL jed/ml). Kod žena u 308 (65,2%) uzoraka vrijednosti kardiolipinskih protutijela IgG klase

bile su u granicama referentnih vrijednosti (< 12 GPL jed/ml) uz istovremeno povećanje kardiolipinskih protutijela IgM klase u 128 (27,1%) uzoraka. U 252 (53,3%) uzorka vrijednosti kardiolipinskih protutijela klase IgM bile su < 6 MPL jed/ml uz istovremeno povećanje kardiolipinskih protutijela IgG klase u 73 (15,4%) uzorka. Kod muškaraca u 53 (64,6%) uzorka vrijednosti kardiolipinskih protutijela IgG klase bile su < 12 GPL jed/ml uz istovremeno povećanje kardiolipinskih protutijela IgM klase u 18 (21,9%) uzoraka. U 46 (56,1%) uzoraka vrijednosti kardiolipinskih protutijela klase IgM bile su < 6 MPL jed/ml uz istovremeno povećanje kardiolipinskih protutijela IgG klase u 13 (15,8%) uzoraka. Na osnovu dobivenih rezultata zaključujemo da je kod bolesnika kod kojih postoje indikacije za određivanje kardiolipinskih protutijela potrebno uvijek odrediti kardiolipinska protutijela i IgG i IgM klase.

05/P5

PRIKAZ CENTRIFUGALNOG HEMATOLOŠKOG SUSTAVA QBC

— **Lj. Brijaček, V. Piškur, B. Krmek-Helfrih, B. Bojčić**

Medicinsko-biokemijski laboratorij DZ Osijek

Ispitivali smo i uspoređivali hematološke parametre na centrifugalnom hematološkom sustavu QBC i na brojaču T660 Coulter Counter. QBC je mikroprocesorski kontroliran elektrooptički instrument za mjerenje pakiranih staničnih volumena u specijalnim QBC-kapilarama i prevođenje mjerenja u vrijednosti Lkc, Hb, MCHC i Trc. QBC sadrži kompjutorsku verziju "Kliničke hematologije" uspostavljenu u suradnji s dr. M. Wintrobom što daje nalaz sa specifičnim kliničkim podsjetnikom. Analizirali smo nasumice odabranih 100 uzoraka venske krvi (Becton Dickinson Vacutainer K₃EDTA) i uspoređivali hematološke parametre: Lkc, Hb, Hct, MCHC i Trc. Statističkom obradom izvršena je procjena preciznosti i točnosti. Ispitivanjem preciznosti u seriji koeficijenti varijacije za Lkc, Hb, Hct i MCHC bili su 1 - 4%, a za Trc 8%. I rezultati dobiveni ispitivanjem preciznosti između serija su zadovoljavajući ($r = 0,55$). QBC je koristan za rad u malim serijama, izvanrednim (ratnim) prilikama i za probiranje normalnih od abnormalnih hematoloških parametara u hitnim službama.

05/P6

TESTOVI HEMOSTAZE UZORAKA ARTERIJSKE I VENSKE KRV I U BOLESNIKA S TUMORIMA

G. Krajačić-Karas, D. Šturm, M. Banović, D. Ferber, M. Novak, M. Aralica, F. Šuperina

Klinika za tumore, Zagreb

Testovima hemostaze ispitivani su uzorci arterijske i venske krvi sa ciljem da se utvrdi razlika ili sličnost među njima. Obradeni su uzorci 20 bolesnika (7 muškaraca i 13 žena) u dobi od 30 do 76 godina. Među njima bilo je 8 bolesnika s tumorom dojke, 6 bolesnika s tumorom štitnjače, 2. bolesnice s tumorom ušća maternice, 2 bolesnika s tumorom leđne moždine, 1 s tumorom želuca i 1 s polipozom crijeva. Krv je bolesnicima uzimana iz kubitalne arterije i vene prije operacije, neposredno nakon uvođenja u anesteziju. Testovi hemostaze (protrombinsko vrijeme, fibrinogen, fibrinoliza, aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme i trombinsko vrijeme) rađeni su koagulacijskom metodom testovima tvrtke Behring, aparatom Fibrintimer A, a inhibitori koagulacije (antitrombin III, protein C) i plazminogen metodom s kromogenima, aparatom Chromotimer iste tvrtke. U 40% bolesnika nije nađena razlika u mjerenju testova hemostaze. Kod 30% bolesnika nađene su razlike u više od jednog parametra, dok je u ostalih 30% zabilježena razlika u samo jednom parametru mjerenja. Iz dobivenih rezultata proizlazi da je u 60% bolesnika zabilježena razlika u mjerenju testova hemostaze uzoraka arterijske i venske krvi istog bolesnika na razini statističke značajnosti $p < 0,05$.

05/P7

REZULTATI PROCJENE AUTOMATSKOG HEMATOLOŠKOG BROJAČA CELL-DYN 3500

N. Bošnjak, A. Sapunar, N. Ivelja

KB Split

Procjena hematološkog brojača CELL-DYN 3500 tvrtke Abbott učinjena je na Odjelu za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku KB Split. Ispitivana je točnost, preciznost, osjetljivost i specifičnost brojača. Ispitivano je 300 normalnih i patoloških uzoraka i učinjena korelacija

s automatskim brojačem Technicon-H₂ za parametre: leukocite (Lkc), eritrocite (Erc), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), MCV, MCH, MCHC, trombocite (Trc) i diferencijalnu krvnu sliku (DKS). Preciznost se pokazala zadovoljavajućom, s koeficijentom varijacije od 0,31% do 3,87%. Dobili smo dobru korelaciju za parametre Lkc, Erc, Hct, Hb, MCV i MCH $r = 0,97$, za trombocite $r = 0,95$, a za MCHC $r = 0,92$. Korelacija diferencijalne krvne slike također je bila dobra za sve pojedine vrste leukocita ($r = 0,92$). U slučaju prisutnosti mlađih stanica brojač signalizira da se uzorak krvi treba pregledati mikroskopski. U usporedbi s referentnom mikroskopskom metodom diferenciranja leukocita dobili smo zadovoljavajuće rezultate s niskim omjerom lažno pozitivnih nalaza u normalnim uzorcima i vrlo dobru kliničku osjetljivost i specifičnost u patološkim uzorcima. Rezultati procjene su pokazali da je hematološki brojač CELL-DYN 3500 precizan, pouzdan i točan u određivanju krvne slike i diferencijalne krvne slike normalnih uzoraka kao i signalizaciji patoloških uzoraka koje treba mikroskopski pregledati.

05/P8

TROMBOEMBOLIJA U BOLESNIKA S DILATACIJSKOM KARDIOMIOPATIJOM: ULOGA FIBRINOGENA U KRVNOJ TEKUĆINI

A. Sapunar, N. Bošnjak, A. Lukin

KB Split

Tromboembolija (TE) je jedan od smrtnih čimbenika kod bolesnika s dilatacijskom kardiomiopatijom. Cilj ovog rada bio je odrediti poremećaje u koagulaciji u bolesnika s primarnom i sekundarnom dilatacijskom kardiomiopatijom u odnosu na osnovni ritam srca, sinus, odnosno fibrilaciju atrijsa. Ispitivanja smo vršili od 1994. do sredine 1996. godine na 52 bolesnika s idiopatskom i izohemičnom dilatacijskom kardiomiopatijom. Određivali smo vrijednosti protrombinskog vremena (PV), aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena (APTT), fibrinogena, FDA i D-dimera u odnosu na kontrolnu skupinu. Od svih parametara primjetili smo da su vrijednosti fibrinogena značajno više kod TE(+) skupine 3,68 v.s. 3,34 g/L ($p = 0,009$). Na osnovu ovih rezultata zaključili smo da fibrinogen ima važnu ulogu u patogenezi tromboembolijskih stanja te ga možemo uvrstiti u rizike kardiovaskularnih bolesti.

05/P9

PROCJENA AUTOMATSKOG HEMATOLOŠKOG BROJAČA CELL-DYN 1700CS

S. Petani, E. Topić, M. Däschner

Hematološki laboratorij Kliničkog zavoda za kemiju KB "Sestre milosrdnice",
Zagreb

Procjena automatskog hematološkog brojača CELL-DYN 1700CS tvrtke Abbott načinjena je u Hematološkom laboratoriju Kliničkog zavoda za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice". Ispitana je preciznost u seriji i između serija, točnost instrumenta, prenošenje uzorka, linearnost, stabilnost uzorka te usporedba trodjelne diferencijalne krvne slike u odnosu na mikroskopsko diferenciranje leukocita. Ispitivanjem preciznosti dobivena je zadovoljavajuća reproducibilnost instrumenta za sve ispitivane parametre. Točnost mjerenja je ispitana usporedbom ispitivanih parametara (WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT) na CELL-DYN 1700CS i MEK-8118K (Nihon Kohden) brojačima. Rezultati usporedbe pokazali su zadovoljavajuće koeficijente korelacije za gotovo sve ispitivane parametre ($r = 0,965$), osim za MCHC ($r = 0,389$ i $r = 0,344$). Prenosanje materijala je zanemarivo, odnosno manje od 1% za sve ispitivane parametre. Ispitivanjem linearnosti u području klinički značajnog patološkog raspona dobiveni su zadovoljavajući koeficijenti korelacije za ispitivane parametre (HGB $r = 0,999$; WBC $r = 0,998$; PLT $r = 0,998$). Rezultati ispitivanja stabilnosti uzorka pokazali su da je uzorak za određivanje krvne slike stabilan tijekom 12 sati te za određivanje *screening* diferencijalne krvne slike tijekom 8 sati od trenutka vađenja krvi za analizu. Trodjelna diferencijalna krvna slika dobivena na brojaču CELL-DYN 1700CS uspoređena je s referentnom mikroskopskom metodom diferenciranja leukocita, pri čemu su zadovoljavajući koeficijenti korelacije postignuti za granulocite ($r = 0,924$) i limfocite ($r = 0,939$), dok je za populaciju stanica koja uključuje monocite, eozinofilne i bazofilne granulocite i eventualno prisutne nezrele stanice leukocitopoeze koeficijent korelacije nezadovoljavajući ($r = 0,435$). Osjetljivost analizatora je 92,1%, a specifičnost 88,6%. Rezultati procjene pokazali su da je hematološki brojač CELL-DYN 1700CS precizan, točan i pouzdan instrument u određivanju kompletne krvne slike te u signalizaciji promjena u diferencijalnoj krvnoj slici, kada je ipak neminovno uzorak krvi pregledati mikroskopski da bi se potvrdile eventualne promjene u raspodjeli i/ili morfologiji pojedinih vrsta leukocita.

05/P10

IMUNOGLOBULINI U SERUMU I *IN VITRO* BLASTIČNA TRANSFORMACIJA LIMFOCITA U BOLESNIKA S ALKOHOLNOM CIROZOM JETRE

N. Antoljak, E. Topić, M. Duvnjak, M. Kaštelan, A. Zubčić

Klinički zavod za kemiju KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Bakterijske infekcije su odgovorne za velik dio ozbiljnih, često i fatalnih komplikacija u bolesnika s akutnom i kroničnom alkoholnom bolešću jetre. Najčešće su to infekcije mokraćnog sustava, bakterijemija, upala pluća, bakterijski endokarditis i spontani bakterijski peritonitis. Riziku infekcija pridonosi i pothranjenost te loše opće stanje ovih bolesnika. Često je prisutna poliklonska gamaglobulinemija, a rezultati sposobnosti blastične transformacije cirkulirajućih limfocita *in vitro* su različiti. Cilj rada je da se ispituju promjene osnovnih pokazatelja imunološkog statusa u bolesnika s kroničnom alkoholnom bolešću jetre. U ispitivanje je uključeno 30 bolesnika s klinički i laboratorijski potvrđenom dijagnozom alkoholne ciroze jetre i 31 zdravi ispitanik. Bolesnici uvršteni u ispitivanje nisu bolovali od drugih bolesti kao npr. infekcija, upale ili zloćudne bolesti, a nalazi serodijagnostike virusnog hepatitisa B i C su bili negativni. Bolesnici nisu uzimali nikakve lijekove s poznatim djelovanjem na imunološki sustav (steroidi, citostatici ili cimetidin). Ispitanicima su određivani, uz standardne testove jetrene funkcije, subpopulacije limfocita CD4 i CD8, imunoglobulini G, A i M, komponente komplementa C3 i C4 te blastična transformacija limfocita stimulirana s mitogenima Pha, ConA i Pwm. Statistička obrada rezultata učinjena je s pomoću kompjutorskog programa Excel verzija 7.0., a korišten je Studentov t-test te Mann-Whitneyev test (za podatke koji nemaju normalnu raspodjelu). Nađene su povišene koncentracije IgG, IgA i IgM u bolesnika s kroničnom alkoholnom bolešću jetre u odnosu na zdrave ispitanike u kojih su koncentracije imunoglobulina u serumu unutar referentnog raspona. Nađen je i snižen broj limfocita CD4 i CD8 u bolesnika. Nasuprot tome, nađen je povišen omjer CD4/CD8 u većem postotku u bolesnika, nego u zdravih ispitanika, ali ta razlika nije statistički značajna. To ukazuje da pomoćničko-supresorski učinak nije narušen u bolesnika s kroničnom alkoholnom bolešću jetre. Blastična transformacija limfocita s Pha, ConA i Pwm značajno je niža u skupini bolesnika i ukazuje na sniženu reaktivnost limfocita *in vitro*. Snižene vrijednosti obih komponenti komplementa ukazuje na postojanje imunosti u kojoj učestvuje komplement u bolesnika s kroničnom alkoholnom bolešću jetre.

05/P11

UTJECAJ KONCENTRACIJE MAGNEZIJA NA AGREGACIJU TROMBOCITA

S. Kralik, T. Bernt, I. Kuvačić, S. Škrablin, V. Mayer

Klinika za ženske bolesti i porode Medicinskog fakulteta, Zagreb

Trudnice s preeklampsijom između ostalog uglavnom se liječe primjenom magnezij-sulfata za kojeg do danas nije poznat način terapijskog djelovanja. Ove trudnoće gotovo uvijek su opterećene potrošnom koagulopatijom sa sniženjem broja trombocita. Željeli smo ispitati utjecaj koncentracije magnezija na agregaciju trombocita induciranu s ADP, kolagenom i arahidonskom kiselinom. U ispitivanju je bilo 24 uzorka plazmi bogatih trombocitima dobivenim od zdravih trudnica u kojima smo u *ex vivo* uvjetima mijenjali koncentraciju magnezija (1; 1,5; 2 i 3 mmol/L) i određivali najveću agregaciju i najveći gradijent agregacije trombocita uz ADP, kolagen i arahidonsku kiselinu. Agregacija je mjerena i u 10 uzoraka plazme trudnica s preeklampsijom prije i u tijeku terapije magnezij-sulfatom. Koristili smo reagense i agregometar tvrtke Dia Med. Magnezij je određivan kolorimetrijski na spektrofotometru Pye Unicam. Ispitivanjem u *ex vivo* uvjetima utvrdili smo statistički značajno sniženje najvećeg gradijenta i agregacije trombocita s povećavanjem koncentracije magnezija uz kolagen, ADP i arahidonsku kiselinu. U 10 uzoraka plazme dobivenih od trudnica s preeklampsijom zabilježen je statistički značajan pad agregacije trombocita nakon uvedene terapije magnezij-sulfata. Iz našeg ispitivanja zaključujemo da povećanje koncentracije magnezija smanjuje sposobnost agregacije trombocita čime se smanjuje potrošnja trombocita i time vjerojatno izlučivanje serotonina iz trombocita čime se pružaju novi podaci o terapijskom djelovanju magnezij-sulfata u bolesnica s preeklampsijom.

05/P12

PROCJENA POLUAUTOMATSKOG HEMATOLOŠKOG BROJAČA SYSMEX F-820

T. Vranić, A. Nazor

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur", Zagreb

Procjena poluautomatskog hematološkog brojača SYSMEX F-820 obuhvatila je ispitivanje nepreciznosti u seriji, netočnosti i usporedna određivanja prema automatskom hematološkom brojaču Coulter STKS za sljedeće parametre: broj leukocita (WBC), broj eritrocita (RBC), koncentraciju hemoglobina (HGB), hematokrit (HCT), srednji volumen eritrocita (MCV), srednji sadržaj hemoglobina u eritrocitima (MCH), srednju koncentraciju hemoglobina u eritrocitima (MCHC) i broj trombocita (PLT). Nepreciznost u seriji dobivena je uzastopnim određivanjem jednog uzorka venske krvi s K_3 EDTA (30 puta) za normalno, visoko i nisko koncentracijsko područje i izražena koeficijentom varijacije ($KV_A \%$). Za ispitivanje netočnosti koristili smo komercijalni pripravak SF CHECK- N_{TM} SYSMEX za normalno područje i dobivene rezultate izrazili kao razliku od deklariranih vrijednosti (razlika $\%$). Usporedna određivanja rađena su na 90 uzoraka i rezultati su izraženi koeficijentom korelacije (r).

Parametar	$KV_A \%$			RAZLIKA %	r
	Nisko	Normalno	Visoko		
RBC	2,04	2,13	1,82	0,43	0,99
HGB	0,96	1,30	1,08	0,71	0,99
HCT	1,92	2,12	2,14	2,67	0,98
MCV	1,03	0,56	0,78	1,11	0,96
MCH	1,70	1,31	1,37	1,63	0,97
MCHC	1,90	1,31	1,53	3,71	0,88
PLT	9,62	3,42	2,48	4,46	0,98
WBC	3,49	1,73	1,55	0,25	0,99

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da brojač ima dozvoljenu netočnost i nepreciznost u seriji, a usporedna određivanja ukazuju na dobru podudarnost rezultata između ispitivanih brojača.

05/P13

STRUČNA PROCJENA HEMATOLOŠKOG ANALIZATORA COBAS MICROS ct 18 TVRTKE ROCHE

A. Nazor

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur", Zagreb

Cobas Micros ct 18 tvrtke Roche je 18-parametarski hematološki analizator s trodjelnom diferencijalnom krvnom slikom. U okviru stručne procjene instrumenta ispitana je preciznost unutar serije iz istog uzorka i preciznost iz usporednih određivanja u seriji uzoraka. Točnost mjerenja hematoloških parametara uspoređena je s hematološkim analizatorom Coulter STKS nakon prethodnog baždarenja i provjere instrumenta s odgovarajućim standardnim uzorcima. Analizirani uzorci venske krvi s antikoagulansom K_2 EDTA prikupljeni su na odjelima bolnice. Rezultati ispitivanja statistički su obrađeni i prikazani pomoću srednje vrijednosti, standardne devijacije i koeficijenta varijacije za svaki parametar. Pouzdanost rezultata ispitana je analizom linearne regresije i prikazana koeficijentom korelacije. Statistički značajna razlika testirana je Studentovim t-testom, a statistička obrada načinjena je na računalu Apple Power Macintosh 8500/120 u programu Claris Works 4.0. Rezultati ispitivanja pokazuju da su koeficijenti varijacije za broj leukocita i parametre crvene krvne slike manji od 2%, za trombocite manji od 5%, a nešto veći (do 10%) za parametre trodjelne diferencijalne krvne slike. Usporedba instrumenta Cobas Micros ct 18 s analizatorom Coulter STKS pokazala je zadovoljavajuće rezultate s nešto većim, ali još uvijek prihvatljivim odstupanjem za parametre trodjelne diferencijalne krvne slike. Može se zaključiti da automatizirani hematološki analizator Cobas Micros ct 18 korisniku pruža udobnost u radu te precizne i točne rezultate u okviru kategorije aparata kojoj pripada.

05/P14

NAŠA ISKUSTVA U IZRADI TESTOVA HEMOSTAZE NA APARATIMA KC 40 I FIBRINTIMER A

D. Karas, S. Ivanković, V. Jagić

Opća bolnica "Sveti duh", Zagreb

U općoj bolnici "Sveti duh" ispitivani su testovi hemostaze kroz godinu dana u 8 637 bolesnika. Rađeni su sljedeći testovi hemostaze: protrombinsko vrijeme (PV), fibrinogen, trombinsko vrijeme i aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV) na aparatima KC 40 i Fibrintimer A. Samo s PV kontrolirana je terapija kumarinima u 1 848 bolesnika. Velikih koagulograma bilo je u proteklom periodu 1 378. Kod terapije sa streptazom u 47 bolesnika kontroliran je fibrinogen, APTV, PV i trombinsko vrijeme svakih 2 - 6 sati kroz dva dana. Oba aparata su se pokazala dragocjenima, s time da su pojedine pretrage točnije na jednom od njih, što je u vezi s tehnikom rada aparata. KC 40 je koagulometar i plazma se mjeri u plastičnim jednokratnim epruvetama s kuglicom pa je i miješanje reagensa u epruveti intenzivnije. Fibrintimer A je turbidimetar koji je pogodan za mjerenje bistre plazme i za reagense koji sadrže kaolin. Kombinira se rad na oba aparata istovremeno i radi se 24 sata. Opća bolnica "Sveti duh" ima rodilište, pedijatriju, koronarni odsjek te hitne prijame i zato je neophodna brza, precizna i reproducibilna pretraga. Pogodnost je što su hematološki i koagulacijski laboratorij zajedno u sklopu Zavoda za dijagnostiku pa se u slučaju potrebe za istog bolesnika mogu provjeriti hematološki i biokemijski parametri neophodni u slučaju patološkog nalaza testova hemostaze.

05/P15

LABORATORIJSKI PARAMETRI KOD BOLESNIKA S POLICITEMIJOM RUBRA VERA

B. Pauković Sekulić, A. Trlaja, M. Dubravčić, N. Knežević, A. Ilić

KB Split, Lokalitet Križine

Policitemija rubra vera (PRV) je klonska bolest hematopoetske matične stanice čije značajke su patološka ekspanzija eritrocita, trombocita i leukocita što je često praćeno splenomegalijom. To je bolest

starije životne dobi koja počinje neprimjetno, a bolesnici se obično obraćaju liječniku pojavom vazomotornih i neuroloških simptoma ili krvarenja iz gastrointestinalnog sustava. Pratili smo tijek bolesti u 27 bolesnika od 30 do 75 godina starosti tijekom 20 godina koristeći protokol "Policitemia Vera Study Group", publiciran 1986. godine. Prikazali smo broj eritrocita, leukocita, trombocita i veličinu slezene ispod rebranog luka u centimetrima u vrijeme postavljanja dijagnoze bolesti. Laboratorijske parametre odredili smo na hematološkim elektronskim brojačima Technicon SMA-7 i H-1. Svima smo odredili agregaciju trombocita po Bornu s ADP u koncentraciji 2 i 5 $\mu\text{M}/\text{ml}$ i s adrenalinom u koncentraciji 10 $\mu\text{M}/\text{ml}$ na agregometru Chrono-Log-model-330. Usporedili smo također indeks raspodjele trombocita po volumenu (PDW) u 14 bolesnika s PRV i sekundarnom policitemijom u odnosu na kontrolnu skupinu koja se sastojala od 300 dobrovoljnih davalaca krvi. Rezultate smo obradili Studentovim t-testom. Dobili smo statistički značajnu razliku između vrijednosti PDW u bolesnika s PRV u odnosu na vrijednosti PDW u bolesnika sa sekundarnom policitemijom ($t = 3,657$; $p < 0,05$) kao i u odnosu na kontrolnu skupinu ($t = 8,517$; $p < 0,05$). Kod postavljanja dijagnoze PRV, agregacija trombocita i PWD kao funkcionalni trombocitni parametri pored parametara iz "Protokola" za PRV, mogu poslužiti kao dodatni dijagnostički parametri za razlikovanje PRV i sekundarne policitemije. Njihovom primjenom može se povećati osjetljivost i specifičnost kriterija u postavljanju dijagnoze PRV.

05/P16

PROMJENE U AGREGACIJI TROMBOCITA U TRUDNICA S PREEKLAMPSIJOM

T. Bernt, S. Kralik, I. Kuvačić, S. Škrablin, Đ. Janković, V. Mayer

Klinika za ženske bolesti i porode KBC Zagreb

Poremećena ravnoteža TXA_2 i PGI_2 smatra se jednim od najvažnijih etioloških čimbenika u nastanku prijetee konvulzivne eklampsije (preeklampsije) u trudnoći. Prevlad djelovanja TXA_2 i PGI_2 uzrokuje hipertenziju, oštećenje bubrega (proteinuriju) i aktivaciju i potrošnju trombocita, što rezultira koagulacijom i trombozom unutar uteropla-centarne cirkulacije, a kao posljedicu usporenje rasta fetusa pa čak i mrtvorodenost. Cilj ovog rada bio je ispitati je li u trudnica s pre-eklampsijom prisutna oslabljena agregacija trombocita kao i njihov

sniženi ukupan broj unutar periferne cirkulacije, a kao rezultat pojačane aktivacije i potrošnje trombocita duž uteroplacentarne cirkulacije. Određen je ukupan broj trombocita (Coulter Counter) kao i agregacija trombocita s ADP i s kolagenom (Dia Med) u 13 trudnica sa znakovima preeklampsije (trajanje trudnoće 34 tjedana; 28 - 38). Kontrolnu skupinu predstavljalo je 20 zdravih trudnica (trajanje trudnoće 39,7 tjedana; 38 - 42). Dobivene su statistički značajno niže srednje vrijednosti maksimalne agregacije ($p < 0,05$) i s kolagenom i s ADP u ispitivanih trudnica, kao i snižen ukupan broj trombocita ($p < 0,05$) u odnosu na zdrave trudnice. Smatramo da bi bilo vrijedno pratiti promjene u agregaciji trombocita tijekom trudnoća kod kojih postoji rizik nastanka preeklampsije te utvrditi predhode li navedene promjene u perifernoj cirkulaciji kliničkim znakovima bolesti, što bi omogućilo pravovremeno uključivanje odgovarajuće antikoagulantne terapije.

05/P17

FIBRINOLITIČKA AKTIVNOST TKIVNOG EKSTRAKTA G-90 NA UGRUŠKE VENSKE KRVI OBOLJELIH OD KARCINOMA

T. Hrženjak, Lj. Tiška-Rudman, M. Popović

Veterinarski fakultet i Klinika za tumore, Zagreb

Iz tkivnog homogenata gujavice *Eisenia foetida* ekstrahirana je makromolekularna smjesa lektinskih osobina te je nazvana G-90. Iz smjese su izolirane makromolekule inzulinskog koda i osobina čimbenika rasta, adhezini koji pripadaju imunoglobulinskoj nadporodici i tripsinu slične peptidaze sa snažnom fibrinolitičkom i antikoagulacijskom aktivnošću. G-90 dodan na fibrinske ugruške skraćuje euglobulinsko vrijeme. Ono je također skraćeno kada ugrušci potječu iz krvi bolesnika s dijagnozom karcinoma. U ovom radu smo euglobulinskim testom pratili razliku u brzini lize fibrinskih ugrušaka iz 50 slučajnih uzoraka venske krvi zdravih osoba i u 85 slučajnih uzoraka iz krvi osoba oboljelih od karcinoma. Ugrušcima je dodan G-90 u koncentraciji od 1 pg do 100 µg/ml plazme. Vrijeme lize u kontrolnoj skupini bilo je 240 minuta. G-90 u koncentraciji 1 pg/ml plazme skraćuje vrijeme lize u kontrolnoj skupini za 12,5%, a u skupini bolesnika za 34%. G-90 dodan u koncentraciji 100 µg/ml plazme na ugrušak iz krvi zdravih osoba skraćuje vrijeme također za 34%, dok je ugrušak

iz krvi bolesnika liziran u 50% fiziološkog vremena lize (120 minuta). U ovim rezultatima vidimo mogućnost da G-90 postane u euglobulin-skom testu dodatni parametar utvrđivanja malignosti.

05/P18

ODREĐIVANJE GLIKOGENA U TROMBOCITIMA DIJABETIČARA I ZDRAVIH OSOBA

Lj. Ceraj-Cerić Klier¹, A. Lutkić¹, B. Getaldić², B. Raić², V. Altabas³, T. Čabrijan³, B. Kadić⁴

¹ Zavod za kemiju i biokemiju Veterinarskog fakulteta, ² Hematološki laboratorij i

³ Interna klinika KB "Sestre milosrdnice, ⁴ DZ "Novi Zagreb"; Zagreb

Mjerena je količina glikogena u trombocitima dijabetičara obaju spolova i tipa dijabetesa kao i u kontrolnih osoba. Radi se o nastavku ispitivanja glikogena u krvi dijabetičara nakon što je mjerena količina glikogena u eritrocitima. Krv se uzima natašte pa se centrifugira u stolnoj centrifugi 3 minute pri 2 700 %/min. Ponovi se centrifugiranje pod jednakim uvjetima. Dva mililitra plazme bogate trombocitima se centrifugira 20 minuta pri 4 000 %/min da bi se trombociti sedimentirali na dno epruvete. Na sediment se doda 2 ml vode i 2 ml 90%-tnog fenola, promiješa, centrifugira i vodeni sloj odvoji. Postupak se ponovi. Puna krv (1 ml) se razrijedi s 1 ml vode, doda 2 ml 90%-tnog fenola i centrifugira. Odvoji se vodeni sloj koji se ulije u ledeni etanol (-20°C) kao i ekstrakt glikogena iz trombocita pa se ostavi preko noći pri 4°C. Istaloženi glikogen se odredi s antronom. Coulterovim brojačem se broje stanice u krvi i u svakom pripravku plazme. Rezultati određivanja količine glikogena u krvi i trombocitima prikazuje tablica:

	Spol	N	mg glikogena		% od ukupnog glikogena
			u krvi	/10 ⁹ Trc	
IDDM	ž	(2)	49,6	0,046	25,3
IDDM	m	(2)	36,7	0,091	42,3
NIDDM	m	(8)	40,5	0,074	31,1
NIDDM	ž	(9)	39,6	0,089	41,0
Kontrola	m	(11)	39,7	0,055	33,1
Kontrola	ž	(14)	41,7	0,051	32,8

Mjerenja se nastavljaju radi prikupljanja većeg broja podataka, da se vidi razlikuju li se dijabetičari od kontrolnih skupina po količini glikogena u trombocitima.

05/P19

IMMUNOACTIVATION METHOD FOR SPECIFIC DETERMINATION OF PMN-ELASTASE IN PLASMA

S. Domazetovska, M. Bogdanova

Institute of Clinical Biochemistry, Medical Faculty, Skopje, Macedonia

PMN-elastase is a neutral proteinase from lysosomes of polymorphonuclear leucocytes. The release of elastase in circulation is one of the results of inflammatory response. A sensitive, specific and fast immunoassay method to determine the extent of release of elastase was developed by Merck. It is an immunoactivation method.

Material and method: Antibody fragments against human PMN-elastase are covalently bound to peroxidase and produce antibody conjugates. The antibody conjugate and the PMN-elastase in the sample form aggregates. In non-aggregated antibody conjugates, the peroxidase is inhibited. In the aggregates the peroxidase catalyses the oxidation of 4-aminophenazone to quinonimine dye. EDTA plasma samples from 40 healthy adults, 41 samples from newborns, were analysed using Merck test for immunoassay and Photometer Vitalab Microlab Merck at 500 nm, 37°C.

Results:

	Reference values		Precision of method	Accuracy
	Adults	Newborns		
N	40	41	10	98-104 %
X	55 µg/L	51 µg/L	53 µg/L	
SD	18	16	2,5	
CV	32 %	31 %	4,7 %	
range	37-73 µg/L	35-67 µg/L		

Determination of PMN-elastase in plasma is a new parameter for recognizing inflammatory diseases in early stage.

DIJAGNOSTIKA TROMBOCITOPENIJA: PRIKAZ *IN VITRO* AGREGACIJE

B. Pavlović

DZ "Trnje", Zagreb

Tijekom jednogodišnjeg razdoblja na području koje pokriva DZ "Trnje", ustanovili smo pet trombocitopenija *in vitro*. Broj trombocita (Trc) u tim uzorcima bio je od 21 do $26 \times 10^9/L$.

Materijal i metode: Kompletne krvne slike s brojem Trc i trombocitnim indeksima radili smo na 20-parametarskom hematološkom analizatoru SERONO 9020. Uzorci krvi su uzimani s K_3HEDTA kao antikoagulansom. Krvni razmazi tih uzoraka, obojeni uobičajenom MGG metodom, pokazali su da su Trc prisutni u dovoljnom broju, međutim morfološki promijenjeni. Radilo se o aglutiniranim Trc te ih nije bilo moguće brojiti ni indirektnom metodom. Budući da bolesnici nisu imali kliničkih simptoma krvarenja, zaključili smo da se radi o pseudotrombocitopeniji. Cilj našeg daljnjeg ispitivanja bio je otkrivanje hladnih aglutinina. U dva uzorka krvi napravili smo trombokinetiku i ustanovili da se u prve 3 minute stajanjem krvi na sobnoj temperaturi broj Trc smanjio za 50% od početne vrijednosti, dok se nakon 35 minuta u jednom uzorku i nakon 140 minuta u drugom uzorku broj Trc smanjio na $21 \times 10^9/L$. Daljnjim stajanjem uzoraka broj Trc se nije mijenjao.

Zaključak: Na prikazanim slučajevima pokazana je složenost dijagnostike trombocitopenije i potreba za mikroskopskim pregledom krvnog razmaza u svim novootkrivenim trombocitopenijama. Tek nakon toga može se pristupiti diferencijalnoj dijagnostici.

05/P21

ŠIRINA RASPODJELE ERITROCITA PO VOLUMENU KAO PROGNOСТИČKI POKAZATELJ UČINKOVITOSTI LIJEČENJA DEFICITARNIH ANEMIJA

B. Getaldić, V. Stančić, M. Koprčina, S. Handl, B. Raić, P. Kes

Zavod za hematologiju KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Anemije kao najčešća hematološka oboljenja i vrlo često simptom neke druge bolesti, zahtijevaju brzu i diferentnu dijagnostiku, iz čega slijedi pravilni terapijski pristup. Upotrebom hematoloških analizatora postignuta je veća reproducibilnost i preciznost u određivanju eritrocitnih parametara potrebnih za praćenje tijeka liječenja anemija. Širina raspodjele eritrocita po volumenu (RDW) prezentira se u histogramu eritrocita i daje uvid u pojavu novih eritrocitnih podpopulacija. Upravo promjena unimodalne krivulje eritrocita s karakterističnim MCV, značajka je pojave novih podpopulacija eritrocita tijekom liječenja anemija. Cilj našeg ispitivanja bio je utvrditi kolika je primjenljivost RDW kao prediktivnog čimbenika učinkovitosti terapije u bolesnika s deficitarnim anemijama i procijeniti razlike eritrocitnih parametara. Ispitali smo tri skupine bolesnika: 1. skupinu bolesnika sa sideropeničnom anemijom ($n = 26$), 2. skupinu bolesnika s megaloblastičnom anemijom ($n = 15$) i 3. skupinu bolesnika s anemijom u kroničnom bubrežnom zatajenju ($n = 17$). Kako ispitanici iz treće skupine morfološki gledano imaju normocitnu anemiju, ta skupina poslužila nam je kao, uvjetno rečeno, kontrolna u odnosu na skupine s deficitarnim anemijama. Rezultati našeg ispitivanja prije početka terapije i nakon mjesec dana statistički obrađeni Studentovim t-testom ukazuju da postoje statistički značajne razlike u vrijednostima hemoglobina i RDW u sve tri skupine ispitanika, prije i tijekom terapije, dok su se vrijednosti MCV razlikovale samo u prve dvije skupine. Može se zaključiti da je RDW osjetljiviji prediktivni parametar od MCV u procjeni učinkovitosti terapije deficitarnih anemija.

05/P22

OTKRIVANJE MINIMALNE OSTATNE BOLESTI KOD BOLESNIKA S KRONIČNOM MIJELOIČNOM LEUKEMIJOM

R. Zadro, D. Kralj, R. Strašek, V. Hitrec¹, V. Bogdanić², D. Nemet², B. Labar², A. Stavljenić Rukavina

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, ¹ Klinika za dječje bolesti i ² Zavod za hematologiju Klinike za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Otkrivanje translokacije 9;22, tipične za kroničnu mijeloičnu leukemiju, izvodi se citogenetskim dokazivanjem Philadelphia kromosoma te analizom bcr/abl mRNA pomoću lančane reakcije polimeraze (PCR). Cilj rada bio je prikazati uporabu PCR analize u otkrivanju minimalne ostatne bolesti kod bolesnika s kroničnom mijeloičnom leukemijom, usporediti rezultate citogenetske analize s rezultatima PCR analize te pratiti uspjeh različitih oblika terapije. Bolesnici su podijeljeni u dvije skupine: 1. pod konvencionalnom terapijom i 2. nakon transplantacije koštane srži. Ukupna RNA izolirana je iz koštane srži po metodi Chomzynskija i Sacchija, a *nested* PCR izveden je po metodi Hughesa i suradnika. Dobiveni rezultati pokazuju da je PCR analiza bcr/abl mRNA osjetljiva i specifična metoda za otkrivanje i praćenje minimalne ostatne bolesti kod kronične mijeloične leukemije na molekularnoj razini. Kod bolesnika pod konvencionalnom terapijom, PCR otkriva minimalnu ostatnu bolest bolje nego citogenetika. Kod transplantiranih bolesnika negativan nalaz PCR analize i citogenetike potvrđuje hematološku remisiju, a transplantacija koštane srži je metoda izbora za uspješnu terapiju.

04/P1

FENOTIPIZACIJA α_1 -ANTITRIPSINA U ISPITANIKAMA S BOLEŠĆU JETRE

A. Tešija, A. Zubčić, E. Topić, I. Žuntar

Klinički zavod za kemiju KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Nedostatak α_1 -antitripsina (AAT) je autosomni nasljedni poremećaj, kojem je svojstvena snižena koncentracija AAT u serumu, visok rizik za razvoj emfizema i nešto manji rizik za razvoj bolesti jetre u djece i

odraslih. Molekularna osnova poremećaja leži u mutaciji jedne baze u genu za AAT koji se nalazi na kromosomu 14. Fenotip AAT određen je kodominantnom ekspresijom dvaju roditeljskih alela. Najčešći deficijentni aleli su PI Z alel sa znatno sniženom koncentracijom AAT u serumu (15% u odnosu na normalan PI M alel) i PI S alel s koncentracijom AAT 60% u odnosu na PI M alel. Cilj ovog rada bio je ispitati učestalost AAT deficijentnih alela u ispitanika s bolešću jetre u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih dobrovoljaca. Fenotip AAT određen je u 53 uzorka seruma skupine ispitanika s bolešću jetre (42 odrasla i 11 djece do 14 godina) i 32 uzorka seruma kontrolne skupine. Za određivanje AAT fenotipova korištena je metoda izoelektričnog fokusiranja na Ampholyn-poliakrilamidnim gelovima, u pH rasponu 4,0 - 5, 0 (Pharmacia LKB). Katalitička koncentracija AST, ALT, ALP i GGT te koncentracija bilirubina određeni su u uzorcima seruma odraslih ispitanika standardnim laboratorijskim metodama, dok su zbog ograničenog volumena uzorka u dječjih ispitanika određeni samo AST i ALT. Koncentracija AAT određena je u svim uzorcima seruma metodom radijalne imunodifuzije. U skupini ispitanika s bolešću jetre utvrđeni su sljedeći fenotipovi: kod odraslih ispitanika tri PI MS fenotipa (sva tri su kronični alkoholičari) i 39 PI MM fenotipa, a u podskupini djece tri PI MZ, jedan PI ZZ i sedam PI MM fenotipa. U odraslih ispitanika s bolešću jetre vrijednost AST je povišena u 78% uzoraka, ALT u 45%, bilirubina u 86%, ALP u 38% i GGT u 57% uzoraka, dok je vrijednost AAT snižena u 12% uzoraka iz ove skupine. U uzorcima seruma djece s bolešću jetre vrijednost AST je povišena u 81%, a ALT u 54%, dok je vrijednost AAT snižena u 36% uzoraka. U kontrolnoj skupini utvrđena su dva PI MS i trideset PI MM fenotipa, a koncentracija AAT u serumu snižena je u 15% uzoraka. Parametri bolesti jetre, u ovoj skupini, u granicama su referentnih vrijednosti. U ovom ispitivanju, Z deficijentni alel (u homozigotnom i heterozigotnom obliku) nađen je samo u skupini ispitanika s klinički i laboratorijski dokazanom bolešću jetre, dok je S deficijentni alel prisutan i kod zdravih ispitanika i kod ispitanika s bolešću jetre alkoholne etiologije, u podjednakom omjeru.

04/P2

METODA KVANTITATIVNOG ODREĐIVANJA IGFBP 3 U SERUMU: PARAMETAR U DIJAGNOSTICI I PRAĆENJU AKROMEHALIJE

R. Krpan, J. Marout, I. Petek, B. Mildner, B. Vizner

KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

IGF-I i IGF-II vezani su u serumu za proteine nosače (IGFBP). Do danas je poznato šest proteina nosača (IGFBP 1 - IGFBP 6). IGFBP 3 najznačajniji je protein nosač u serumu i u novije vrijeme se može kvantitativno odrediti. U radu je prikazana RIA metoda kvantitativnog određivanja IGFBP 3 u serumu (Diagnostic Systems Laboratories). Četrdeset i pet bolesnika s akromegalijom podijeljeno je u tri skupine (A, B i C). U sve tri skupine kvantitativno su određeni i međusobno uspoređeni parametri: GH (hormon rasta), IGF-I i IGFBP 3. U skupini A obrađeno je 13 bolesnika prije operacije i nađene su sljedeće srednje vrijednosti praćenih parametara: GH 21,89 ng/ml, IGF-I 4 151 IJ/L i IGFBP 3 10 127 ng/ml. U skupini B obrađeno je 11 bolesnika kod kojih je došlo do recidiva bolesti nakon operacije. Srednje vrijednosti praćenih parametara bile su: GH 6,62 ng/ml, IGF-I 3 369 IJ/L i IGFBP 3 7 034 ng/ml. U skupini C bili su izliječeni bolesnici nakon operacije kod kojih su srednje vrijednosti praćenih parametara bile sljedeće: GH 1,83 ng/ml, IGF-I 1 985 IJ/L i IGFBP 3 4 831 ng/ml. Usporedbom IGF-I i IGFBP 3 u pojedinim skupinama zapažena je značajna korelacija u sve tri skupine. U skupini A ($n = 13$) $r = 0,683$, u skupini B ($n = 11$) $r = 0,735$ i u skupini C ($n = 22$) $r = 0,537$. Značajna korelacija između GH i IGF-I te GH i IGFBP 3 nije dokazana. Jednokratno kvantitativno određivanje GH u serumu nije pouzdan parametar u praćenju akromegalije pošto se GH ne luči jednakomjerno tijekom 24 sata. Mnogo pouzdaniji parametar je IGFBP 3 koji može zamijeniti kvantitativno određivanje IGF-I u serumu.

04/P3

RESTRIKCIJSKI POLIMORFIZAM EKSONA 4 HEPATOCITNOG ČIMBENIKA RASTA

I. Žuntar, E. Topić, N. Antoljak

Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Hepatocitni čimbenik rasta (HGF) je citokin s mnogobrojnim ulogama. Sintetiziraju ga razne stanice, a najvećim djelom Ito, Kupferove, endotelne, fibroblasti i stanice u Peyerovim pločicama. HGF mRNA dokazana je u gotovo svim tkivima uključujući jetru, bubrež, slezenu, timus, štitnjaču i placentu. Regulira rast, razvoj, pokretljivost i morfogenezu stanica. Glavni je čimbenik regeneracije jetre. Također ima svojstvo angiogeneze *in vitro* te reguliranja lučenja proteina akutne faze upale i α -fetoproteina u kulturi stanica tumora. Izlučuje se u neaktivnom obliku kao jednolančana molekula od 728 aminokiselina. Aktivni HGF nastaje proteolitičkim cijepanjem i sastoji se od α (69 kD) i β (34 kD) lanca. Učinak HGF ostvaruje se vezanjem na specifični tirozin-kinazni receptor. Gen za HGF smješten je na kromosomu 7, lokus q11.1-21 i sastoji se od 18 eksona i 17 introna približne dužine od 70 kb. HGF sadrži strukturne domene petlje od kojih je svaka kodirana s dva eksona. Eksoni 4 i 5 kodiraju prvu strukturnu domenu preko koje se ostvaruje veza s receptorom. Budući da mutacije na visokokonzerviranim domenama uglavnom vode ka patološkom procesu, naš cilj bio je ispitati polimorfizam eksona 4 ljudskog HGF. DNA je izolirana makrometodom iz 70 uzoraka krvi, 40 zdravih dobrovoljaca i 30 ispitanika s bolešću jetre. Uzorku DNA koncentracija je određena spektrofotometrijski na osnovu optičke gustoće na 260 nm te ispitana kvaliteta elektroforezom s gelom uronjenim u pufer (Pharmacia Biotech) na 0,3%-tnoj MP-agarozu. Ulomak DNA od 214 pb umnožen je PCR tehnikom na aparatu s pouzdanim profilom grijanja i hlađenja (Gene E thermal cycler, Techne). Nakon provjere uspješnosti PCR na 1,5%-tnoj MP-agarozu, umnoženi ulomak od interesa cijepan je restrikcijskim enzimom Mva I (Boehringer Mannheim) dajući fragmente od 136 i 78 pb. Cijepanje smo provjerili elektroforezom na 3%-tnoj (4%) NuSieve agarozu (FMC BioProducts) te 12%-tnom (15%) PAG uz odgovarajući molekularni biljeg (Boehringer Mannheim). Preliminarnim ispitivanjem pronašli smo optimalne uvjete PCR reakcije i elektroforetske tehnike otkrivanja za naš ulomak od interesa.

04/P4

NEUOBIČAJENI NALAZ GANGLIOZIDA U BOLESNIKA SA ZELLWEGEROVIM SINDROMOM

K. Fumić¹, R. Rieger², A. Rössler², E. Paschke², A. Stavljenić Rukavina¹

¹ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb;

² Sveučilišna dječja bolnica Graz, Austrija

Zellwegerov sindrom (cerebrohepatorenalni sindrom; ZS) je genetski poremećaj biosinteze organele peroksizosoma. Posljedica toga su poremećaji nekoliko važnih biokemijskih procesa, kao što su razgradnja dugolančanih masnih kiselina i biosinteza plazmalogena. U kulturi fibroblasta bolesnika sa ZS izrazito je snižena količina plazmalogena, što uzrokuje smanjenu viskoznost membrane i povećan unos egzogenih fosfolipidnih vezikula u fibroblaste. Prikazujemo promjene gangliozidnog sastava seruma, fibroblasta i bubrega u bolesnika koji je umro u dobi od 9 tjedana s kliničkim i biokemijskim pokazateljima ZS. U svim tkivima primijećeno je izrazito povećanje gangliozida GD3 uz normalnu ekspresiju GM3 te promjene u sastavu složenih gangliozida. Ta zapažanja su u skladu s pokusima na kulturi ZS fibroblasta sa ¹⁴C-galaktozom koji pokazuju neuobičajeno prevladavanje "b - serije" gangliozida. Zbog toga smatramo da su promjene u metabolizmu sfingolipida još jedan od dodatnih metaboličkih pokazatelja ZS sindroma.

04/P5

PROCJENA RANIH OŠTEĆENJA GLOMERULARNE MEMBRANE KOD LITOTRIPSije

D. Matišić, D. Čvorišćec

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Poznato je da litotripsija - mrvljenje bubrežnih kamenaca udarnim valovima - uzrokuje reverzibilno oštećenje glomerularne membrane. Ta se oštećenja događaju na subkliničkoj razini i ne mogu se dokazati uobičajenim laboratorijskim pretragama. Stoga je potrebno za njihovo otkrivanje koristiti osjetljivije laboratorijske pretrage, kao što su određivanje koncentracije IgG i albumina. Mjerenje koncentracije navedenih biljega proteinurije dan prije, dan i tjedan poslije litotripsije

izvedeno je kod 20 bolesnika u drugom jutarnjem urinu. Svi bolesnici imali su normalnu bubrežnu funkciju prije litotripsije. Postupak je izveden Lithostarom (Siemens) pri jačini od 17,2 kV uz 2 000 udarnih valova. Kod 85% bolesnika zamijećen je porast koncentracije IgG i albumina nakon litotripsije te vraćanje na vrijednosti prije litotripsije već nakon tjedan dana. Navedeno ispitivanje pokazuje da su IgG i albumin osjetljivi biljezi ranih oštećenja glomerularne membrane.

04/P6

MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA DUCHENNE/BECKEROVE MIŠIĆNE DISTROFIJE

J. Sertić¹, N. Barišić², M. Šoštarko³, N. Canki-Klain³, A. Stavljenić
Rukavina¹

¹ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC
Zagreb,

² Klinika za dječje bolesti Zagreb, ³ Klinika za neurologiju KBC Zagreb

Duchenne/Beckerova mišićna distrofija (DMD/BMD) je X-vezan recesivni poremećaj uzrokovan mutacijama gena citoskeletnog proteina distrofina, smještenog na unutrašnjoj površini sarkoleme. Gen koji kodira distrofin zauzima 2 400 kb kromosoma, a ima 79 eksona. Heterogenost fenotipova je uvjetovana ekspresijom gena s posebnim osvrtom na promotorsku regiju i kodirajuće eksone N-terminalne regije. Cilj ovog rada je prikaz molekularne dijagnostike gena i proteina te povezanost genotipova i fenotipova. Analiza je provedena u 70 bolesnika. Količina i struktura distrofina dobivena biopsijom mišića je analizirana *Western-blot* tehnikom, a distrofin gen *multiplex PCR*. Rezultati dobiveni analizom eksona genomske DNA prema Chamberlainu i Beggsu otkrivaju da je sveukupna učestalost delecija u 50% ispitanih bolesnika. Delecije gena klasificirane prema broju i lokaciji eksona su varijabilne te slične rezultatima drugih europskih zemalja. Mutacijski efekt translacije proteina, utvrđen imunokemijski s dva monoklonska protutijela (Dys 1 i Dys 2), otkriva kliničku sliku Duchenne/Beckerova fenotipa. Delecijski genotip i kvantifikacija distrofina omogućuju otkrivanje bolesnika i praćenje bolesti.

04/P7

EVALUATION OF PLASMA VISCOSITY LEVEL IN PATIENTS WITH DIABETIC RETINOPATHY

V. Dimovska-Jordanova, A. Pop Stefanova

Clinic of Eye Diseases, Institute of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine,
Skopje, Macedonia

The increased plasma viscosity level is one of generally accepted parameters that is almost constant in patients with diabetes mellitus. In order to estimate this fact in patients with clinically verified diabetic retinopathy (DR), there has been carried out a prospective viscometric study in 87 patients with different stages of DR. The participants were matched with 50 healthy individuals who took part in the study as a control group. The purpose of the study was to estimate possible correlation between plasma viscosity and diabetic retinopathy. The participants were divided into 3 groups: I - mild to moderate nonproliferative DR (n = 35), II - severe and very severe DR (n = 25), and III - proliferative DR (n = 27). The data emerging from the study have shown increased plasma viscosity values as follows: 24 patients (68,5%) in group I, 18 patients (72,0%) in group II, and 20 patients (74,0%) in group III. In general, elevated plasma viscosity was registered in 62 patients (71,26%) who took part in the study. Conclusion: Patients with clinically verified DR have increased levels of plasma viscosity. Patients with more advanced stage of DR have more severe and progressive elevation of plasma viscosity.

04/P8

BIOKOMPATIBILNOST MEMBRANA OD CELULOZNOG ACETATA I DIACETATA: UKLANJANJE β_2 -MIKROGLOBULINA

I. Dujmov, D. Ljutić, B. Mladina

KB Split

β_2 -mikroglobulin (β_2 M), protein relativne molekularne mase 11 800, je od značaja za razvoj amiloidoze, jedne od najtežih komplikacija u bolesnika na programu liječenja dugotrajnom hemodijalizom. Poznato je da na desetostruko povišene vrijednosti ove tvari u dijaliziranih

bolesnika može utjecati vrsta dijalizne membrane te je cilj ovog rada bio ispitati kinetiku $\beta_2\text{M}$ tijekom postupka dijalize s dijalizatorima Plivadial Altra Nova-140 (Plivadial AN-140, membrana od celuloznog acetata) i Plivadial Altra Flux-140 (Plivadial AF-140, membrana od celuloznog diacetata) u iste skupine ispitanika. Naime, pretpostavka je da bi primjena biokompatibilnih dijalizatora (koji ne uzrokuju povišenje koncentracije $\beta_2\text{M}$) i onih sa sposobnošću uklanjanja $\beta_2\text{M}$ mogla usporiti, odnosno odgoditi nastanak bolesti. Ispitivanje je provedeno u 6 uremičara (1 žena i 5 muškarca, starih 34 - 73 godine), koji su na programu dijalize 2. - 8 godina. Dijalizirani su aparatom Fresenius 228C triput tjedno po 4 sata postupkom acetatne dijalize. $\beta_2\text{M}$ (MEIA metoda na IMX - Abbott) određivan je na početku, zatim 15, 120 i 240 minuta postupka hemodijalize. Određivane su i vrijednosti leukocita, trombocita (Tehnicon H-2), ureje, kreatinina, fosfata (Hitachi 704), kalija (IL 943), C3 i C4 komplementa (Behring nefelometar) iz krvi prije i nakon hemodijalize. Prvo je proveden postupak s dijalizatorom Plivadial AN-140, a 10 dana poslije s dijalizatorom Plivadial AF-140. Značajnost dobivenih razlika procjenjivana je prikladnim parametrijskim i neparametrijskim testovima; značajnim se smatrao $p < 0,05$. Plivadial AF-140 značajno je više snižavao vrijednosti $\beta_2\text{M}$ u serumu od Plivadiala AN-140 ($p = 0,01$). Plivadial AN-140 i Plivadial AF-140 značajno su uklanjali i ureju, kreatinin, kalij i fosfate iz krvi ispitanika. Nije zabilježena značajna razlika kod C3, C4, leukocita i trombocita prije i nakon dijalize. Rezultati ovog ispitivanja ukazuju da Plivadial AN-140 i Plivadial AF-140 posjeduju biokompatibilne osobine i da značajno odstranjuju $\beta_2\text{M}$ iz krvi uremičara tijekom hemodijalize.

04/P9

METODA IMUNOBLOTA U OTKRIVANJU AUTOANTITIJELA U BOLESNIKA S AUTOIMUNIM BOLESTIMA JETRE

A. Krstulović¹, R. Ostojić², B. Vucelić², B. Malenica¹

¹ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb,

² Klinika za unutrašnje bolesti KBC Zagreb

Značajke autoimune kronične upalne bolesti jetre su patohistološki prepoznatljiva periportalna upala i nalaz autoantitijela na glatku muskulaturu (SMA), mikrosomski antigen jetre i bubrega (anti-LKM-1),

antigen jetre i gušterače (anti-LP) i autoantitijela na mitohondrijske antigene (AMA-M2) u serumu. Metoda indirektne imunofluorescencije na prikladnim supstratima je uobičajena probna metoda za otkrivanje pojedinih autoantitijela. Međutim, zbog relativne nepouzdanosti ove metode odnedavno se prednost daje metodi *imunoblota* koja omogućuje preciznije otkrivanje karakterističnih autoantitijela (anti-LKM-1, anti-LP, AMA-M2) za razlikovanje pojedinih vrsta autoimunog hepatitisa. Analizirali smo 54 seruma bolesnika s kroničnim upalnim bolestima jetre. Sukladno postavljenim dijagnozama skupinu je činilo 9 bolesnika s primarnom bilijarnom cirozom (PBC), 28 bolesnika s kroničnim hepatitisom (HC), 6 bolesnika sa cirozom jetre (CH) i 11 bolesnika s raznim drugim oštećenjima jetre. Anti-LKM-1 autoantitijela našli smo u 11% bolesnika s HC (3/28) i PBC (1/9), a anti-LP autoantitijela u 21% bolesnika s HC (6/28) i 11% bolesnika s PBC (1/9). Nema ih u bolesnika s CH i raznim drugim bolestima jetre. AMA-M2 autoantitijela našli smo u gotovo svih bolesnika s PBC (8/9; 89%), u 50% (3/6) bolesnika s CH i 25% (7/28) bolesnika s HC. Ovom se metodom češće otkrivaju AMA-M2 (32% prema 21%) i anti-LKM-1 (7% prema 2%) autoantitijela nego li indirektnom imunofluorescencijom.

04/P10

RIBA HCV 3.0 SIA: POTVRDNI TEST U OTKRIVANJU PROTUTIJELA NA HEPATITIS C VIRUS

M. Juričić, A. Stavljenić Rukavina, D. Čvorišćec

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Hepatitis C virus je najčešći uzrok posttransfuzijskog hepatitisa. Kloniranjem HCV genoma 1988. godine otvoren je put dijagnostici. Testovi prve generacije su otkrivali anti HCV protutijela prema C_{100-C} nestrukturinom polipeptidu, dok se sada testovima treće generacije otkrivaju C₂₂₋₂₃, C₂₀₀ i NS₅ rekombinantni proteini. Budući da postoji rizik lažno pozitivnih rezultata zbog nespecifičnog vezanja ljudskog IgG, pozitivne rezultate treba ponovno analizirati testom RIBA HCV 3.0 SIA. Prikazani su rezultati ispitivanja 275 uzoraka seruma bolesnika koji su testom ORTHO HCV 3.0 ELISA bili pozitivni na anti HCV. Potvrdnim testom nađeno je 19 negativnih rezultata na anti HCV (6,9%). Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da je u dijagnostici anti HCV potrebno uz kvalitativni EIA test raditi i potvrdni test osjetljivijom tehnikom RIBA HCV 3.0 SIA.

04/P11

NAŠA ISKUSTVA U DIJAGNOSTICI DJEČJIH ALERGIJA

M. Kelez-Lauc, A. Valčić, J. Mišulić

Odjel za laboratorijsku dijagnostiku Opće bolnice Zadar

Cilj ispitivanja: U protekloj godini dana obradili smo djecu sa simptomima alergijskih rinitisa i recidivirajućih opstruktivnih bronhitisa. Djeca su testirana Prickovim kožnim testom na dvadesetak inhalacijskih i nutritivnih alergena, a u laboratoriju su određivani ukupni IgE i specifični IgE na alergene pozitivne kod Prickovog testa.

Materijal i metode: Ukupni IgE smo određivali u serumu djece ($n = 500$; starosne dobi do 15 godina) MEIA metodom na IMx (Abbott), a specifične IgE u serumu metodom Phadezym RAST (Pharmacia).

Zaključak: Utvrdili smo veliku podudarnost Prickovog kožnog testa, razine specifičnih IgE i težine simptoma bolesti, dok koncentracija ukupnog IgE ne prati uvijek prethodno navedene parametre.

04/P12

ODREĐIVANJE EOZINOFILKATIONSKEG PROTEINA

Ž. Bukovec, M. Petek

Endokrinološki laboratorij KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Eozinofilkationski protein (ECP) jedan je od nekoliko proteina koje luče eozinofilne stanice. Mjerenje koncentracije ECP u serumu prihvaćeno je kao jedan od parametara u dijagnozi i praćenju uspješnosti terapije alergijske astme. Određivanja se obavljaju s reagensima ECP-RIA (Pharmacia LKB). Vrijednosti standardne krivulje su između 2 i 200 $\mu\text{g/L}$. Usporedbom standardnih krivulja ($n = 13$) te njihovom obradom u RIA CALCU nađena je ED - 50 (očekivana koncentracija kod 50% vezivanja) $38,179 \pm 4,289$. Koeficijent varijacije iznosi 11,2%, dok je nagib pravca 0,383. Utvrđene su normalne vrijednosti do 20 $\mu\text{g/L}$. U periodu od 1994. do 1996. godine obrađeno je 1 018 seruma, uglavnom djece starosti do 14 godina. Od ukupnog broja, 600 rezultata bilo je povišeno (iznad 20 $\mu\text{g/L}$), a 141 rezultat bio je veći od 60 $\mu\text{g/L}$. Ukupan broj povišenih rezultata većih od 20 $\mu\text{g/L}$ je 58,94%, dok je 13,85% veće od 60 $\mu\text{g/L}$.

04/P13

AKTIVNOST SUPEROKSID-DISMUTAZE U DJECE S ASTMOM

K. Barišić, G. Ferenčak, S. Dodig, M. Raos, M. Medar-Lasić, I. Čepelak

Farmaceutsko-biokemijski fakultet i Specijalna bolnica za bolesti dišnog sustava
djece i mladeži Srebrnjak, Zagreb

Najvažniji izvor slobodnih radikala *in vivo* su biokemijske redoks reakcije u kojima sudjeluje kisik, a koje igraju važnu ulogu u mnogim fiziološkim procesima, primjerice, stvaranje slobodnih radikala važna je obrambena funkcija fagocitnih stanica. Slobodni radikali izrazito su toksični za stanice tkiva. Oni mogu izazvati oštećenje tkiva, kontrakcije glatke muskulature, povećanje propustljivosti krvnih žila te bronhijalnu hiperosjetljivost. Svi su ovi učinci potencijalno relevantni u bronhijalnoj astmi. Premda pluća posjeduju različite antioksidanse (superoksid-dismutazu, SOD; katalazu; glutathion-peroksidazu, glutathion, metalotioneine) čija je zadaća ukloniti ili umanjiti štetne učinke kisikovih radikala, povećano stvaranje oksidansa može prerasti kapacitet antioksidativnog sustava i dovesti do oksidativnog oštećenja stanica ili tkiva. Novija su ispitivanja ukazala na povezanost pogoršanja u astmi kao i smanjenja volumena ekspirije u prvoj sekundi (FEV1) s povećanjem količine superoksidnog aniona (SO). Ovi podaci sugeriraju aktivnu ulogu kisikovih radikala u astmi i njihovu povezanost s bronhijalnom opstrukcijom. Cilj ispitivanja bio je utvrditi stanje antioksidativnog sustava u astmi dječje dobi. S tim u vezi mjerena je katalitička koncentracija SOD u eritrocitima i leukocitima djece oboljele od bronhijalne astme. Rezultati ispitivanja ukazali su da je katalitička koncentracija SOD statistički značajno snižena kod bolesnika s astmom u odnosu na kontrolni uzorak. Skupina djece oboljele od astme podijeljena je prema kliničkoj slici u dvije podskupine: podskupina s teškom bronhoopstrukcijom te podskupina s umjerenom bronhoopstrukcijom. U obje podskupine utvrđena je niža aktivnost SOD, ali samo u podskupini s teškom bronhoopstrukcijom sniženje aktivnosti SOD statistički je značajno. Rezultati ukazuju na smanjenu sposobnost uklanjanja SO aniona u djece oboljele od astme zbog snižene aktivnosti SOD. Neravnoteža između oksidativnog i antioksidativnog sustava, oksidativni stres, važan je čimbenik u brojnim patološkim procesima među kojima je i bronhijalna astma. Zadatak budućih ispitivanja je utvrditi relevantnost, s dijagnostičkog i terapijskog aspekta, stanja i ostalih čimbenika antioksidativnog sustava stanice u astmi.

06/P1

PRAĆENJE VRIJEDNOSTI SPECIFIČNOG ANTIGENA PROSTATE KOD BOLESNIKA S BENIGNOM HIPERPLAZIJOM PROSTATE

V. Krajnović, Đ. Lučić, V. Grgić

Opće bolnica "Dr Josip Benčević", Slavonski Brod

Početkom 1995. godine počeli smo određivati tumorske biljege u našem laboratoriju. Jedan od biljega koje smo određivali bio je i specifični antigen prostate (PSA), glikoprotein M_r 34 kD koji proizvodi prostatično tkivo, bilo u benignim ili malignim bolestima. Za razliku od mnogih tumorskih biljega, PSA je specifičan za prostatu. Uloga PSA je višestruka. Koristi se prvenstveno za praćenje terapije i postoperativnog tijeka bolesti. Zbog velike osjetljivosti također ima ulogu u postavljanju primarne dijagnoze. U ovom radu prikazali smo povećanje broja pretraga tijekom 18 mjeseci. Od ukupnog broja obrađenih bolesnika odabrali smo one kod kojih je dijagnosticirana benigna hiperplazija prostate (BPH), statistički obradili dobivene rezultate te ih usporedili s navodima iz literature. Za određivanje vrijednosti PSA korišten je serum bolesnika smrznut na -20°C . Uzorci su analizirani jedanput tjedno. Za određivanje PSA korišten je analizator IMx (Abbott), kojim se analit određuje na načelu MEIA tehnike. Tijekom 18 mjeseci broj zahtjeva za određivanjem PSA se učestverostručio. Analizom dobivenih vrijednosti kod bolesnika s BPH vidimo da su one u suglasju s navodima iz literature. Određivanje PSA na IMx se pokazalo kao vrlo koristan i osjetljiv test za praćenje promjena u prostatičnom tkivu.

06/P2

JETRENI I KOŠTANI IZOENZIM ALKALNE FOSFATAZE U SERUMU

B. Sokolić, I. Čepelak¹, R. Petrinović², J. Demirović², B. Kunović³, B. Lehpamer, B. Petres

Klinika za infektivne bolesti "Dr F. Mihaljević", ¹ Farmaceutsko-biokemijski fakultet, ² Klinika za tumore, ³ DZ "Centar", Zagreb

Gotovo polovina kliničkih zahtjeva u slučajevima povećane katalitičke koncentracije alkalne fosfataze (ALP) u serumu odnosi se na razdvajanje i kvantifikaciju jetrenog i koštanog izoenzima ALP. Razdva-

janje ova dva izoenzima i kvantitativna identifikacija te niska osjetljivost i specifičnost većine dosadašnjih postupaka nije zadovoljavajuća u tu svrhu. Cilj rada bio je razraditi i optimirati elektroforetski postupak razdvajanja izoenzima ALP na celuloza-acetatu, uz primjenu lektina (Wheat germ lectin, Sigma) te odrediti vrijednosti jetrenog i koštanog izoenzima ALP u muškoj, ženskoj i dječjoj populaciji. Ispitivali smo 90 seruma odraslih osoba (43 muškarca i 47 žena) u dobi od 21. do 81. godine te 23. djece u dobi od 1. do 14 godina. Dobiveni su sljedeći rezultati ($\bar{x} \pm 2$ SD) za muškarce: jetreni - $71,6 \pm 26,7$ U/L (50,7 18%), koštani - $69,6 \pm 37,8$ U/L ($49,3 \pm 18\%$); za žene: jetreni - $55,9 \pm 22,5$ U/L ($45,6 \pm 15,9\%$), koštani - $66,6 \pm 33,1$ U/L ($54,4 \pm 15,9\%$); za djecu: jetreni - $70,3 \pm 45,5$ U/L ($15 \pm 7,8\%$), koštani - $387 \pm 137,3$ U/L ($85 \pm 7,8\%$). Histogrami katalitičkih koncentracija ukupne ALP te jetrenog i koštanog izoenzima ALP pokazuju da raspodjele slijede Gaussovu krivulju. Ispitivali smo i 35 seruma bolesnica s malignom bolesti dojke s ili bez metastaza u aksilarnim limfnim čvorovima te urednim jetrenim nalazima. Dokazali smo da iste imaju 44,5% više katalitičke koncentracije jetrenog izoenzima ($p < 0,001$) u odnosu na zdrave žene. Povećane katalitičke koncentracije jetrenog izoenzima mogle bi ukazivati na pojavljivanje metastaza u jetri.

06/P3

ODREĐIVANJE MONOKLONSKIH PROTEINA KVANTITATIVNIM I ELEKTROFORETSKIM TEHNIKAMA

**M. Fijačko, J. Wagner, N. Cetina, J. Pavela, K. Paradinović, S. Mendler,
D. Kozmar**

Odjel za medicinsku biokemiju KB Osijek

Identifikacija monoklonskih proteina je neophodna u dijagnostici multiplog mijeloma, makroglobulinemije Waldenström i bolesti laganih lanaca. Imunoelektroforeza je dugo bila metoda izbora za identifikaciju monoklonskih proteina, a danas je to imunofiksacija. Monoklonske proteine pokušavalo se identificirati i kvantitativnom analizom, tj. određivanjem koncentracije IgA, IgG, IgM i laganih lanaca imunoglobulina. U radu je analizirana mogućnost identifikacije monoklonskih gamapatija isključivo kvantitativnom analizom i kombinacijom kvantitativne analize i elektroforetskih tehnika: imuno-elektroforeze i imuno-fiksacije. Analizirana su 22 seruma s monoklonskim proteinom: IgG

(n = 15), IgA (n = 2), IgM (n = 2). Kvantitativnom analizom ispravno je dijagnosticirano 15/22 (68%) monoklonskih proteina, a 7/22 (22%) zahtjevala su obradu elektroforetskim tehnikama, što je u skladu s podacima iz literature. Klasifikacija teških lanaca imunoelektroforezom uspješna je u 15/22 (68%) slučajeva, a imunofiksacijom u 20/22 (91%) slučaja. Tipizacija monoklonskih proteina imunoelektroforezom uspješna je u 16/22 (73%) slučajeva, a imunofiksacija u 20/22 (91%) slučaja. Dva slučaja (9%) nisu razriješena. U odnosu prema imunoelektroforezi, imunofiksacija je osjetljivija i superiornija metoda za klasifikaciju i tipizaciju monoklonskih proteina.

06/P4

VRIJEDNOSTI SPECIFIČNOG ANTIGENA PROSTATE I PROSTATIČNE KISELE FOSFATAZE U SERUMU BOLESNIKA S TUMOROM PROSTATE

T. Banek, Lj. Banek¹, M. Grebenar², R. Heinzl³

¹ Zavod za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta, Zagreb; ² Odjel za nuklearnu medicinu i ³ Odjel za patologiju KB "Dubrava", Zagreb

Karcinom prostate spada u česta maligna oboljenja u muškaraca pa se neprestano usavršavaju brojne dijagnostičke metode u cilju ranog otkrivanja ove bolesti. Tumorski biljeg za karcinom prostate može biti tkivno specifičan antigen, PSA (specifičan antigen prostate) i enzim, PAP (prostatična kiselna fosfataza). Specifičan antigen prostate, glavni biljeg, je sekrecijski enzim (serin-proteaza) epitelnih stanica acinusa i kanala prostatične žlijezde, dok je PAP, sekundarni biljeg, glikoprotein, također proizvod epitelnog tkiva prostate. Zadatak ovog rada bio je utvrditi pouzdanost tumorskih biljega za karcinom prostate u dijagnozi navedenog tumora i usporediti rezultate njihove koncentracije u serumu prema patohistološkoj dijagnozi. U 62 muškarca (u dobi od 52. do 81. godine starosti) sa sumnjom na karcinom prostate određeni su PSA i PAP u serumu. Bolesnici su prema PHD, koja je postavljena na osnovu tkiva dobivenog biopsijom, TUR ili resekcijom prostate, svrstani u: I skupina - glandularna hiperplazija (n = 32; 51,6%), II skupina - atipična hiperplazija (n = 6; 9,7%), III skupina - karcinom prostate (n = 24; 38,7%). Koncentracije PSA i PAP u serumu određene su radioimunološki (Byk-Sangtec Diagnostica). Za I skupinu vrijednosti PSA iznosile su 4,1 - 15,4 ng/ml (x = 9,75 ng/ml), a PAP 1,8 - 3,6 ng/ml (x = 2,7 ng/ml), dok u II skupini vrijednosti PSA iznosile

su 9,4 - 21,3 ng/ml ($x = 15,35$ ng/ml), a PAP 2,2 - 4,3 ng/ml ($x = 3,25$ ng/ml). U III skupini dobivene su vrijednosti PSA 8,3 - 125 ng/ml ($x = 66,65$ ng/ml), dok su vrijednosti PAP iznosile 2,7 - 54,2 ng/ml ($x = 28,45$ ng/ml). Može se zaključiti da je određivanje PSA u serumu, zasebno ili u kombinaciji s određivanjem PAP u serumu, vrlo korisno kao tumorski biljeg za karcinom prostate. Rano otkrivanje karcinoma prostate bitno poboljšava tijek i ishod ove bolesti.

06/P5

ANALIZA STANIČNOG CIKLUSA TUMORSKIH STANICA RAČUNALSKIM PROGRAMOM ModFIT LTTM

L. Bilić-Zulle¹, B. Užarević², M. Krašević³, M. Marušić²

¹ Zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Rijeka, ² Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb, ³ Klinika za patologiju Medicinskog fakulteta u Rijeci

Analiza parametara staničnog ciklusa tumorskih stanica protočnom citometrijom primjenom novog računalskog programa ModFIT LTTM (c 1995 Verity Software House, Inc.) postala je vrlo točna, ponovljiva i brza. Do sada su postojali drugi programi (CONSORT 30, CellFit) s ograničenim mogućnostima analize, posebice kod određivanja udjela stanica u S-fazi staničnog ciklusa aneuploidnih uzoraka ili većeg zagađenja raspadnutim stanicama. ModFIT LTTM je računalski program isključivo namijenjen analizi sadržaja DNA, za razliku od Cellquest programa koji se općenito rabi za mjerenje i analizu staničnih biljega na protočnom citometru. Sadržaj DNA mjeren je u 30 bolesnica s karcinomom ovarija. Materijal koji se rabio bile su parafinske kocke tumorskog tkiva spomenutih bolesnica, a uzorci su pripremljeni metodom po Hadleyu. Mjerenje je učinjeno u KZLD KBC Zagreb na protočnom citometru FACScan (Becton-Dickinson) u Cellquest programu. Jednoparametrijski histogrami intenziteta fluorescencije analizirani su u Cellquest i ModFIT LTTM programu, na računalu Macintosh Quadra 650. Cellquest program daje osnovnu, isključivo ručnu analizu sadržaja DNA (udio stanica u G₀/G₁, S i G₂/M fazi staničnog ciklusa, ploidni status, koeficijent varijacije) kod jasno definiranih histograma diploidnih i aneuploidnih uzoraka. ModFIT LTTM je vrlo sofisticiran program koji omogućuje ručnu i automatsku analizu histograma DNA. Pri automatskoj analizi sadržaja DNA, ModFIT LTTM rabi ponuđene modele (82) za analizu podataka. Odabir modela ovisi o vrsti upotrijeb-

ljenog materijala, ploidnom statusu, prisutnim raspadnutim i agregiranim elementima. Uz osnovne parametre staničnog ciklusa, ModFIT LTTM program daje: broj analiziranih stanica, RCS (koliko izabrani model odgovara ispitivanom uzorku), %B.A.D. (udio raspadnutih i agregiranih elemenata) i analizu udjela stanica u S-fazi staničnog ciklusa, što je osobito važno kod uzoraka s nejasno definiranom S-fazom. Kvalitetan nalaz sadržaja DNA protočnom citometrijom jedino je moguć uz vrlo sofisticiran računalski program.

06/P6

BAKTERIJSKA O⁶-METIL-GVANIN-DNA-METILTRANSFERAZA ŠTITI TUMORSKE STANICE OD ALKILIRAJUĆIH OŠTEĆENJA

J. Lončarek¹, B. Brdar², J. Ban³, J. Sorić¹

¹ Farmaceutsko-biokemijski fakultet, ² Institut "Ruder Bošković", ³ Prirodoslovno-matematički fakultet; Zagreb

Alkilirajući spojevi uzrokuju mutacije i staničnu smrt i kod ljudskih stanica i kod bakterija. Glavna mutagena alkilacija je O⁶-metil-gvanin koji se tijekom replikacije sparuje s timidinom umjesto sa svojim prirodnim analogom citozinom, rezultirajući mutacijom. Takvu vrstu oštećenja kod *E. Coli* popravljaju enzim O⁶-metil-gvanin-DNA-metiltransferaza (MT) koju kodira *ada* gen. Sličan enzim se nalazi i u ljudskim stanicama. Neke ljudske tumorske stanične linije ne mogu popravljati alkilirajuća oštećenja jer nemaju aktivan enzim MT. Nazvane su mer⁻ za razliku od mer⁺ stanica koje efikasno popravljaju alkiliranu DNA. Utvrđeno je i da mer⁻ stanice luče veće količine plazminogen aktivatora (PA) nakon izlaganja alkilirajućim spojevima. Cilj ispitivanja bio je metodom s kalcij-fosfatom uklonirati *ada* gen za bakterijsku MT u ljudsku A₁₂₃₅ tumorsku staničnu mer⁻ liniju i na taj način izazvati promjenu mer⁻ fenotipa u mer⁺ fenotip. Transformirani klonovi su izolirani na temelju rezistencije na antibiotik G418 i stanice su umnožene. Nakon izolacije transformiranih stanica pratila se njihova sposobnost da prežive izlaganje alkilirajućem spoju N-metil-N-nitro-N-nitrozo-gvanidinu (MNNG). Metodom radijalne kazeinolize ispitala se razina izlučenog PA u stanicama. Utvrđeno je da su stanice koje nose bakterijski *ada* gen za MT fenotipski različite u usporedbi s A₁₂₃₅ sojem. Na temelju krivulja preživljenja utvrđeno je da su transformi-

rane stanice i kod najveće doze MNNG preživjele s 30%, dok A₁₂₃₅ stanice ne preživljavaju ni najnižu korištenu koncentraciju. Zaključeno je da transformirane stanice imaju veću mogućnost popravka zahvaljujući bakterijskom *ada* genu. Transformirane stanice imaju sniženu i konstitutivnu i induciranu razinu PA. Obje promjene su jače izražene na izvanstaničnoj razini, što ukazuje na urokinazni tip PA.

06/P7

UTVRĐIVANJE LJUDSKIH PAPILOMA VIRUSA *IN SITU* HIBRIDIZACIJOM U TUMORIMA GLAVE I VRATA

Ž. Cerovac¹, J. Ban²

¹ Institut "Ruđer Bošković", ² Prirodoslovno-matematički fakultet; Zagreb

Infekcije ljudskim papiloma virusima (HPV) utvrđene su u velikom broju tumora pločastih stanica u ljudi. Cilj ovog ispitivanja bio je utvrditi: prisutnost i učestalost HPV infekcije u tumorskom, graničnom i zdravom tkivu u području glave i vrata; odrediti tipove HPV koji sudjeluju u razvoju raka glave i vrata; odrediti povezanost HPV infekcije s patohistološkim stupnjem diferenciranosti tumora. Analizirano je tkivo operiranih bolesnika: 78 uzoraka tkiva karcinoma pločastih stanica glave i vrata (10 usne šupljine, 15 jezika, 26 ždrijela i 27 grkljana), 23 uzorka tkiva uz rub karcinoma i 23 uzorka zdravog tkiva. Korištena je metoda *in situ* hibridizacije, koja se odvijala pod visokorestriktivnim uvjetima s HPV DNA 6, 16 i 18 sondama obilježnim digoksigeninom. Pozitivni signali utvrđeni su u jezgrama i to u 26 uzoraka tumora (33,3%), 2 uzorka graničnog tkiva (8,7%) i 1. uzorku zdravog tkiva (4,3%). HPV infekcija je nađena u 44% tumora grkljana, 35% tumora ždrijela, 20% tumora usne šupljine i 20% tumora jezika. Od 26 HPV pozitivnih tumora jedan tip HPV nađen je u 12 (46%), a dvostruka infekcija u 9 uzoraka (35%). HPV DNA 6 nađen je u 16 (61,5%), a HPV DNA 16 i/ili 18 u 17 (65,3%) tumora glave i vrata. Od 26 HPV DNA pozitivnih tumora, 25% su dobro diferencirani (G1), 27% umjereno diferencirani (G2) i 44% slabo diferencirani (G3) tumori. Učestalost HPV infekcije je u porastu sa stupnjem diferenciranosti tumora glave i vrata. Ovi rezultati govore u prilog hipotezi da je HPV jedan od kofaktora u razvoju tumora glave i vrata.

06/P8

DYNAMICS OF *p53* PROTO-ONCOGENE EXPRESSION DURING COMPENSATORY LIVER GROWTH IN MICE**V. Montana, D. Verbanac, K. Pavelić¹, Č. Milin, M. Petković², B. Radošević-Stasić², J. Laginja**Department of Biochemistry and ² Department of Physiology, Medical Faculty, University of Rijeka; ¹ Division of Molecular Medicine, Institute "Ruder Bošković", Zagreb

In the mammal, the liver is unique in its ability to regenerate and restore its original function. Hepatocytes, which represent the nucleus of regeneration enter the cell cycle as the transform from a quiescent state (Go) to a prereplicative state (G1). This is followed by DNA synthesis (S) and mitosis (M) with cell division completing the sequence. This process is mediated by hepatotrophic factors that conjointly stimulate up-regulation of proto-oncogene expression with concurrent and subsequent formation of proteins that are responsible for growth control. Proto-oncogene products are integral to the cellular signaling system and generally are very highly conserved through evolution. Proto-oncogene expression after 2/3 hepatectomy in rats can be divided into three phases: I) early (0 to 4); II) intermediate (8 to 14) and III) late (24 to 72 hours post-operation). In this work we followed the dynamics of appearance of oncoprotein *p53* in liver tissue, after 1/3 partial hepatectomy (pHx) performed on male inbred, 2-3 months old BALB/C mice. All the results were established by immunohistochemical staining of the slices of liver tissue. The proteins were identified using specific monoclonal antibody. The obtained results showed that *p53* is present in the intact liver tissue as well as during the compensatory liver growth. The appearance of *p53* oncoprotein after 1/3 partial hepatectomy in mice is characterized by three waves: the first one: after 8 hours; the second one: after 72 - 96 hours; and the third one: 15th day after operation.

06/P9

INTERAKCIJA ESTROGENA I NUKLEARNOG MATRIKSA

R. Romić-Stojković, A. Ivić, S. Gamulin

Zavod za patofiziologiju KBC Rebro, Zagreb

Cilj ispitivanja: Pokazati povezanost između različitih receptorskih kombinacija estrogenskih (ER) i progesteronskih receptora (PgR) u citosolu i ER vezanog na nuklearni matriks i ekstrahiranog u KCl.

Materijali i metode: U rad su uključena tkiva raka dojke dobivena od bolesnica s područja cijele Hrvatske i tkiva uterusa ženki štakora starih 80 - 90 dana. Koncentracije ER i PgR u citosolu određene su DCC metodom. Koncentracija ER vezanih za nuklearni matriks i ekstrahiranih u KCl određena je metodom vezivanja receptora na hidroksilapatit.

Rezultati ispitivanja i zaključci: 1. ER vezani na nuklearni matriks i u KCl-ekstraktu prisutni su samo u određenom postotku u tumorima u kojima su prisutni ER u citosolu uz pozitivnu korelaciju između koncentracije ER u citosolu i koncentracije ER u nuklearnom matriksu. 2. Čini se da nema korelacije u koncentraciji ER u KCl-ekstraktu i u citosolu tumora dojke. 3. Prisutnost PgR u citosolu nije u korelaciji s prisutnošću ER vezanih na nuklearni matriks i ekstrahiranih u KCl. 4. ER na nuklearnom matriksu najčešće su prisutni u skupini tumora ER+PgR+. 5. Estradiol potiče porast koncentracije ER u jezgri i nuklearnom matriksu te PgR u citosolu u maternici ovariektomiranih štakorica.

02/P1

HEMATURIJE KOD TRAUMA UROGENITALNOG SUSTAVA

A. Kalajlić, J. Čorić, E. Suljević

Institut za kliničku kemiju i biokemiju, KCU, Sarajevo, BiH

Problem ispitivanja predstavljaju hematurije kod abdominalnih trauma koje su uzrokovale oštećenja organa urogenitalnog sustava. Cilj je bio pratiti stupanj hematurija u momentu traume i tijekom hospitalizacije. Sediment urina ispitivan je fazno-kontrastnom mikro-

skopijom na predmetnom staklu. Dobiveni rezultati su sljedeći: a) u momentu traume makrohematurija (100 - 150 Erc/vidno polje) ili b) masivna hematurija (preko 150 Erc/vidno polje uz pojavu koaguluma). Rezultati sedimenta urina tijekom hospitalizacije bili su: a) 63% ispitanika je 3 - 5 dana nakon operacije imalo fiziološku vrijednost eritrocita u urinu (bez hematurije ili oko 5 Erc/vidno polje), b) u 20% ispitanika hematurija je nestala već trećeg dana nakon operacije i c) kod 17% ispitanika u urinu je ostala mikrohematurija (10 - 15 Erc/vidno polje) i 5 dana nakon operacije. Zaključujemo da u momentu traume postoji hematurija visokog stupnja (makrohematurija i masivna hematurija). Kod 83% ispitanika hematurija nestaje u periodu od 5 dana, dok u 17% ispitanika mikrohematurija postoji i 5 dana nakon operacije.

02/P2

ODREĐIVANJE KATALITIČKE AKTIVNOSTI ELASTAZE, LIPAZE I AMILAZE KOD AKUTNOG PANKREATITISA

J. Čorić, A. Kalajlić, E. Suljević

— Institut za kliničku kemiju i biokemiju, Sarajevo, BiH

Lipaza, elastaza i amilaza su specifični enzimi za pankreas što ima veliku upotrebnu dijagnostičku vrijednost. S primijenjenim analitičkim metodama određivanja enzima postizemo brzo i pouzdano utvrđivanje stupnja oštećenja pankreasa. U našim ispitivanjima vršili smo određivanja katalitičke aktivnosti praćenih enzima u krvnom serumu kod bolesnika liječenih na Kirurškoj klinici u Sarajevu s dokazanim akutnim pankreatitisom. Katalitičku aktivnost amilaze i lipaze određivali smo na analizatoru Kodak Ektachem 250, a elastaze enzimimunološkom metodom. Rezultati su pokazali da je određivanje katalitičke aktivnosti elastaze, amilaze i lipaze važan pokazatelj stupnja oštećenja pankreasa. Na osnovi vlastitih rezultata i pregledom svjetske literature utvrdili smo da se kod akutnog pankreatitisa povišena aktivnost elastaze zadržava dulje vremena, nego aktivnost lipaze i amilaze.

02/P3

ZNAČAJ SUPRAVITALNOG BOJENJA SEDIMENTA URINA U HITNOM LABORATORIJU KOD BOLESNIKA PRIMLJENIH KAO HITNA STANJA

M. Sikirica, I. Kardum-Skelin¹

Zavod za kliničku klemiju KB "Merkur", ¹ Laboratorij za citologiju i hematologiju
Interne klinike Medicinskog fakulteta i KB "Merkur"; Zagreb

Epitelne stanice mokraćnog sustava mogu biti prisutne u sedimentu urina zdrave osobe, a svaka promjena u njima može predstavljati i promjenu u njihovoj funkciji. Cilj ispitivanja bila je procjena supravitalnog bojenja sedimenta urina kao pomoć u što ranijem (slučajnom) otkrivanju promjena u podrijetlu i funkciji epitelnih stanica. Za supravitalno bojenje nativnog sedimenta urina upotrijebili smo 0,5%-tnu vodenu otopinu Toluidine Blue boje. Uziman je svježi urin i obrađen standardnom metodom rutinske analize. Na tako priređeni sediment dodane su 1 - 2 kapi boje. Kod svih bolesnika učinjena je i standardna citološka analiza bojenjem po May-Grünwald-Giemsu ili Papanicolaou. Ispitano je 157 bolesnika koji su došli u bolnicu kao hitna stanja s ili bez prethodno dijagnosticirane bolesti mokraćnog sustava. Supravitalnim bojenjem nativnog sedimenta urina nađene epitelne stanice označene su kao: negativne (normalne), atipične, suspektne i pozitivne (maligne) i upućene na daljnju citološku obradu. Na osnovu usporednih rezultata supravitalnog bojenja nativnog sedimenta urina i standardne citološke analize bojenjem po May-Grünwald-Giemsu ili Papanicolaou smatramo da je supravitalno bojenje sedimenta urina brza i jednostavna metoda probiranja u što ranijem otkrivanju promjena u podrijetlu i funkciji epitelnih stanica.

02/P4

BIOKEMIJSKI POKAZATELJI U AKUTNOM INFARKTU MIOKARDA

H. Stanković, E. Topić, N. Vukelić, Đ. Vukosavić, Š. Mihatov

KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Cilj ovog rada bila je procjena praćenja katalitičkih aktivnosti CK i CK-MB te postotka CK-MB u akutnoj fazi srčanog infarkta (AIM). U skupini bolesnika s AIM (n = 107) liječenih streptazom, prosječne

starosne dobi 55 ± 10 godina te skupini bolesnika s AIM bez liječenja streptazom ($n = 255$) praćene su enzimске aktivnosti u istim vremenskim razmacima (4 sata) od časa primitka u bolnicu (0-to vrijeme) do 76 sati trajanja akutne faze. Katalitičke aktivnosti CK mjerene su standardnom IFCC metodom, a CK-MB metodom imunoinhibicije. Korelacije između CK i CK-MB te CK i CK-MB% u obje skupine statistički su značajne ($p < 0,05$). Testiranje razlike između skupina pokazalo je da su aktivnosti CK značajno više u skupini bolesnika liječenih streptazom, naročito u vremenskom razdoblju 8 i 12 sati liječenja ($p < 0,05$), a aktivnosti CK-MB značajno su više u istoj skupini bolesnika (liječenih streptazom) u 8, 12, 40, 44, 48 i 52 sata nakon početka liječenja ($p < 0,05$). Od 107 bolesnika liječenih streptazom (87 bolesnika i 20 bolesnica) 95,4% je preživjelih, a 5 bolesnika nije preživjelo AIM već u samom početku bolesti (4,6% smrtnost). Nijedan bolesnik nije imao reinfarkt pa je ishod preživjelih bio dobar, a katalitičke aktivnosti enzima postepeno su se vraćale na referentne vrijednosti. U skupini bolesnika koji nisu liječeni streptazom ($n = 255$) od 39 bolesnika, 6 je preminulo (15,4%), a od 216 bolesnika, 15 je umrlo (5,9%); reinfarkt je doživjelo 7 bolesnika (17,9%) i 19 bolesnica (8,8%). Aktivnosti enzima čije su maksimalne vrijednosti između 8 i 12 sati nakon početka bolesti praćene tijekom 76 sati ukazuju na uspješan tijek oporavka. Uspješnost liječenja streptazom pokazuje položaj krivulje tijekom 76 sati koji je gotovo identičan krivulji bolesnika liječenih klasičnom antikoagulantnom terapijom u AIM. Na temelju rezultata može se zaključiti da praćenje dinamike katalitičkih aktivnosti CK i CK-MB tijekom 76 sati ukazuje na stanje infarkta i uspješnost terapije.

02/P5

SEROLOŠKI DOKAZ INFEKCIJE S *HELICOBACTER PYLORI*

A. Zubčić¹, M.V. Vukadinović¹, E. Topić¹, I. Mihaljević²

¹ KB "Sestre milosrdnice", ² Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu; Zagreb

Helicobacter pylori (HP) je uzročnik kroničnog površinskog gastritisa tipa B i ulkusne bolesti s komplikacijama. Ubrzo nakon što je uzročnik uzgojen u laboratoriju omogućeno je i dokazivanje infekcije serološkim metodama. Većina istraživača danas smatra da titar IgG protutijela najpouzdanije ukazuje na aktivnu HP-infekciju. Nakon uspješne eradikacije uzročnika značajno pada titar tih protutijela. Slu-

žili smo se brzim aglutinacijskim testom (AGL) PYLORISSET DRY, a za određivanje titra IgG protutijela u serumu, ELISA metodom PYLORISSET EIA-G istog proizvođača. Osjetljivost AGL ispitana je u 106 seruma bolesnika s gastroskopski utvrđenim ulkusom dvanaesterca, a koji nisu uzimali protuupalne lijekove. Test je bio pozitivan u 98 (92%) bolesnika. Od jeseni 1993. godine pretraženo je više od 1 000 seruma s AGL, a u preko 500 seruma određen je titar specifičnih IgG protutijela. Usporedbom s titrom IgG, s AGL smo dobili 11% lažno negativnih nalaza. AGL je praktična metoda za brzo probiranje HP-pozitivnih bolesnika prije liječenja, ali ju je korisno dopuniti kvantitativnim određivanjem IgG, a provjera uspješnosti eradikacije uzročnika u liječenih bolesnika nije moguća s pomoću brzih kvalitativnih testova, već samo praćenjem dinamike titra specifičnih IgG protutijela.

07 - 2/P1

21 SLUČAJ PRENATALNE DIJAGNOZE KONGENITALNE ADRENALNE HIPERPLAZIJE

V. Plavšić, M. Dumić, J. Ille, D. Rogić, Lj. Brkljačić, R. Žunec, A. Kaštelan

Endokrinološki laboratorij Interne klinike, Klinika za dječje bolesti i Centar za tipizaciju tkiva Urološke klinike; KBC Zagreb

Prenatalna dijagnoza kongenitalne adrenalne hiperplazije (KAH), jednog od najčešćih enzimskih poremećaja u biosintezi steroida, omogućuje rani početak liječenja kao i planiranje potomstva u obiteljima koje već imaju bolesno dijete. Nakon dobivanja referentnih vrijednosti 17-hidroksi-progesterona (17-OHP) i androstendiona (A^4) u amnijskoj tekućini (AT) i plazmi fetusa (FP), postavili smo točne prenatalne dijagnoze u 21 trudnoći u 18 pogođenih obitelji. Hormoni su mjereni radioimunokemijskom metodom. Referentne vrijednosti 17-OHP u AT (2. trimestar, $n = 84$): 0,93 - 12,83 nmol/L (Sorin-Biomedica, 3H); 1,58 - 15,21 nmol/L (CIS); u FP (2. trimestar, $n = 24$): 2,24 - 54,12 nmol/L. Referentne vrijednosti za A^4 u AT: 0,98 - 7,73 nmol/L; u FP 3,21 - 7,03 nmol/L (Johnson & Johnson). U 21 rizičnoj trudnoći našli smo 3 bolesna fetusa s klasičnim oblikom KAH uz gubitak soli i jedan slučaj s jednostavnim virilizirajućim oblikom. Svi rezultati su potvrđeni HLA tipizacijom, a u zadnjih 6 slučajeva i DNA tipizacijom gena klase II sustava HLA. Može se zaključiti da je analiza steroida u AT kombinirana s HLA tipizacijom točna metoda za prenatalnu dijagnozu KAH, pogotovo kada nije dostupno uzimanje uzoraka tkiva iz korionskih resica, potrebno za ranu DNA analizu.

07 - 2/P2

UČINAK L-TIROKSINSKE TERAPIJE NA ODREĐIVANJE HORMONA ŠTITNJACE

Lj. Posavec, M. Vrkljan, B. Mildner, D. Smola, M. Solter

KB "Sestre milosrdnice", Zagreb

Već od 1956. godine poznato je postojanje protutijela na hormone štitnjače. Njihova interferencija u RIA očituje se nespecifičnim vezanjem (NSB). Uočili smo četiri bolesnika koji su uz dugotrajnu terapiju L-tiroksina od 0,2 do 0,3 mg/dan imali u serumu niske koncentracije T_3 ili T_4 , a povećano NSB.

	NSB	
	%T3 $7,9 \pm 0,69$	%T4 $6,09 \pm 0,42$
Normalne osobe Bolesnici		
1. T.I.	11,8	6,4
2. S.V.	16,2	6,6
3. G.V.	43,8	5,3
4. Z.K.	13,8	7,4

Cirkulirajuća tvar u serumu koja na sebe veže obilježeni hormon $^{125}\text{J-T}_3$ ima svojstva protutijela, a identificirali smo ju imunoelektroforezom, kromatografijom, imunoprecipitacijom i autoradiografijom. Iz dobivenih rezultata zaključujemo da serum naših bolesnika pokazuje prisutnost T_3 protutijela IgG i/ili IgA klase.

07 - 5/P1

USPOREDBA ISPITIVANJA IMUNOKEMIJSKOG TESTA BM-TEST COLON ALBUMIN TVRTKE BOEHRINGER MANNHEIM I GVAJAK-TESTA HEMOCULT II ZA ODREĐIVANJE OKULTNOG KRVARENJA U STOLICI

M. Sikirica, Z. Flegar-Meštrić, B. Papa¹

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur" i ¹ Interna klinika Medicinskog fakulteta i KB "Merkur", Zagreb

Što ranije otkrivanje kolorektalnog karcinoma pridonosi otkrivanju traume u izlječivom stadiju, što daje poseban značaj primjeni jednostavnih testova probiranja za utvrđivanje okultnog krvarenja. Cilj ovog rada bila su usporedna ispitivanja i procjena specifičnosti i osjetljivosti BM-TESTA COLON ALBUMIN (Boehringer Mannheim) i HEMOCULT II testa (SmithKline Diagnostics) za određivanje okultnog krvarenja u stolici. Primijenjene analitičke metode bile su kvalitativni testovi: 1. BM-TEST COLON ALBUMIN, imunokemijski test koji se temelji na reakciji visokospecifičnih monoklonskih protutijela s ljudskim serumskim albuminom u stolici kao indikatorom okultnog krvarenja i 2. HEMOCULT II, gvajak-test koji se temelji na gvajak-peroksidaza reakciji hemoglobina oslobođenog iz eritrocita prisutne krvi. Oba testa su učinjena kroz dva dana uz adekvatnu dijetu prije i za vrijeme izvođenja testa. Ispitivanjem je obuhvaćeno 45 bolesnika s dokazanim bolestima kolona i rektuma (karcinom kolona, upalne bolesti crijeva, polipi, adenomi i ostalo). Usporednim ispitivanjima i dijagnostičkom procjenom potvrđena je veća osjetljivost i specifičnost testa BM-TEST COLON ALBUMIN za sve ispitane skupine bolesti u odnosu na standardni gvajak-peroksidaza test pa se preporuča kao test probiranja za utvrđivanje okultnog krvarenja.

07-5/P2

ISPITIVANJE RASPODJELE MOLEKULARNE MASE U PRIPRAVCIMA LJUDSKOG ALBUMINA I GAMA-GLOBULINA

R. Frkanec, B. Vranešić, J. Tomašić, Đ. Ljevaković

Imunološki zavod d.d., Zagreb

Ljudski albumin te specifični i nespecifični imunoglobulini standardni su biološki pripravci iz ljudske krvi. Albumin je važan protein nužan za održavanje stalnog volumena plazme. Izrazito je hidrofilna molekula koja veže anione i katione, sudjeluje u prijenosu proteina, enzima i lijekova, a u zdravom organizmu ima ga 30 - 50 g/L plazme. Primjena albumina u liječenju nadoknađuje volumen plazme, regulira koloidno-osmotski tlak te poboljšava nutritivnu rezervu aminokiselina i proteina organizma. Imunoglobulinski pripravci s većinskim udjelom klase G imunoglobulina, gama-globulini, primjenjuju se kao nadoknada protutijela kod primarnih i sekundarnih imunodeficijencija, a posjeduju i imunomodulacijsko djelovanje. Kontrola pripravaka ljudskog albumina i gama-globulina vrši se prema zahtjevima Europske farmakopeje i uključuje ispitivanje tekućinskom kromatografijom. Svrha ovog rada bila je ispitati raspodjelu molekularne mase u pripravcima ljudskog albumina i gama-globulina za intravensku primjenu Imunološkog zavoda. Ispitivanje je provedeno klasičnom tekućinskom kromatografijom (na kolonama Sephatex G-150 i Sephacryl S-200, S-300) i visokotlačnom tekućinskom kromatografijom (Wasters Protein-Pak 300SW). Dobiveni rezultati međusobno su uspoređeni i utvrđena je njihova podudarnost. Na isti način ispitani su i referentni pripravci (Biological Reference Preparations, BRP). Ispitani pripravci Imunološkog zavoda odgovaraju zahtjevima Europske farmakopeje: sadrže manje od 5% polimera i agregata albumina u odnosu na ukupnu količinu proteina u otopini; manje od 3% polimera i agregata imunoglobulina u odnosu na ukupnu količinu proteina u otopini, odnosno sadrže više od 90% monomera i dimera imunoglobulina.

07 - 6/P1

KLORIDI U ZNOJU: PETNAEST GODINA ISKUSTVA**S. Dodig, J. Živčić**

Specijalna bolnica za bolesti dišnog sustava djece i mladeži Srebrnjak, Zagreb

Najčešće primjenjivani postupak u laboratorijskoj dijagnostici cistične fibroze (CF) je određivanje koncentracije klorida u znoju. Postupak podrazumijeva tri stadija: 1. poticanje znojenja (toplinom; s pilokarpinom), 2. skupljanje znoja (u epruvetu, gazu ili kapilaru) i 3. određivanje klorida (kemijskim postupcima, mjerenjem električne provodljivosti ili ion-selektivnom elektrodom). Tijekom petnaest godina na tri načina smo određivali koncentraciju klorida u znoju: A. toplinska stimulacija, znoj skupljen u epruvetu, kloridi određivani kemijskim postupkom, B. pilokarpinska iontoforeza, znoj skupljen u gazu, kloridi određivani kemijskim postupkom i C. pilokarpinska iontoforeza, znoj skupljen u kapilaru, kloridi određivani mjerenjem električne provodljivosti. Vrijednosti klorida u znoju bile su, ovisno o primijenjenom postupku, sljedeće: A. $25,6 \pm 8,2$ mmol/L; B. $21,8 \pm 5,5$ mmol/L i C. $47,6 \pm 14,3$ mmol/L. Otkriveno je 17 bolesnika sa CF, a svi su uz kliničke simptome imali koncentraciju klorida veću od 100 mmol/L. Da bi se dobio pouzdan rezultat, svi stadiji postupka moraju se provoditi ispravno.

07 - 6/P2

ACIDURIJA AMINOKISELINA RAZGRANATIH LANACA: PRIKAZ SLUČAJA**P. Granić¹, M. Maradin¹, K. Fumić¹, V. Sarnavka², D. Čvorišćec¹**

¹ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb; ² Klinika za pedijatriju Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Acidurija aminokiselina razgranatih lanaca (sinonimi leucinoza i bolest s mirisom na javorov sirup, engl. maple syrup urine disease, MSUD) je autosomno-recesivno nasljedna bolest koja nastaje zbog defekta enzimskog kompleksa dekarboksilaze ketokiselina razgranatih lanaca. Posljedica defekta je porast koncentracija aminokiselina razgranatog lanca: valina, leucina, izoleucina i odgovarajućih organskih kiselina u mokraći. U radu je prikazan slučaj djeteta kod kojeg je

otkrivena bolest leucinoza. Pri dolasku na kliniku dijete je bilo staro 5 mjeseci uz jasni nedostatak psihomotorike, vrlo slabe motoričke reakcije na manipulaciju, očito sužene svijesti, bez reagiranja na vidne i vrlo slabo na slušne podražaje. Dinitrofenilhidrazinskim testom u primarnom pretraživanju mokraće dokazana je prisutnost ketokiseline. Tankoslojnom kromatografijom seruma i mokraće dokazane su povišene aminokiseline: valin, leucin i izoleucin. Tekućinskom kromatografijom na reverznoj fazi uz derivatizaciju s o-ftaldehidom (OPA) određene su aminokiseline kvantitativno (valin: 1 233,5 $\mu\text{mol/L}$; leucin: 2 489,7 $\mu\text{mol/L}$; izoleucin: 390,8 $\mu\text{mol/L}$). Plinskom kromatografijom su dokazane povišene organske kiseline: 2-hidroksiizovalerijanska, 2-ketoizovalerijanska i 2-ketoizokapronska kiselina. Bolest zahtijeva dugoročno dijetno liječenje i redovitu kontrolu aminokiselina.

07 - 6/P3**METILMALONSKA ACIDURIJA: PRIKAZ SLUČAJA**

M. Maradin, *Lj. Cvitanović-Šojat, K. Fumić, P. Granić, W. Erwa, A. Stavljenić Rukavina*

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb

Metilmalonska acidurija je skupina autosomno recesivno nasljednih metaboličkih poremećaja čija značajka je nakupljanje metilmalonil-CoA i njegovog neposrednog metaboličkog prethodnika propionil-CoA koji inhibitorno djeluje na ključne metaboličke putove. Uzrok tome je smanjena aktivnost metilmalonil-CoA-mutaze, bilo zbog poremećene sinteze apoenzima, bilo zbog poremećene sinteze ili ugradnje kofaktora deoksiadenozilkobalamina. U radu je biokemijski i klinički prikazana metilmalonska acidurija u petomjesečnog dječaka s epizodama povraćanja, dehidracijom, gubitkom apetita, grčevima i hepatomegalijom. Laboratorijskim pretragama utvrđena je izražena metabolička acidoza, hiperlaktacidemija, lagana ketonurija, hiperamonijemija, anemija te snižene vrijednosti ukupnog i slobodnog karnitina uz povećani omjer acilkarnitina i slobodnog karnitina. Analizom organskih kiselina plinskom kromatografijom utvrđeno je povećano izlučivanje metilmalonske, 3-hidroksimaslačne i 3-hidroksipropionske kiseline te metilcitrata. Vitamin B₁₂ i folna kiselina su bili unutar referentnog raspona.

07-6/P4

NEUTRAL GLYCOSPHINGOLIPIDS AND GANGLIOSIDES IN SKELETAL MUSCLE OF A2G-ADR MOUSE*M. Čačić¹, I. Kračun¹, J. Muthing²*¹ Croatian Institute for Brain Research, School of Medicine, Zagreb, Croatia² Technical Faculty, Bielefeld, Germany

The expression of neutral glycosphingolipids (GSLs) and gangliosides was investigated in cryosections of normal mouse skeletal muscle and in muscle of A2G-adr mouse mutant (a model for human recessive myotonia of Becker type) using indirect immunofluorescence microscopy. Transversal and longitudinal sections were immunostained with specific polyclonal and monoclonal antibodies against different GSLs (lactosylceramide, gangliotetraosylceramide, lacto-N-neotetraosylceramide, globoside, GM3(Neu5Ac), GM3(Neu5Gc) and GM1(Neu5Ac)). In normal CBA/J mouse muscle the main immunohistochemically detected ganglioside was GM3(Neu5Ac) followed by moderately expressed GM3(Neu5Gc) and GM1. Neutrally stained GSLs were lactosylceramide and globoside with almost identical high fluorescence intensity. Low quantities of Forssman GSL were immunostained. No gangliotetraosylceramide was detected. All GSLs were detected in sarcolemma, but also in considerable amounts on intracellular level. Different expression of GSLs was found in muscles of A2G-adr mouse mutant, not so in the quantities of the compounds, but in their distribution along the membranes. The evidence of translocation of GSLs in A2G-adr muscle sarcolemma are reported for the first time in this disease, however, without explanation.

07-8/P1

LAKTAT U PREDVIĐANJU KARDIOGENOG ŠOKA*Š. Dvornik, J. Mihić, K. Draženović*

KBC Rijeka

Kardiogeni šok je glavni uzrok smrti bolesnika s akutnim infarktom miokarda (AIM). Prvi klinički znak kardiogenog šoka kod AIM predstavlja slaba periferna perfuzija. Prema Shepsu i Kessleru odre-

divanje laktata u plazmi je prognostički biljeg rizika od ponovljenog infarkta i povećanje koncentracije laktata u krvi je povezano s hipoperfuzijom tkiva. U cilju potvrde navedene tvrdnje analizirali smo 229 bolesnika primljenih u Jedinicu intenzivne skrbi u periodu od 9 mjeseci. Bolesnike smo podijelili u dvije skupine. Prvu skupinu činili su hospitalizirani bolesnici s umjerenom greškom lijevog ventrikula (klasifikacija po Killipu I i II). Drugu skupinu činili su bolesnici koji su kod prijama bili klasificirani kao Killip I ili II, ali se za vrijeme hospitalizacije kod njih razvio kardiogeni šok. Uz ostale analize posebno su ispitivani sljedeći biokemijski parametri: koncentracije ureje, kreatinina i laktata te aktivnosti kreatin-kinaze, MB izoenzim kreatin-kinaze i aspartat-aminotransferaze. Iz obrađenih parametara vidljivo je da postoji značajna razlika u koncentraciji laktata između ove dvije skupine i da je laktat u plazmi parametar s najvećom prediktivnom vrijednošću kod razvijanja kardiogenog šoka. Dobiveni rezultati prikazani su tabelarno i grafički.

07 - 8/P2**TROPONIN I KAO BILJEG SRČANOG OŠTEĆENJA****S. Crnokrak, M. Trogrlić, R. Ravnić**

Opća bolnica Pula

U svrhu bolje dijagnostike akutnog infarkta miokarda (AIM) određivali smo troponin I (TnI) i uspoređivali njegove vrijednosti s aktivnošću CK-MB. Troponin I rađen je "sendwich" imunofluorescentnom metodom, a aktivnost CK-MB imunološkom metodom sa starnim reagensom. Kontrolnu skupinu činilo je 15 zdravih osoba. Obrađeno je 39 bolesnika: 6 koji nisu imali nikakve srčane tegobe, 8 sa srčanim tegobama i 25 s potvrđenim AIM. Od tog broja na trombolitičkoj terapiji je bilo 9 bolesnika. U dvjema skupinama bolesnika bez AIM vrijednosti TnI iznosile su 0,5 - 9,6 ng/ml i aktivnosti CK-MB 3,0 - 205,0 U/L. Svih 16 bolesnika s AIM bez trombolitičke terapije imalo je porast TnI (1,43 - 25,7 ng/ml) i CK-MB (19,6 - 114,4 U/L) između 6. i 10. sata od početka bolova. Maksimalna koncentracija TnI (9,0 - 89,5 ng/ml) dobivena je oko 24. sata, dok je maksimalna aktivnost CK-MB (42,7 - 140,0 U/L) bila između 16. i 20. sata od početka bolova. Aktivnost CK-MB normalizirala se kod 14/16 bolesnika unutar 48 sati, dok se vrijednost TnI zadržala povišena i nakon 72 sata kod 14/16 bolesnika. Bolesnici kod kojih je primjenjena trombolitička te-

rapija imali su porast TnI i CK-MB 2 sata nakon terapije. Maksimalna koncentracija TnI postignuta je između 10. i 18. sata, a maksimalna aktivnost CK-MB između 4. i 12. sata nakon primjene terapije. Kod svih slučajeva dolazi do pada oba mjerna parametra između 12. i 24. sata. Dobiveni rezultati pokazuju da bi uvođenje određivanja TnI, uz postojeće laboratorijske pokazatelje, doprinjelo specifičnijoj dijagnostici AIM.

07 - 8/P3

TROPONIN T U RANOJ DIJAGNOSTICI AKUTNOG INFARKTA MIOKARDA

B. Šurina, Z. Šiftar, S. Kranjčević¹

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur", ¹ Koronarna jedinica Interne klinike Medicinskog fakulteta i KB "Merkur", Zagreb

Najčešća komplikacija ishemične bolesti srca je akutni infarkt miokarda (AIM), bolest čiji tijek ovisi o brzini prepoznavanja bolesti i primjene terapije, a letalitet iznosi između 30 i 70%. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO), kriteriji za pozitivan nalaz AIM uključuju: bol u predjelu srca, promjene u EKG, porast katalitičke koncentracije kreatin-kinaze (CK) u serumu iznad normalnih vrijednosti te porast srčanog izoenzima kreatin-kinaze (CK-MB izoenzima) iznad 6%. Radi poboljšanja dijagnostike neprestano se radi na pronalaženju novih parametara (osjetljivijih i specifičnijih), a među najnovijim je i određivanje troponina T. Troponin T je jedan od miofibrilarnih proteina i predstavlja jednu od podjedinica troponinskog kompleksa. Nalazi se u skeletnom mišiću i miokardu odakle se oslobađa prilikom oštećenja tkiva i može se otkriti u cirkulaciji. Cilj ovog rada bio je ispitivanje osjetljivosti određivanja troponina T u plazmi u usporedbi s određivanjem izoenzima CK-MB. U tu svrhu obrađeno je 30 bolesnika s dijagnozom AIM, koji su medicinski zbrinuti u Koronarnoj jedinici KB "Merkur" unutar 12 sati od pojave srčane boli. Kod njih je određivan izoenzim CK-MB metodom ionske kromatografije po Merceru, kvantitativno, i troponin T imunološkom metodom (Boehringer Mannheim), kvalitativno. Rezultati ovog rada pokazali su bolju osjetljivost određivanja CK-MB izoenzima (82%) u odnosu na određivanje troponina T, čija osjetljivost je iznosila 45%, no već i ispitivanje na ovako malom broju ispitanika (n = 30) ukazuje na određeni doprinos određivanja troponina T u dijagnostici AIM.

07 - 8/P4

**DIGOKSINU SLIČNA TVAR U LIKVORU I SERUMU
BOLESNIKA SA CEREbroVASKULARNIM INZULTOM***N. Ivelja, I. Dujmov, P. Ivelja, D. Ljutić, B. Mladina*

KB Split

Natriuretski hormon je tvar neutvrđene kemijske građe i relativne molekularne mase manje od 1 000 D. Inhibitor je enzima stanične membrane Na-K-ATP-aze, natriuretik i vazokonstriktor. Smatra se da je mjesto stvaranja ove tvari hipotalamus. Budući da reagira s protutijelima na digoksin, nazvana je i digoksinu slična tvar (DSS). Da bi utvrdili eventualnu značajnost DSS u dijagnostici inzulta, analizirali smo likvor i serum kod 49 bolesnika sa cerebrovaskularnim inzultom (CVI). Analize smo vršili komercijalno dostupnim reagensom za određivanje digoksina tvrtke Abbott. U ispitivanje su uključeni bolesnici koji prethodno nisu uzimali digoksin. Kod 17 bolesnika otkrivena je DSS u likvoru (35% x 0,63 - 0,29), a u 34 bolesnika u serumu (67% x 0,73 - 0,31). Svi bolesnici koji su imali DSS u likvoru imali su značajne koncentracije ove tvari i u krvi. Svi bolesnici s DSS u krvi bili su hipertoničari. Nalaz DSS u likvoru, iako u malim koncentracijama, vrlo vjerojatno je odraz ili prolaza ove tvari kroz hematoencefalnu barijeru ili oštećenja hipotalamusa i izlivanja ove tvari iz hipotalamičkih skladišta.

07 - 9/P1

**UTJECAJ GESTACIJSKE DOBI
I ANTROPOMETRIJSKIH POKAZATELJA RASTA
I RAZVOJA NA KONCENTRACIJE ŽELJEZA, CINKA,
BAKRA, UKUPNOG KALCIJA I MAGNEZIJA U
SERUMU ZDRAVE NOVOROĐENČADI***S. Perkov, Z. Flegar-Meštrić, I. Šeper¹*

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur", ¹ Klinika za ženske bolesti i porode
Medicinskog fakulteta i KB "Merkur"; Zagreb

Cilj ispitivanja bio je odrediti koncentracije željeza (Fe), cinka (Zn), bakra (Cu), ukupnog kalcija (Ca) i magnezija (Mg) u serumu novorođenčadi i njihovih majki te ispitati postoji li utjecaj gestacijske dobi,

porođajne težine i duljine na koncentracije ispitivanih parametara u serumu zdrave novorođenčadi. Ispitivanjem je obuhvaćeno 22. potpuno zdrave novorođenčadi (9 dječaka i 13 djevojčica) i njihovih majki u trenutku poroda. Koncentracije Zn, Cu, Ca i Mg određene su metodom atomske apsorpcijske spektrofotometrije, a koncentracije Fe metodom s ferozinom. Za određivanje ovih parametara u serumu novorođenčadi koristili smo krv iz pupkovine, jer ona vrlo dobro odgovara krvi novorođenčadi. Koncentracije Fe ($24,1 \pm 6,62$ vs $10,7 \pm 4,94$ $\mu\text{mol/L}$), Zn ($14,1 \pm 1,78$ vs $9,1 \pm 2,21$ $\mu\text{mol/L}$) i Ca ($2,48 \pm 0,13$ vs $2,27 \pm 0,13$ mmol/L) bile su značajno više u serumu novorođenčadi od odgovarajućih koncentracija u serumu majki ($p < 0,01$), dok je koncentracija Cu ($36,6 \pm 4,82$ vs $9,2 \pm 2,47$ $\mu\text{mol/L}$) u serumu majki bila značajno viša od koncentracije Cu u serumu novorođenčadi ($p < 0,01$). Usporedna ispitivanja koncentracije Fe, Zn, Cu, Ca i Mg i tjedana gestacije (raspon 38 - 42 tjedna), porođajne težine ($3,43 \pm 0,36$ kg) i duljine novorođenčadi ($51,0 \pm 1,6$ cm), pokazala su da postoji statistički značajna korelacija između koncentracije Ca i porođajne težine i duljine novorođenčadi ($p < 0,05$) te između koncentracije Cu i Zn i gestacijske dobi novorođenčadi ($p < 0,05$). Naši rezultati ukazuju da gestacijska dob značajno utječe na koncentraciju Zn i Cu, dok antropometrijski pokazatelji rasta i razvoja značajno utječu na koncentraciju Ca u serumu ispitivane skupine zdrave novorođenčadi.

07 - 9/P2

SELEN U ERITROCITIMA I SERUMU U ŠEĆERNOJ BOLESTI

R. Runje, K. Kljaić

Medicinski fakultet, Zagreb

Za uspješno funkcioniranje organizma neophodni su elementi u tragovima potrebni za odvijanje nekih procesa. Svi su međusobno jako ovisni pa mogu igrati važnu ulogu u prevenciji, praćenju i/ili liječenju nekog bolesnog stanja. Predmet našeg interesa bio je selen, čiji deficit uzrokuje kardiovaskularne promjene, degenerativne bolesti i neke maligne tumore. Pokazalo se da ima i antikancerogeno djelovanje. Primjećen je i antioksidativni učinak selena pa bi se mogla očekivati i njegova zaštitna uloga na stanice podložne hemolizi. Određivana je koncentracija selena u serumu i eritrocitima zdravih osoba i osoba oboljelih od šećerne bolesti (NIDDM, $n = 26$) metodom atomske apsorpcije.

cijske spektrometrije. U serumu zdravih osoba, koncentracija selena bila je prosječno do $32 \mu\text{mol/L}$, a u serumu bolesnika iznosila je $59,23 \pm 12,2 \mu\text{mol/L}$. U izoliranim eritrocitima zdravih osoba koncentracija selena iznosila je $2,86 \pm 0,19 \mu\text{g}/10^{12}$ eritrocita. U bolesnika koncentracija selena u izoliranim eritrocitima je bila $2,99 \pm 0,28 \mu\text{g}/10^{12}$ eritrocita. Zaključno se može reći da porast koncentracije selena u serumu i eritrocitima bolesnika sa šećernom bolešću nije statistički značajan.

07-9/P3

ODNOS SELENA I MALONDIALDEHIDA KOD BOLESNIKA NA DIJALIZI

Ž. Romić, J. Loureček, M. Radovčić, N. Šprajc, B. Vitunjski

KB "Dubrava", Zagreb

Malondialdehid (MDA) kao krajnji proizvod lipidne peroksidacije povišen je kod mnogih bolesti. Smatra se da ima značajnu ulogu kod nastajanja bolesti srca i bubrega, ateroskleroze i malignih bolesti. Cilj ovog ispitivanja bio je utvrditi odnos između MDA i selena kod bolesnika na dijalizi. Dokazan je značajan porast vrijednosti MDA kod bolesnika na dijalizi u odnosu na zdrave ispitanike ($p < 0,005$). Također je utvrđeno sniženje vrijednosti selena kod bolesnika na dijalizi.

07 - 12/P1

ENZIMI U PLUĆIMA POKUSNIH ŽIVOTINJA NAKON PRIMJENE TEOFILINA

J. Živčić¹, S. Dodig¹, J. Demirović², I. Čepelak³

¹ Specijalna bolnica za bolesti dišnog sustava djece i mladeži Srebrnjak, ² Klinika za tumore, ³ Farmaceutsko-biokemijski fakultet; Zagreb

Zbog uskog terapijskog područja teofilina postoji mogućnost predoziranja i nastanka toksičnih nuspojava. Moguće nepovoljne učinke povećanih doza teofilina ispitali smo mjerenjem katalitičkih koncentracija aminotransferaza (AST, ALT), laktat-dehidrogenaze (LDH) i njezinih izoenzima u serumu i u citosolu homogenata plućnog tkiva štakora. Za pokus su korišteni mužjaci soja Wistar (uzgoj Instituta za medicinu-

ska istraživanja i medicinu rada, Zagreb). Katalitička koncentracija enzima je praćena prije primjene teofilina te 30, 60 i 300 minuta nakon intravenske primjene teofilina (15 mg/kg tjelesne mase) te nakon trodnevnog davanja teofilina. U serumu štakora postojala je povećana katalitička koncentracija AST, ALT i LDH nakon jednokratne primjene teofilina, a katalitička koncentracija LDH ostaje povećana i nakon kumulativne doze teofilina (uzrokovana je povećanjem svih izoenzima). U citosolu homogenata pluća izmjerena je povećana katalitička koncentracija AST nakon jednokratne primjene i ALT nakon višekratne primjene teofilina. U svrhu procjene nepovoljnog učinka povećanih doza teofilina potrebno je pratiti katalitičke koncentracije enzima različite unutarstanične raspodjele.

07 - 12/P2

UTJECAJ EDEMA NA FARMAKOKINETIKU VERAPAMILA

A. Wolf-Čoporda, Z. Lovrić, M. Huić, V. Macolić-Šarinić, F. Plavšić, B. Vrhovac

Centar za biomedicinska istraživanja i Zavod za kliničku farmakologiju KBC
Zagreb

Značajne promjene u raspodjeli unutar- i izvanvaskularne tekućine morale bi imati utjecaj na farmakokinetiku verapamila, lijeka koji ima relativno mali volumen raspodjele. U ispitivanju je sudjelovalo 8 bolesnika kojima su ustanovljeni edemi III i IV stupnja kardijalne etiologije. Prvog dana ispitivanja vađeni su uzorci krvi nakon doze verapamila od 40 mg, a isti postupak korišten je i nakon isplavljenja edema. Koncentracije verapamila i norverapamila određivane su HPLC metodom. Iz izračunatih vrijednosti površina ispod koncentracijskih krivulja verapamila u edemima (528,772 ng x h/ml) i nakon isplavljenja (543,195 ng x h/ml) može se zaključiti da generalizirani edem kardijalne etiologije ne utječe na biološku raspoloživost verapamila. Nešto dulje vrijeme do početka apsorpcije u edematoznom stanju (0,49 h) u usporedbi s istim farmakokinetičkim parametrom nakon isplavljenja (0,01 h) posljedica je edema u gastrointestinalnom sustavu. Maksimalne koncentracije verapamila su nešto niže u stanju edema (102 ng/ml) u odnosu na stanje bez edema (120 ng/ml), no zato je vrijeme polueliminacije u edemima dulje (3,73 h) u odnosu na isti parametar nakon isplavljenja (3,28 h). Površine ispod koncentracijskih

krivulja verapamila i norverapamila stavljene u međusobni omjer daju gotovo jednaku vrijednost (2,586 i 2,653) iz čega se može zaključiti da edemi nisu uzrokovali niti kvantitativnu niti kvalitativnu promjenu biotransformacije verapamila.

07 - 12/P3

IZOENZIMI ALKALNE FOSFATAZA U BOLESNIKA LIJEČENIH ANTIEPILEPTICIMA

B. Milanović¹, D. Futač-Papić¹, F. Blazinić², E. Topić¹

¹ Klinički zavod za kemiju Medicinskog fakulteta i KB "Sestre milosrdnice",

² Psihijatrijska bolnica Vrapče; Zagreb

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj antiepileptika na izoenzime alkalne fosfataze (ALP) u bolesnika liječenih antiepilepticima.

Ispitanici i metode: U skupini zdravih dobrovoljaca ($n = 32$) i ispitanika ($n = 104$) podijeljenih u podskupine prema dobi: a) 2 - 16 godina ($n = 34$), b) 16 - 25 godina ($n = 28$) i c) 25 - 65 godina ($n = 42$) mjerena je koncentracija antiepileptika imunofluorescentnom polarizacijom, katalitička koncentracija ukupne ALP kinetičkom metodom uz 4-nitrofenil-fosfat kao supstrat te određeni izoenzimi ALP elektroforezom na agarози (Isopal Plus, Beckman).

Rezultati: Preliminarni rezultati ispitivanja pokazali su da u skupini djece liječene antiepilepticima (u dobi od 2 do 16 godina) nema bitnih razlika u izoenzimima ALP u usporedbi s kontrolnom skupinom. Vrijednosti katalitičke koncentracije ukupne ALP iznosile su u obje skupine od 157 do 304 U/L (30°C). U skupini bolesnika u dobi od 16 do 25 godina, vrijednost ukupne ALP bila je u granicama referentnog raspona bez obzira na dužinu liječenja antiepilepticima. U 9 bolesnika (32,1%) ove skupine nađen je veći udio koštanog izoenzima ALP. U skupini bolesnika u dobi iznad 25 godina, 23 bolesnika (54,8%) imalo je veći udio koštanog izoenzima, dok je katalitička koncentracija ukupne ALP također bila u granicama referentnog raspona. U obje podskupine nađen je lagani pomak izoenzima u korist koštanog izoenzima ALP u bolesnika koji su na liječenju antiepilepticima duže od 10 godina.

Zaključak: Iako je nejasno zašto se izoenzimi ALP mijenjaju zbog liječenja antiepilepticima, preliminarni rezultati ovog rada upućuju da dugotrajno liječenje antiepilepticima rezultira povećanom katalitič-

kom koncentracijim koštanog izoenzima, koja može biti odraz povećane osteoklastične aktivnosti, a koja se mjerenjem katalitičke koncentracije ukupne ALP ne može uočiti.

07 - 12/P4

SREDSTVA OVISNOSTI: NAŠA ISKUSTVA I REZULTATI

G. Predovan

Služba za laboratorijsku dijagnostiku Opće bolnice Zadar

Cilj ispitivanja: probiranje na droge (amfetamini, barbiturati, benzodiazepini, kanabinoidi, kokain, opijati, PCP) kod kadeta Tankerske plovidbe i metadonski program.

Materijal: Urin. Od 9 mjeseca 1994. godine do danas ispitano je 220 kadeta Tankerske plovidbe, 11 pomoraca stranih kompanija i 126 osoba na metadonskom programu.

Metoda: FPIA.

Rezultati: Velika raširenost droge među mladima. Osim droge, osobe mlađe od 18 godina uzimaju mnogo Apaurin i Kafetin. Naši rezultati slažu se s policijskim izvještajima. Najviše ima marihuane i hašiša, a od težih droga raširen je heroin. Kokaina gotovo nema na našem području, a u zadnje vrijeme pojavio se *ecstasy*.

Zaključak: Iako metoda daje odgovor na pitanje je li ispitanik uzeo određenu skupinu droga, a ne odgovor na pitanje što je bolesnik uzeo, smatram da su ova metoda i paleta droga dostatni za kontrolu "ovisnosti". Neophodno je znati što je ispitanik uzeo nekoliko dana prije ispitivanja i izbjegavati senzacionalizam u tumačenju rezultata.

07 - 12/P5

**ODREĐIVANJE ANTIEPILEPTIKA U OPĆOJ
ŽUPANIJSKOJ BOLNICI POŽEGA****M. Kožaj, J. Garilović**

Opća županijska bolnica Požega

U Požeškoj bolnici je do današnjeg dana evidentirano između 400 i 450 bolesnika koji boluju od epilepsije, odraslih i djece. Bolesnici su uglavnom upućivani u Zagreb. Danas, u bolnici, metodom FPIA na TD_x aparatu određujemo valproičnu kiselinu, karbamazepin, fenitoin, fenobarbiton i etosuksimid. Bolesnici koji se javljaju na kontrolu, rijetko uzimaju samo jedan lijek. Učestalost monoterapije je između 5 i 20%. Najčešća je (68 - 78%) kombinacija fenitoina i fenobarbitona gdje je učestalost subterapijskih koncentracija visoka (70 - 88%). Kod istovremene terapije fenitoinom i valproičnom kiselinom, raste učestalost terapijskih koncentracija, ali i predoziranje tim lijekom (više od 10%). Česta je polipragmazija s tri lijeka koji uključuju fenobarbiton. Zamijećen je porast terapijskih koncentracija, ali i porast učestalosti predoziranja. Visoka je učestalost terapije karbamazepinom u kombinaciji s dva druga lijeka. Gotovo svi ti bolesnici su subdozirani. Udio monoterapije je jako nizak i ne primjećuje se napredak u napuštanju polipragmazije.

07 - 12/P6

**ENZIMI U JETRI POKUSNIH ŽIVOTINJA NAKON
PRIMJENE TEOFILINA****S. Dodig¹, I. Čepelak², J. Demirović³, F. Plavšić⁴**¹ Specijalna bolnica za bolesti dišnog sustava djece i mladeži Srebrnjak,² Farmaceutsko-biokemijski fakultet, ³ Klinika za tumore, ⁴ Centar za biomedicinska istraživanja KBC Zagreb; Zagreb

Usko terapijsko područje teofilina (55 - 110 $\mu\text{mol/L}$) zahtijeva oprez pri doziranju radi mogućih nepovoljnih nuspojava. U svrhu neophodnog pažljivog provođenja terapije željeli smo ispitati moguće nepoželjne učinke teofilina na životinjskom uzorku, mjerenjem katalitičke koncentracije enzima različite unutarstanične raspodjele, enzima koji ukazuju na oštećenje jetrenog parenhima. U pokusima su korišteni klinički zdravi mužjaci štakora soja Wistar iz vlastitog uzgoja Instituta

za medicinska istraživanja i medicinu rada iz Zagreba. Katalitička koncentracija AST, ALT, LDH i alkalne fosfataze praćena je u serumu i u citosolu homogenata jetre prije primjene teofilina te 30, 60 i 300 minuta nakon jednokratne (15 mg/kg tjelesne mase) i trodnevne primjene teofilina. U serumu je postojala povećana katalitička aktivnost nakon jednokratne (AST i LDH) i nakon višekratne (LDH) primjene teofilina. U homogenatima jetre postojala je povećana katalitička koncentracija alkalne fosfataze nakon jednokratne primjene lijeka, a smanjena nakon kumulativnog djelovanja lijeka. Histološka pretraga jetre u skupini životinja s kumulativnim djelovanjem teofilina pokazala je različite stupnjeve vjerojatno prolaznih, degenerativnih promjena hepatocita. Kod povećanih doza teofilina moguće je mjerenjem katalitičke koncentracije AST i LDH u serumu relativno rano predvidjeti nepoželjne učinke lijeka u jetri.

07 - 12/P7

OKRATOKSIN A I ENZIMI LUMINALNIH I BAZOLATERALNIH MEMBRANA STANICA PROKSIMALNIH TUBULA BUBREGA

J. Petrik, S. Pepelnjak, B. Radić, I. Čepelak, T. Žanić-Grubišić

Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog
fakulteta, Zagreb

Okratoksin A (7-karboksi-5-kloro-3,4-dihidro-3R-metil-izokumarin amidno vezan s L--fenilalaninom, OA) je mikotoksin iz skupine okratoksina, koji kontaminira hranu životinjskog i biljnog podrijetla. Proizvode ga plijesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Eurotium*. Uz glavno nefrotoksično djelovanje, OA je hepatotoksičan, genotoksičan, kancerogen i imunosupresivan te se upliće i u koagulacijske procese. Toksični učinak OA u bubrezima prvo se javlja u obliku primarnih ozljeda proksimalnog dijela tubula, zatim dolazi do oštećenja glomerula te do involucije intersticija. Cilj našeg rada je ispitivanje toksičnog djelovanja OA (u koncentracijama koje su približno jednake onima koje se mogu naći u endemskim područjima) na stanice proksimalnog tubula bubrega kod štakora, određivanjem katalitičke aktivnosti enzima staničnih membrana. Korišten je subkronični intoksikacijski životinjski model. Štakori soja *Fisher* (n = 48) tretirani su sa 120 g OA/kg tjelesne mase tijekom 10 odnosno 35 dana (OA je otopljen u neutralnom maslinovom ulju). Kontrolne životinje

primale su samo maslinovo ulje. Luminalne membrane iz korteksa bubrega izolirane su pomoću diferencijalnog centrifugiranja i taloženja s dvovalentnim kationima. Bazolateralne membrane izolirane su također diferencijalnim centrifugiranjem uz gradijent gustoće perkola. Nakon 35 dana tretiranja s OA katalitičke aktivnosti enzima znatno su snižene u luminalnim membranama: alanin-aminopeptidaza (16%), alkalna fosfataza (20%) i γ -glutamilttransferaza (24%). U bazolateralnim membranama nakon 35 dana tretiranja s OA, katalitička aktivnost Na,K-ATPaze je značajno porasla (24%). Promjene aktivnosti navedenih enzima luminalnih membrana možemo smatrati ranim pokazateljima toksičnog djelovanja OA. Kao stanični odgovor na nastale promjene slijedi povećanje katalitičke aktivnosti tj. količine Na,K-ATPaze u bazolateralnim membranama proksimalnih tubula bubrega. Kvantitativno i kvalitativno izražavanje Na,K-ATPaze u stanicama proksimalnih tubula ovisi o fiziološkim i patofiziološkim procesima.

07 - 12/P8

BIOKEMIJSKI POKAZATELJI MOGUĆEG TROVANJA OLOVOM PRI PROFESIONALNOJ IZLOŽENOSTI

B. Rekić, D. Juretić¹, R. Petlevski¹, M. Perić, S. Kovač², T. Maričić, R. Peternel

DZ "INA", ¹ Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, ² Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada; Zagreb

Ispitivanje mogućeg trovanja olovom u uvjetima profesionalne izloženosti najčešće se izvodi određivanjem koncentracije olova u krvi (PbK), određivanjem katalitičke koncentracije dehidrataze δ -aminolevulinske kiseline u eritrocitima (D-DALK) i koncentracije protoporfirina u eritrocitima (EP). Zbog vrlo čestih nejasno izraženih i prolaznih otrovanja potrebno je u sklopu ispitivanja primijeniti vrlo osjetljive pokazatelje mogućeg trovanja olovom i prije jasno izraženih kliničkih simptoma. Literaturni podaci pokazuju da je porast katalitičke koncentracije N-acetil- β -D-glukozaminidaze (NAG) u mokraći i serumu jedan od ranijih i osjetljivijih pokazatelja oštećenja proksimalnih tubula u djelatnika izloženih olovu. Određivanje navedenih pokazatelja primijenjeno je u ispitivanjima mogućeg trovanja olovom djelatnika ($n = 33$) benzinskih crpki i utovarnih stanica "INA Trgovine" u Splitu. Kontrolnu skupinu činili su djelatnici koji nisu bili profesionalno izlo-

ženi mogućem trovanju olovom ($n = 33$). Katalitička koncentracija NAG i koncentracija EP izmjerene su spektrofotometrijskim metodama, D-DALK standardiziranom metodom koja se primjenjuje u Europi i olovo metodom elektrotermičke atomske apsorpcijske spektrometrije. Rezultati su pokazali da se katalitičke koncentracije NAG u serumu i mokraći ne razlikuju značajno od vrijednosti u kontrolnoj skupini. Rezultati PbK, D-DALK i EP u 33 ispitivana djelatnika pokazuju da je razina njihove apsorpcije olova unutar granica za našu opću populaciju, a pogotovo unutar dopustivih bioloških graničnih vrijednosti za profesionalnu izloženost olovu (PbK 400 $\mu\text{g/L}$, D-DALK 15l J/L Erc, EP 2,67 $\mu\text{mol/L}$ Erc). Preporuča se da se u djelatnika koji su profesionalno izloženi olovu nakon određenog vremena kontrolira koncentracija primijenjenih pokazatelja toksičnog djelovanja olova i na taj način spriječiti razvoj nepovratnih promjena u organizmu.

07-12/P9

SOME CHARACTERISTICS OF SOMATOSENSORY EVOKED POTENTIALS IN 23 DAYS METHADONE TREATED RATS

M. Bjegović¹, M. Slijepčević¹, S. Sakoman², V. Išgum³

¹ Ruđer Bošković Institute, ² CH "Sisters of Mercy", ³ CHC Zagreb; Zagreb

Methadone is a synthetic analgetic and a derivate of heptanone. It serves as substitute drug for heroine abusers. Methadone has analgetic, sedative and antitussive action and exerts hypnotic and euphoric action as well. The mechanism of the drug action is still poorly understood, especially in diabetic individuals. Hyperglycaemia is a causative factor for various neuropathies. We studied somatosensory evoked potentials (SEPs), simultaneously recorded in healthy and diabetic Wistar rats treated 23 days with methadone (0,87 mg/kg) *per os* daily. Diabetes was induced by alloxan monohydrate (75 mg/kg b.w.i.v.). Our computerized method with adapted structures of hardware and software, necessary for recoding of SEPs in small animals, was used. SEPs analysis showed an enormous increase of P13 amplitude; furthermore, peak-to-peak amplitude P13-N20 was augmented (148%, $p/0,05$) in diabetic methadone treated rats. On the other hand, N29 amplitude was decreased (22,2%; $p/0,01$). The latencies of P13, P25 and P31 were significantly ($p/0,01$) prolonged (P13 to 113,9%; P25 to 110,1% and P31 to 111,9%). The same waves were affected in the

acute experiments after single dose application, as well as in the chronic experiment when 64 days methadone treatment by daily oral application was performed. In conclusion, it is obvious that methadone influenced the same specific structures of the CNS characterized by N20, P25 and P31 waves, regardless of the length (time) of methadone treatment.

07 - 13/P1

VRIJEDNOSTI ANTI-oLDL PROTUTIJELA U STANJU ŠOKA

R. Zrinski, J. Žunić¹, M. Juričić, A. Stavljenić Rukavina

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb,

¹ Služba za anesteziologiju i intenzivno liječenje Opće bolnice Karlovac

Ispitivanja oksidiranog lipoproteina niske gustoće (oLDL) ukazuju na kovalentne promjene u strukturi apoproteina B. Već su i male oksidacijske promjene LDL imunogene pa su dokazana autoantitijela protiv različitih dijelova oksidirane LDL-čestice. Značajne promjene titra anti-oLDL protutijela (oLAB) opisane su kod ateroskleroze, infarkta miokarda i akutne septikemije. U cilju ispitivanja lipidne peroksidacije u stanju šoka određen je titar oLAB u serumu 37 ranjenika neposredno po primitku u bolnicu, a prije započetog liječenja te u 20 kontrolnih uzoraka. Određivanje je provedeno s komercijalnim reagensom oLAB ELISA. Istovremeno su određene vrijednosti ukupnog i LDL-kolesterola. Rezultati pokazuju da je titar anti-oLDL protutijela u bolesnika za 35% niži u odnosu na kontrolnu skupinu pa se može pretpostaviti da u stanju šoka dolazi do pojačanog stvaranja i oslobađanja oLDL te njegove reakcije sa cirkulirajućim protutijelima.

07 - 13/P2

SUPEROKSID-DISMUTAZE U ERITROCITIMA

I. Salamunić

Odjel za laboratorijsku medicinsku dijagnostiku KB Split

Da bi se spriječilo štetno djelovanje "slobodnih radikala" organizam posjeduje nekoliko zaštitnih mehanizama. Jedan od zaštitnih mehanizama su i enzimski antioksidansi. Najpoznatiji enzimski antioksidansi jesu superoksid-dismutaze (SOD), katalaza (CAT) i glutation-peroksidaza (GPX). Superoksid-dismutaza javlja se u nekoliko aktivnih oblika: SOD1 (CuZnSOD) kojeg ima u eritrocitima i citosolu tkivnih stanica, SOD2 (MnSOD) kojeg ima u mitohondrijima i SOD3 koji je izvanstanični enzim i prisutan je u plazmi. U ovom radu ispitana je metoda određivanja aktivnosti SOD u hemolizatu eritrocita. Korišteni su gotovi reagensi Ransel (SD125; Randox labs.). Načelo metode: SOD katalizira razgradnju superoksidnog radikala do vodikovog peroksida i molekularnog kisika. Ksantin i ksantin-oksidadaza stvaraju superoksidne radikale koji reagiraju s 2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolijevim kloridom (INT) i stvaraju formazan. Katalitička koncentracija SOD mjeri se stupnjem inhibicije ove reakcije. Uzorci krvi su oduzmani s EDTA kao antikoagulansom. Od izdvojenih i ispranih eritrocita pripremljen je hemolizat i određena je koncentracija hemoglobina u uzorcima. Promjena apsorpcije prati se na 505 nm kao funkcija vremena od 180 s u termostatiranoj kiveti na 37°C. Ispitana je nepreciznost iz dana u dan za referentno područje ($n = 15$, CV = 7,4%) i patološko područje ($n = 15$, CV = 10,5%) i nepreciznost u seriji za referentno područje ($n = 20$, CV = 4,4%) i patološko područje ($n = 15$, CV = 6,7%). Standardna krivulja rađena je prije svake serije određivanja. Linearnost zadovoljava samo u području inhibicije reakcije između 40% i 60%. Ispitana je stabilnost hemolizata na sobnoj temperaturi, na +4°C i na -20°C. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da je metoda pouzdana.

07 - 13/P3

**TOTAL ANTIOXIDANT STATUS IN PATIENTS WITH
DIFFERENT CLINICAL DIAGNOSIS**

G. Zaja, B. Polenakovic, C. Simeonova, M. Demirevska, S. Trojancanec-Piponska

Oxidative stress occurs in most, if not all human diseases. In order to determine the role of total antioxidant status (TAOS) in the pathology of the illness and as a control of the antioxidant therapy, as a new therapeutic approach we have measured the levels of TAOS in 204 patients and 25 healthy individuals. For that purpose we had used tests from the firm "Randox" and the determination was performed on the Analyser "Cobas Mira Plus" from "Roche Diagnostics Systems". The patients were divided into five groups: 1st group with cardiovascular diseases ($x \pm SD = 1,37 \pm 0,2$), 2nd group with carcinomas of the gastrointestinal tract (GIT) without metastases ($x \pm SD = 2,02 \pm 0,49$), 3rd group with carcinomas of the GIT with metastases ($x \pm SD = 5,19 \pm 1,53$), 4th group with breast carcinoma without MS ($x \pm SD = 2,23 \pm 0,16$) and 5th group with breast carcinoma with MS ($x \pm SD = 5,69 \pm 0,82$). Reference values for our control group were determined and they are the following: $x \pm SD = 1,19 \pm 0,15$; $x \pm SD = 1,19 \pm 0,30$ or 0,0 to 1,49 mmol/L. The recovery for the tested method was 104,8% and CV was 12,6%. The test had shown high significance ($p < 0,001$) as compared with the control group in all the tested groups of patients, and is recommended as one of the markers for monitoring and following the clinical progress of illness. It is also useful for controlling antioxidant therapy.

07 - 14/P1

PROKOLAGEN III PEPTID U NOVOROĐENČADI

V. Jagić, B. Koprčina, M. Bosotina, D. Petro

Opća bolnica "Sveti duh", Zagreb

Prokolagen III peptid (P III P) je sastojak vezivnog tkiva koji se može naći u povišenim koncentracijama u serumu tijekom pojačane aktivnosti fibroblasta i odlaganja kolagena u organizmu. Njegova koncentracija je povišena u svim stanjima pojačanog stvaranja vezivnog

tkiva tj. ožiljka. Cilj ovog rada bio je utvrditi referentni raspon P III P u zdrave novorođenčadi, a ujedno i svrsishodnost rezultata koji značajno odstupaju od referentnog raspona u smislu pokazatelja mogućeg razvitka bronhopulmonarne displazije ili zastoja u rastu novorođenčadi. Krv za analizu uzimana je iz vene kubitalis. Koncentracija P III P u serumu određivana je reagensom RIA P III P (Behringwerke AG). Ispitivali smo vrijednosti P III P u serumu novorođenčadi od navršenog 37. tjedna do 41. tjedna gestacije. Analizirano je 92. djece. Sva djeca su rođena spontano (vaginalno), samo je jedno rođeno carskim rezom. Porodna težina iznosila je od 2 450 grama do 3 750 grama. Sva su djeca bila vitalna pri porodu, a procjena vitalnosti po Apgarovoj nakon 1. i 5. minute bila je između 8 i 10. U 87 novorođenčadi dobivene su vrijednosti P III P od 7,2 do 13,3 U/ml, što smo obzirom na zdravu populaciju uzeli kao referentni raspon s $x = 11,5$ i $s = 1,3$. U petero djece vrijednosti su bile izrazito niske od 3,1 do 3,7 U/ml, međutim u te djece nismo našli poteškoće navedene u cilju rada. Usporedno dobiveni rezultati ukupnog bilirubina i aminotransferaza ukazuju na moguću vrijednost P III P u novorođenčadi.

07 - 14/P2

MOGUĆNOST ODREĐIVANJA STUPNJA BUBREŽNE FUNKCIJE MJERENJEM KONCENTRACIJE KREATININA U SERUMU

R. Bešenić, Z. Flegar-Meštrić, S. Perkov, M. Sabljar-Matovinović¹

Zavod za kliničku kemiju KB "Merkur",¹ Nefrološki odjel Interne klinike
Medicinskog fakulteta i KB "Merkur"; Zagreb

Klirens kreatinina je metoda koja se u svakodnevnom radu koristi za procjenu glomerularne filtracije (GF). Zbog velikog broja mogućih grešaka kao i relativne dugotrajnosti postupka, predložen je niz jednadžbi za određivanje vrijednosti GF preko vrijednosti kreatinina u serumu. Cilj rada bio je usporedba veličine GF dobivene prema Cocroftu i Gaultu koja uzima u obzir dob, spol i tjelesnu težinu u odnosu na standardnu metodu određivanja klirensa kreatinina. Određivanje koncentracije kreatinina vršeno je optimiranom metodom po Jaffeu i enzimsko-kolorimetrijskom PAP metodom. Usporedbom dobivenih vrijednosti klirensa kreatinina na cjelokupnoj ispitivanoj populaciji (ambulantni i bolesnici nefrološkog odjela, $n = 247$) dobiven je stupanj korelacije $r = 0,829$; kod osoba s idealnom tjelesnom težinom

(prema indeksu tjelesne težine - BMI, $n = 82$) $r = 0,878$; kod pretilih ($n = 108$) $r = 0,759$, a kod osoba s akutnim zatajenjem bubrega ($n = 37$) $r = 0,650$. Primjena klirensa kreatinina, računskog i standardnog, predstavlja samo grubu procjenu brzine GF. Kod pretilih osoba, premršavih, trudnica, osoba s disfunkcijom jetre i osoba s nestabilnom bubrežnom funkcijom upotreba jednadžbe je ograničena. Kod osoba mlađih od 30 godina vrijednosti GF su precijenjene, dok su kod osoba u šestom i višim desetljećima života podcijenjene. Izračunavanje veličine GF prema Cocroftu i Gaultu jednostavan je način kojim se mogu dobiti jednako pouzdani rezultati kao i standardnom metodom, kod bolesnika sa stabilnom bubrežnom funkcijom.

07 - 14/P3

KLINIČKA BIOKEMIJA KLINIČKOG CENTRA SARAJEVO U RATU '92 - '95.

E. Suljević, J. Fočo

Institut za kliničku kemiju i biokemiju, Klinički centar Univerziteta u Sarajevu

Analizirane su aktivnosti Instituta za kliničku kemiju i biokemiju Kliničkog centra Sarajevo u ratnom periodu od 1992. do 1995. godine. Rađene su biokemijsko-hematološke analize za bolesnike kirurških i drugih klinika Kliničkog centra. Podaci ukazuju na prestrukturiranje organizacije rada kliničkog laboratorija s mirnodobskih na rad u ratnim uvjetima. Izvršeno je koncentriranje laboratorijske djelatnosti s 11 na dva lokaliteta što podrazumijeva radni prostor, kadrove, laboratorijsku opremu, kemikalije i reagense. Tijekom promatranog ratnog perioda načinjeno je ukupno 3 698 895 pretraga od kojih 27,08% hitnih, što ukazuje na veliki broj obrađenih bolesnika s hitnim i kompliciranim stanjima. Realizacija radnih programa u ratnom periodu je manja za 69% u odnosu na predratne 1990. i 1991. godinu. Liječnici su zahtijevali najviše rutinske hematološke analize, ABS, elektrolite, glukozu, ureju, kreatinin, enzime i analizu urina. Tijekom rata rađeno je ukupno oko 90 vrsta analiza od kojih u Hitnom laboratoriju 20, što je mnogo više od Standarda i normativa WHO koja preporučuje za rad laboratorija države u ratu program od 13 vrsta analiza. Prezentiran je pregled izrađenih analiza po razinama zdravstvene zaštite, obrađenim statusima analiza i funkcionalnim stanjima organa. I pored velikih problema kao što su nedostatak kemikalija, reagensa, rezervnih dijelova i energenata, dat je odgovor kirurškim i drugim klinikama Kliničkog centra na zahtijevane analize.

07 - 14/P4

KOMPLEMENT C3 I C4 U SERUMU BOLESNIKA S BRUCELOZOM

M. Mojsova, M. Pashu, S. Stojkowska, N. Cokrevska

Klinika za infektivne bolesti i febrilne sastojbe, MF Skopje, Makedonija

Imunoreaktivnost na brucelozu je celularna i humoralna. Humoralna imunoreaktivnost uzrokuje pojačano stvaranje specifičnih protutijela. Cilj ovog rada je određivanje koncentracije pojedinih komponenata komplementa u serumu 26 bolesnika s brucelozom i u serumu kontrolne skupine koju čini 15 zdravih osoba. Koncentracija C3 i C4 određena je metodom radijalne imunodifuzije po Manciniju. Vrijednosti komponenata komplementa u kontrolnoj skupini iznosile su $0,90 \pm 0,15$ g/L C3 i $0,28 \pm 0,03$ g/L C4, izraženo aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom. U skupini bolesnika s brucelozom, C3 je iznosio $1,77 \pm 0,90$ g/L, a C4 $0,68 \pm 0,28$ g/L. Dokazana je statistički značajna razlika u koncentracijama C3 i C4 između bolesnika i ispitanika kontrolne skupine ($p < 0,001$). Zaključujemo da je određivanje komponenata komplementa vrijedan pokazatelj aktivne brucelozne infekcije, jer je C3 u bolesnika porastao za 93,3%, a C4 za 88,5%. Mjerenje C3 i C4 s uspjehom se primjenjuje u dijagnostici akutne infekcije u ljudi.

07 - 14/P5

ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI OKSITETRACIKLINA MIKROBIOLOŠKOM METODOM DIFUZIJE NA PETRIJEVIM ZDJELICAMA

T. Turčinov, R. Slišković

Pliva d.d. Osiguranje kvalitete, Laboratorij za mikrobiološke aktivnosti, Zagreb

Antibiotici se određuju često u stočnoj hrani i u biološkom materijalu (serum, mokraća, mišićje, parenhimsko tkivo, mlijeko). Radi se najčešće o uzorcima s vrlo niskim koncentracijama antibiotika pa je za određivanje njihove aktivnosti zbog svoje osjetljivosti najprikladnija mikrobiološka metoda difuzije na Petrijevim zdjelicama. Rad prikazuje određivanje oksitetraciklina sadržanog u Oksitetraciklin 50 umiješanog u stočnu hranu u koncentraciji od 500 ppm. Određivanje aktivnosti oksitetraciklina provedeno je metodom difuzije na Petrijevim zdjelicama.

ma. Postupak je izveden na krutoj hranjivoj podlozi Difco Bacto Antibiotic Assay Medium 8 uz *Bacillus cereus* ATCC 11778 kao test mikroorganizam. Otopine uzorka i standarda pripremljene su otapanjem i razrjeđivanjem u otopini fosfatnog pufera pH 4,5. Standardni niz čine koncentracije od 0,05; 0,1; 0,2; 0,4 i 0,8 g oksitetraciklina/ml. Cilj rada je dokazati da je metoda mikrobiološkog određivanja aktivnosti oksitetraciklina djelotvorna za analitičku primjenu pa je provedena validacija. Kao kriteriji za validaciju provedena su ispitivanja sljedećih parametara: repetibilnost pripreme uzorka, repetibilnost mjerenja, reproducibilnost, točnost i selektivnost. Repetibilnost pripreme uzorka ispitana je na 3 odvage uzorka jednog kontrolnog broja pri čemu je statističkom analizom promjera zona inhibicije dobivena relativna standardna devijacija (RSD) od 3,7%. Repetibilnost mjerenja ispitana je mjerenjem promjera zone inhibicije rasta test mikroorganizama na svakoj Petrijevoj zdjelici 3 puta na Autodata čitaču uz dobivenu RSD = 2,9%. Uz rad 2 analitičara s 4 odvage jednog kontrolnog broja ispitivanog uzorka dobivena je RSD = 3,1% za reproducibilnost. Točnost metode ispitana je u području od 0 - 120% od deklarirane vrijednosti s RSD = 2,9%. Ispitivanje selektivnosti provedeno je uz kontrolni uzorak (bez oksitetraciklina). Pri tome kontrolni uzorak nije dao zone inhibicije rasta test mikroorganizama pa postupak smatramo specifičnim za određivanje oksitetraciklina. Na temelju rezultata ispitivanja navedenih parametara proizlazi da je opisanim postupkom mikrobiološkog određivanja aktivnosti oksitetraciklina moguće trajno dobivati pouzdane podatke.

07 - 14/P6

UTJECAJ OPSTRUKTIVNE ŽUTICE NA AKTIVNOST ALKALNE FOSFATAZE U JETRI I GASTROINTESTINALNOM SUSTAVU

J. Varljen¹, I. Pleše¹, V. Eraković², N. Štrbo¹, J. Rupčić¹, B. Blagović¹, B. Radošević-Stasić³, Č. Milin¹

¹ Zavod za kemiju i biokemiju, ² Zavod za farmakologiju, ³ Zavod za fiziologiju i imunologiju, Medicinski fakultet u Rijeci

Opstruktivna žutica je bolest udružena s promjenama u aktivnosti jetrenih enzima. Alkalna fosfataza (ALP) je enzim četkastog ruba s optimalnom aktivnošću u alkalnom mediju (pH 9,8 - 10,5) i sposobnošću hidroliziranja različitih monofosfatnih estera. Aktivnost ALP u korelaciji je s funkcionalnim stanjem mukoze, ali promjene nisu speci-

fične pa stoga različiti čimbenici mogu uzrokovati iste promjene ALP. Cilj našeg rada bio je ispitati utjecaj opstruktivne žutice na aktivnost ALP u jetri i cijelom gastrointestinalnom sustavu (GIT). U radu su korišteni BALB/c miševi 3 mjeseca stari, u kojih smo izazvali opstruktivnu žuticu podvezujući ductus choledocus. Uzorci tkiva uzimani su sa 6 različitih mjesta u GIT (antrum, duodenum, jejunum, ileum, cecum, rectum) i iz jetre. Životinje su žrtvovane cervikalnom dislokacijom prije opstrukcije te 1., 2. i 3. dana poslije izazvane opstrukcije. Određivanje aktivnosti ALP učinjeno je po McCombu i suradnicima. Aktivnost ALP u tkivu jetre proporcionalno je rasla s vremenom opstrukcije sve do 3. dana. Poslije toga (7. dana) imala je tendenciju pada. Aktivnost ALP u duodenumu smanjivala se 1. i 2. dana s kasnijim oporavkom. Aktivnost ALP u jejunumu, ileumu i cecumu raste proporcionalno s vremenom trajanja opstrukcije. Kod oba uzorka najniža razina postignuta je 7. dana po opstrukciji. Iz naših rezultata vidljivo je da opstruktivna žutica izaziva promjene u aktivnosti ALP jetre i različitih dijelova GIT.

07 - 14/P7

DISTRIBUCIJA GALEKTINA-3 U MIŠJIM PERITONEALNIM MAKROFAGIMA NAKON RAZLIČITOG VREMENA KULTIVIRANJA

J. Dumić, M. Hadžija¹, K. Barišić, G. Lauc, M. Slijepčević¹, M. Flögel

Zavod za biokemiju i molekularnu biologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta,

¹ Institut "Ruđer Bošković", Zagreb

Galektin-3, Mr 29 - 35 kD, je član obitelji topljivih lektina, nazvanih galektini, koji specifično prepoznaju β -galaktozu. Kimerni galektin-3 je identificiran kao: CBP 35 (engl. carbohydrate-binding 35 kD protein) na 3T3 fibroblastima, površinski antigeni 34 i 31 kD koji vežu galaktozu na mišjim i ljudskim metastaznim tumorima, protein koji veže IgE na štakorskim bazofilnim stanicama i površinski antigen Mac-2, 32 kD, na mišjim makrofagima pobuđenim tioglikolatom. Određivanje aminokiselinskog slijeda ovih proteina otkrilo je visoku homolognost unutar obitelji galektina. Identifikacija i izolacija galektina-3 iz raznovrsnih staničnih tipova i tkiva govori o različitosti njegove uloge u biološkim sustavima. Iako je prikupljen veliki broj podataka o strukturnim obilježjima i reakcijama galektina-3 *in vitro*, malo se zna o njegovoj fiziološkoj ulozi. Zadaća je ovog rada utvrditi raspodjelu galektina-3 u staničnim odjeljcima mirujućih mišjih peritonealnih

makrofaga i kultivirajućem mediju nakon prijenosa stanica u kulturu i adhezije na plastičnu podlogu te ispitati kako različito vrijeme kultiviranja utječe na tu raspodjelu. Makrofagi su dobiveni ispiranjem peritonealne šupljine miševa NOD (H-2^d) soja, mužjaka, starih četrnaest tjedana te kultivirani 1,5; 3 i 24 sata na 37°C uz 5% CO₂. Nakon diferencijalnog centrifugiranja alikvoti kultivirajućih medija i stanične frakcije podvrgnuti su imunoprecipitaciji. *Imunoblot* analiza je pokazala da je raspodjela galektina-3 u staničnim odjeljcima mirujućih mišjih peritonealnih makrofaga i kultivirajućem mediju ovisna o vremenu kultiviranja. Količina galektina-3 u jezgrama pada u ovisnosti o vremenu kultiviranja, dok u odjeljku membrana raste. Sadržaj galektina-3 otpuštenog u kultivirajući medij također raste. Količina galektina-3 prisutna u citoplazmatskoj frakciji ne pokazuje ovisnost o vremenu kultiviranja. Daljnja će ispitivanja biti usmjerena k boljem razumijevanju takve raspodjele te utvrđivanju čimbenika koji na nju utječu.

07 - 14/P8

UVODENJE LAL-TESTA ZA ODREĐIVANJE BAKTERIJSKIH ENDOTOKSINA U OTOPINAMA ZA PARENTERALNU PRIMJENU

I. Radaljic-Pfeiffer, B. Magaš, M. Augustinović

Pliva d.d. Osiguranje kvalitete, Zagreb

Farmaceutski pripravci za parenteralnu primjenu moraju biti apirogeni, odnosno njihova aplikacija ne smije izazvati porast temperature primaoca. Među pirogenim tvarima najvažnije mjesto pripada endotoksinima gram negativnih bakterija (GNB), premda i drugi mikroorganizmi, kao i nemikrobne tvari, mogu izazvati porast temperature. Praktički, sve kontaminacije proizvoda za parenteralnu primjenu su s endotoksinima GNB, za koje se pokazalo da u prisutnosti kalcijevih iona uzrokuju koagulaciju vodenog ekstrakta amebocita izoliranih iz raka *Limulus polyphemus* (LAL-test). Budući da se ostali uzroci pirogenosti mogu kontrolirati dobrom proizvođačkom praksom u proizvodnji farmaceutskih pripravaka, rezultati LAL-testa kojim se dokazuje odsutnost endotoksina, mogu se općenito interpretirati kao odsutnost pirogenih tvari. Cilj ovog rada bio je ispitivanje kompatibilnosti otopina za infuziju iz proizvodnog programa Plive i LAL-testa. Ispitivanje je uključivalo sljedeće faze: 1. početna validacija laboratorija (va-

lidacija pripreme posuda, standardizacija kontrolnog standarda endotoksina, provjera osjetljivosti lizata); 2. ispitivanje prisutnosti učinka inhibicije odnosno pojačanja reakcije lizata i 3. validacija LAL-testa za svaki proizvod. U radu su korišteni komercijalno pristupačni reagensi (Limulus amebocyte lysate, kontrolni standard endotoksina i referentni standard endotoksina) i ampulirana voda za injekcije (Pliva) u kojoj su reagensi otopljeni. Za ispitivanje je korištena metoda formiranja gela. Najvažniji dio pripreme posuda jest njegova depirogenizacija suhom toplinom. Na temelju provedenog ispitivanja, depirogenizacija se provodi 3 sata na 200°C, za koje vrijeme se početna količina endotoksina smanji za 4 log. U ispitivanim otopinama aminokiselina, ugljikohidrata, otopinama za nadomjestak krvi i osmotskim diureticima nije prisutan učinak inhibicije niti pojačanja reakcije lizata. Sve ispitivane otopine kompatibilne su s LAL-testom, odnosno osjetljivost lizata u prisutnosti ispitivanih otopina nalazi se unutar propisanog raspona. Na temelju dobivenih rezultata, ranije upotrebljavan biološki test pirogenosti na kunićima zamijenjen je bržim i jednostavnijim LAL-testom.

07 - 14/P9

DIJAGNOSTIČKO ZNAČENJE ENZIMA U ŽELUČANOM SOKU

V. Jagić, P. Sikirić, M. Bosotina, J. Lazić

Opća bolnica "Sveti duh", Zagreb

Cilj ovog rada bio je preispitati hipotezu o ulozi želuca u obrani organizma od najrazličitijih štetnih noksi. Pretpostavljamo da iz želuca započinje obrambeni odgovor organizma na stres uzrokovan različitim bolestima. Određivali smo katalitičke koncentracije AST, ALT, CK, LDH, ALP i GGT te koncentracije ureje i kreatinina u želučanom soku odabranih skupina bolesnika. Odabir skupina bolesnika učinjen je u nastojanju da se na osnovi općenito prihvaćenih, logičnih i kliničkih kriterija kvalificira i kvantificira stupanj stresa, odnosno ugroženost bolesnika od benignih stanja (hernija disci i gastritis), ugroženih stanja (kolelitijaza, akutni pankreatitis, tumor) i životno ugroženih stanja (traume i akutni abdomen). Katalitičke koncentracije enzima određivali smo standardnim metodama. Vrijednosti enzima u želučanom soku i u bolesnika s hernijom disci i u bolesnika s gastritisom su niske i međusobno se ne razlikuju. Vrijednosti enzima u bolesnika s kolelitijazom, pankreatitisom i s tumorom više su nego u prve dvije

skupine bolesnika, a značajno niže nego u bolesnika s akutnim abdomenom i bolesnika s traumom. Ova ispitivanja pokazuju da se želučani sok može koristiti kao biološki materijal gotovo jednako kao i serum. Dobivene su normalne vrijednosti navedenih biokemijskih pretraga, odnosno referentni raspon u želučanom soku. Prednost želučanog soka u odnosu na serum je u tome što pokazuje znatno veću osjetljivost. Na temelju dobivenih rezultata predložena je "kvalifikacija stupnja stresa" i dobivena je "kvantifikacija stupnja stresa" među ispitivanim skupinama bolesnika.

07-14/P10

ESTERAZE KOJE DEACILIRAJU MONOSAHARIDE PRISUTNE SU U SERUMIMA SISAVACA I ČOVJEKA

M. Krstanović¹, J. Tomašić¹, S. Tomić-Pisarović²

¹ Imunološki zavod d.d., ² Zavod za organsku kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta; Zagreb

Serumi sisavaca i čovjeka su bogati izvori različitih skupina esteraza (acetilkolinesteraze, butirilkolin- ili pseudokolinesteraze, karboksilesteraze i paraoksonaze). Uz važnu ulogu u temeljnim fiziološkim procesima, prisutnost esteraza u serumima, krvnim stanicama i organima je neophodna za očitovanje pune farmakološke aktivnosti nekih predlijekova koji se daju u obliku estera. U ranijim ispitivanjima pokazali smo da serumi sisavaca i čovjeka sadrže esterase koje deaciliraju monosaharide. Takve se esterase mogu primjeniti kao selektivni katalizatori u organskoj kemiji pri deprotekciji različitih aciliranih monosaharida (glukoze, manoze, ksiloze, N-acetilglukozamina) zaštićenih acetilnom ili pivaloilnom skupinom. U radu je prikazano djelomično pročišćavanje esteraza iz seruma zamoraca i kunića kromatografijom na DEAE-Sepharose CL-6B. Kao reprezentativni supstrat, s kojim su vršena sva preliminarna ispitivanja, upotrebljavan je metil-2,6-di-O-pivaloil- α -D-U-¹⁴C glukopiranozid (2,6-DP). Određene su značajke pročišćenih enzima, za koje je utvrđeno da spadaju u karboksilesteraze iz obitelji serinskih esteraza. Izolirani enzimi se s obzirom na podrijetlo razlikuju u afinitetu za hidrolizu pivaloilne skupine na položaju 2 ili 6. Serumi viših sisavaca, kao i ljudski serum, pokazuju znatno slabiju esteraznu aktivnost prema 2,6-DP, ali je kod svih otkrivena aktivnost enzima koja dovodi do unutarmolekularne migracije pivaloilne skupine s položaja 2 na položaj 4, uz nastajanje 4,6-DP.

07-14/P11

**THE EFFECTS OF THE SERA OF INJURED PATIENTS
ON THE GROWTH OF THE HUMAN PERIPHERAL
BLOOD MONONUCLEAR CELLS: POSSIBLE
INVOLVEMENT OF THE HEPARIN BINDING
HUMORAL FACTORS IN THE PHENOMENON
OF ENHANCED OSTEOGENESIS IN THE PATIENTS
WITH TRAUMATIC BRAIN INJURY**

R. Wildburger², S. Borović¹, N. Žarković¹, A. Meinitzer², W. Petek², M. Jurin¹

¹ Ruđer Bošković Institute, Zagreb; ² University Clinic of Traumatology, Graz, Austria

Among the most provocative phenomena is the phenomenon of enhanced osteogenesis in patients with traumatic brain injury (TBI). In these patients very early consolidation of bone fractures is followed by hypertrophic callus formation or with heterotopic ossifications. Although the mechanism of this phenomenon is not clarified, it seems to be based on certain, not yet identified, humoral factors influencing tissue regeneration. Thus, the aim of the study was to get some information about the possible influence of such humoral factors on the immune system and, hence, indication on their nature and the involvement of the immune system in the phenomenon itself. We have analysed the growth of the normal human peripheral blood mononuclear cells (PBM) incubated in the presence of sera of differently injured patients and the same sera after heparin-affinity chromatography. Four experimental groups comprised subjects with the following: 1) fractures (FRA) of long bones or large joints (n = 9), 2) traumatic brain injury (TBI) only (n = 11), 3) combined traumatic brain injury and the bone fractures (TBI + FRA) (n = 10), and also 4) healthy volunteers. Effects of the sera prepared as pooled samples obtained weekly during the first four posttraumatic weeks on the growth of the PBM in the presence of 2,5 g/ml PHA-L or in the absence of the mitogen, determined by the intensity of the ³H-thymidine incorporation, were compared with the effects of the same concentration (1%) of the normal human pooled (n = 10) serum. In all samples of injured patients sera, decreased PHA reactivity was observed with the tendency of recovery in the fourth week after injury, except in TBI + FRA group of patients where there was no recovery during the whole period. Removal of heparin binding humoral factors from the sera caused changes in PBM reactivity on mitogen. In all

groups there was stimulation in comparison with original sera samples of the same group, but there were differences between different group of patients. Removal of heparin binding humoral factors can cause stimulation in PBM reactivity on mitogen in FRA, or inconsistent behaviour in TBI, but there still is suppression in PBM reactivity on mitogen in TBI + FRA group of patients. Spontaneous ^3H -TdR incorporation can switch from normal values (FRA, TBI) to normal or slightly suppressed (FRA), suppression (TBI) or may remain suppressed (TBI + FRA). It was supposed that some humoral factors can be related with phenomenon of enhanced osteogenesis in patients with TBI + FRA. It seems that such humoral factors remain in the sera after removal of heparin binding compounds and that some humoral factors acting as suppressors are removed from the sera. Therefore, further investigation of heparin binding humoral factors seems very useful.

07-14/P12

PROGRAMIRANA SMRT β -STANICA LANGERHANSOVIH OTOČIĆA U ŠEĆERNOJ BOLESTI OVISNOJ O INZULINU

**L. Rumora, M. Hadžija, E. Pape-Medvidović, I. Pavlić-Renar, Ž. Metelko,
D. Juretić, M. Slijepčević**

Institut "Ruđer Bošković", Farmaceutsko-biokemijski fakultet; Zagreb

Značajka je šećerne bolesti neovisne o inzulinu (NIDDM), u velikom broju slučajeva, povišena koncentracija glukoze u krvi i povišena koncentracija inzulina. U tih bolesnika je također povišena koncentracija amilina u serumu. Amilin je polipeptid od 37 aminokiselina i sastavni je dio β -stanica Langerhansovih otočića (Lo). Svojim djelovanjem uzrokuje inzulinsku rezistenciju i smanjenje glikogena u mišićima, a u izravnom kontaktu amilinska vlakna uzrokuju fragmentaciju DNA i programiranu smrt β -stanica Lo. U našim pokusima ispitali smo uzrokuje li serum bolesnika oboljelih od NIDDM, koji sadrži amilin, fragmentaciju DNA i programiranu smrt - apoptozu Lo pankreasa. U pokusima su korišteni izolirani Lo štakora. Otočići, izolirani s pomoću enzima kolagenaze, su inkubirani 48 sati na 22°C s različitim koncentracijama seruma bolesnika oboljelih od NIDDM. Vijabilnost -stanica Lo određena je pod fluorescentnim mikroskopom nakon bojenja s propidijevim jodidom. Stanična DNA je izolirana kloroform/fenolskom

ekstrakcijom, a fragmentacija DNA je utvrđena gel-elektroforezom. Rezultati su pokazali da serum bolesnika oboljelih od NIDDM (hiperglikemija i hiperinzulinemija) znatno smanjuje vijabilnost β -stanica Lo u kulturi tkiva, što se morfološki očituje kao apoptotički proces. Ovi rezultati pokazuju da je DNA Lo rani cilj amilina koji uzrokuje fragmentaciju DNA, apoptozu i smrt β -stanica Lo bolesnika oboljelih od NIDDM.

07-14/P13

PRELIMINARNI REZULTATI KOAGULACIJSKIH TESTOVA IZMJERENIH NA INSTRUMENTU ACL-200 IL

L. Buneta, V. Zovko, A. Radošević, M. Jović, V. Mlinarević

Medicinsko-biokemijski laboratorij Klinike za plućne bolesti "Jordanovac", Zagreb

Uvođenjem automatizacije u laboratorijsku dijagnostiku znatno je olakšan i koagulacijski *screening* odnosno praćenje koagulacijskih nalaza u osoba koje primaju profilaksu i terapiju s antikoagulatnim lijekovima. U tu svrhu služimo se automatiziranim nefelometrijskom analizatorom ACL-200 IL (Instrumentation Laboratory SpA). Na tom smo instrumentu, uz kontrolu s komercijalnom plazmom i kalibracijskom plazmom istog proizvođača, rutinski određivali protrombinsko vrijeme (PV), fibrinogen, aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV) i trombinsko vrijeme (TV). Da bi procijenili dobivene rezultate, ispitivali smo navedene varijable u tzv. *pool* plazmi dobivenoj od deset osoba koje primaju antikoagulantnu terapiju i u *pool* plazmi dobivenoj od deset osoba koje ne primaju terapiju. Analizirali smo nepreciznost rezultata i izrazili ih kao koeficijent varijacije (KV) u odnosu na komercijalnu kontrolnu plazmu te našli da KV za PV u seriji iznosi 1,72 - 3,65%, a iz dana u dan 1,58 - 4,94%. Koeficijent varijacije za APTV u seriji iznosi 0,45 - 2,41%, a iz dana u dan 1,23 - 2,60%. Za TV u seriji KV je 1,39 - 2,19%, a iz dana u dan 3,21%. Konačno, za fibrinogen u seriji KV je 1,28 - 3,1%, a iz dana u dan 3,74%. Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti da je instrument ACL-200 IL pouzdan i jednostavan za rukovanje te da se uz primjenu komercijalne kontrolne i kalibracijske plazme mogu postići pouzdani koagulacijski nalazi.

07-14/P14

PROCJENA NALAZA KONCENTRACIJE TEOFILINA I DIGOKSINA U SERUMU KARDIOPULMONALNIH BOLESNIKA

L. Buneta, V. Mlinarević, M. Jović, V. Zovko, A. Radošević

Medicinsko-biokemijski laboratorij Klinike za plućne bolesti "Jordanovac", Zagreb

Koncentraciju teofilina i digoksina u serumu određivali smo ELISA metodom (Teofilin CEDIA^R i Digoksin CEDIA^R, Boehringer Mannheim) na instrumentu Hitachi 704 C. Metodom slučajnog uzorka odabrali smo i analizirali koncentraciju teofilina u 67 bolesnika s kroničnom opstruktivnom bolesti pluća (COPD), a koncentraciju digoksina u serumu 42 slučajno odabrana bolesnika koji su pored COPD imali znakove popuštanja srca. Našli smo da je koncentracija teofilina u serumu bila u rasponu od 0,1 do 32,2 µg/ml (srednja vrijednost = 10,05 µg/ml), dok je koncentracija digoksina bila u rasponu od 0,05 do 4,51 ng/ml (srednja vrijednost = 1,45 ng/ml). Analizirajući preciznost mjerenja u seriji unutar dana, našli smo da je koeficijent varijacije u kontrolnom serumu niske koncentracije teofilina bio 1,16 - 4,56%, dok je pri visokim koncentracijama bio 1,25 - 1,93%. Preciznost mjerenja iz dana u dana pri niskim koncentracijama teofilina u kontrolnom serumu bila je 2,05%, a pri visokim koncentracijama teofilina 2,92%. Preciznost mjerenja digoksina u seriji unutar dana u kontrolnom serumu s niskom koncentracijom digoksina bila je 3,67 - 15,1%, a pri visokoj koncentraciji 1,75 - 6,65%. Preciznost mjerenja iz dana u dan pri niskoj koncentraciji digoksina u kontrolnom serumu bila je 11,7%, a pri visokoj koncentraciji digoksina u kontrolnom serumu 3,39%.

07-14/P15

MONOETILGLICINKSILIDID TEST - LIDOKAIN - STANDARNI JETRENI TESTOVI

Z. Zupančič, M. Sedmak, J. Lukač-Bajalo, G. Logar-Car

Dječja klinika, Ljubljana, Slovenija

Cilj ovog rada bio je prikazati eliminaciju lidokaina, nastajanje lidokainskog metabolita monoetilglicinksilidida (MEGX) i usporedbu MEGX testa sa standardnim jetrenim trestovima kod djece s kronič-

nom bolešću jetre. Monoetilglicinksilidid nastaje oksidativnom N-deetilacijom uz pomoć jetrenog citokroma P₄₅₀ ili A₄ sustava. Uzorke venske krvi za određivanje koncentracije lidokaina i MEGX uzeli smo prije i nakon aplikacije lidokaina (i.v. doza lidokaina 1 mg/kg tjelesne težine), u vremenskim intervalima od 0, 5, 15, 30, 60, 120 i 240 minuta. Koncentracije lidokaina i MEGX u serumu odredili smo s FPIA metodom na analizatoru TD_x FL_x (Abbott). Standardne jetrene testove odredili smo standardnim metodama na analizatoru Monarch (IL). Djecu s kroničnom bolešću jetre podijelili smo u dvije skupine: a. djeca s još normalnim MEGX testom i b. djeca s patološkim MEGX testom kod kojih se već razvila ciroza jetre. Rezultate smo statistički obradili s Wilcoxonovim testom. Niska aktivnost kolinesteraze (ChE) u serumu bila je statistički značajna kod djece s patološkim MEGX testom ($p < 0,05$). Iste rezultate dobili smo s visokom koncentracijom amonijaka te ukupnog i direktnog bilirubina ($p < 0,05$). Aktivnosti AST, ALT i GGT su bile više u obje skupine, ali bez značajne razlike. Isto tako nije bilo značajne razlike u koncentraciji albumina i protrombina u serumu. Kinetika eliminacije lidokaina pokazuje razliku između djece s normalnom jetrenom funkcijom i djece s cirozom jetre. MEGX test je jednostavan, brz, kvantitativan test, koji nam omogućava otkrivanje djece s kroničnom bolešću jetre kod kojih se već razvila ciroza jetre. Kod uspoređivanja MEGX testa s koncentracijom albumina i protrombina možemo zaključiti da je MEGX test raniji pokazatelj pogoršanja bolesti. Naši rezultati pokazuju da je vrijednost MEGX testa manja od 15 µg/L (nakon 15 min) vrlo slab prognostički pokazatelj kod djece koja čekaju na transplantaciju jetre.

ZNAČAJ ODREĐIVANJA ANTIGLIJADINSKIH I ENDOMIZIJALNIH ANTITIJELA U DJECE OBOLJELE OD CELIJAKIJE

V. Žižić, I. Linarić, S. Kolaček

Klinika za dječje bolesti Zagreb

Celijakija je kronična, imunološki posredovana bolest tankog crijeva, koja u ranoj dječjoj dobi može imati osobito težak tijek i neliječena letalno završiti. Stoga je od posebnog interesa utvrditi vrijednost antiglijadinskih antitijela (AGA) razreda IgG i IgA i endomizijalnih antitijela (EMA) razreda IgA, u dijagnostici celijakije. To se može utvrditi praćenjem korelacije patohistološkog nalaza biopsije sluznice tankog crijeva u akutnoj fazi bolesti u djece niže dobne skupine (1-5 godina). Ovi serološki testovi su visoke osjetljivosti i specifičnosti, jednostavni su za bolesnika, jer je potrebna vrlo mala količina seruma. Antiglijadinska antitijela razreda IgG i IgA određuju se metodom korištenja imunosorbenta povezanog s enzimima (ELISA). Endomizijalna antitijela razreda IgA određuju se metodom indirektne imuno fluorescencije korištenjem ezofagusa majmuna, kao antigena. Ispitano je 15. hospitalizirane djece u dobi od 1-5 godina. U svih bolesnika učinjena su sva tri serološka testa i biopsija tankog crijeva. Test antiglijadinskih antitijela tipa IgA razreda ima gotovo stopostotnu osjetljivost, a i specifičnost mu je vrlo visoka. Antitijela tipa IgG razreda imaju visoku osjetljivost, ali nižu specifičnost. Endomizijalna antitijela imaju vrlo visoku i osjetljivost i specifičnost.

Na temelju dobivenih rezultata zaključujemo da ovi serološki testovi mogu služiti kao pouzdana indirektna metoda u dijagnostici celijakije, u djece niže dobne skupine, ali samo ako se istovremeno određuju sve tri vrste antitijela.

07-14/P17

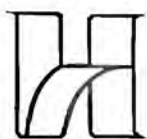
**N-ACETI- β -D-GLUKOZAMINIDAZA U SERUMU I URINU
FLORIZINOM TRETIRANIH DIJABETIČNIH ŠTAKORA**

J. Sikirica, B. Jamnický, D. Juretić¹, N. Ugrinović, V. Gomerički, I. Čepelak, Cs. Dohoczky, M. Slijepčević

Farmaceutsko-biokemijski fakultet, "Pliva" d.d., Institut "Ruđer Bošković", Zagreb

Može li florizin spriječiti metaboličke poremećaje u oboljelih od dijabetesa?

Florozon smanjuje koncentraciju glukoze u krvi i time normalizira osjetljivost inzulinskih receptora prema inzulinu. Aktivnost N-acetil- β -D-glukozaminidaze (NAGA) se u dijabetesu povišuje u serumu i urinu. Aktivnost u urinu je uz to i osjetljiv pokazatelj oštećenja bubrežnih tubula. Pokusom smo uspoređivali 77 štakora u 6 skupina: kontrolni (K), kontrolni tretirani florizinom (K+F), dijabetični (D), dijabetični tretirani florizinom (D+F), dijabetični tretirani inzulinom (D+I) i dijabetični tretirani inzulinom i florizinom (D+I+F). NAGA je određivana spektrofotometrijskom metodom po O'Brienu i sur. NAGA u serumu je u skupinama K i K+F jednaka. U svim dijabetičkim skupinama je značajno povišena, dok je u skupini D+I+F istovjetna vrijednostima kontrolnih skupina. NAGA u urinu se u skupinama D i D+I povišuje u odnosu na K i K+F. U skupini D+F kao i D+I+F je niža od aktivnosti u D i D+I i gotovo jednaka vrijednostima u K i K+F. Florizin je pokazao dobar učinak, a istraživanje na većem broju životinja treba proširiti sa još nekim pretragama.



HERBOS d.d. SISAK, HRVATSKA

PROIZVODNI PROGRAM:

KLINIČKA KEMIJA:

- Enzimi
- Supstrati
- Elektroliti
- Kalibratori / kontrolni serum

HEMATOLOGIJA

- Reagensi za hematologiju
- Kalibratori
- Otopine za brojače.

HEMOSTAZA

- Reagensi za koagulaciju

TEST PROBIranJA

- Hemocult II



SISAK, Nikole Tesle 17

Tel: 044/543-333; Fax: 044/540-069

Indeks autora

Adžić, M. 01/P10
Alač, M. 03/P3
Alpeza, I. 01/P2
Altabas, V. 05/P18
Antoljak, N. 05/P10, 04/P3
Aralica, M. 05/P6
Ariga, T. 03/P5
Augustinović, M. 07-14/P8

Baljak, N. 01/P4
Ban, J. 06/P6, 06/P7
Banek, Lj. 06/P4
Banek, T. 06/P4
Bangov, J. 01/P8
Banović, M. 05/P6
Barišić, K. 04/P13, 07-14/P7
Barišić, N. 04/P6
Batinić, D. 05/P1
Beljan, B. 03/P7
Bernt, T. 05/P11, 05/P16
Bešenić, R. 07-14/P2
Bilandžić, N. 03/P4
Bilić, A. 01/P3, 01/P13
Bilić-Zulle, L. 01/P7, 06/P5
Bingulac-Popović, J. S6/7
Biškup, J. S6/4
Bjegović, M. 07-12/P9
Blagović, B. 07-14/P6
Blazinić, F. 07-12/P3
Boban, D. 05/P1
Bogdanić, V. 05/P22
Bogdanova, M. 05/P19
Bojčić, B. S2/9, 05/P5
Borović, S. 07-14/P11
Bosotina, M. 07-14/P1, 07-14/P9
Bošnjak, N. 05/P7, 05/P8
Boyd, C.A.R. S4/1
Brdar, B. 06/P6
Brijaček, Lj. S2/9, 05/P5

Brkljačić, Lj. 07-2/P1
Brkljačić, V. 01/P7
Bukovec, Ž. 04/P12
Buneta, L. 07-14/P13, 07-14/P14

Canki-Klain, N. 04/P6
Car, N. S2/8
Ceraj-Cerić Klier, Lj. 05/P18
Cеровac, Ž. 06/P7
Cetina, N. 06/P3
Crnokrak, S. 07-8/P2
Cvitanović-Šojat, Lj. 07-6/P3
Cvrtila, D. S6/2

Čabrijan, T. 05/P18
Čačić, M. 07-6/P4
Čepelak, I. R4/1, 04/P13, 06/P2, 07-12/P1,
07-12/P6, 07-12/P7
Čokrevska, N. 07-14/P4
Čorić, J. 02/P1, 02/P2
Čubrilo-Turek, M. 03/P1
Čvorišćec, D. S1/3, 01/P1, 01/P3, 01/P12,
01/P13, 05/P2, 04/P5, 04/P10, 07-6/P2

Däschner, M. 05/P9
Demirevska, M. 07-13/P3
Demirović, J. 06/P2, 07-12/P1, 07-12/P6
Dimovska-Jordanova, V. 04/P7
Dodig, S. S2/7, 04/P13, 07-6/P1, 07-12/P1,
07-12/P6
Domazetovska, S. 05/P19
Draženić, K. 07-8/P1
Drezga, Z. 01/P16
Dubravčić, M. 05/P15
Dujmov, I. 04/P8, 07-8/P4
Dumić, J. 07-14/P7
Dumić, M. 07-2/P1
Duvnjak, M. 05/P10
Dvornik, Š. 07-8/P1

- Eraković, V. 07-14/P6
Erwa, W. 07-6/P3
Ewald, K. R6/1
- Ferber, D. 05/P6
Ferenčak, G. 04/P13
Fijačko, M. 03/P6, 06/P3
Fišić, E. 03/P7
Flegar-Meštrić, Z. S1/6, 07-5/P1, 07-9/P1,
07-14/P2
Flögel, M. 07-14/P7
Fočo, J. 07-14/P3
Frkanec, R. 07-5/P2
Fuller, D. R5/2
Fumić, K. 04/P4, 07-6/P2, 07-6/P3
Futač-Papić, D. 07-12/P3
- Gamulin, S. 06/P9
Garilović, J. 07-12/P5
Gavella, M. S3/2
Genbačev-Krtolica, O. S3/1
Getaldić, B. 05/P18, 05/P21
Gojmerac, T. 03/P4
Graf, D. S6/4
Grahovac, B. S6/7
Granić, P. 07-6/P2, 07-6/P3
Grebear, M. 06/P4
Grgić, V. 06/P1
Guder, W.G. S1/1
Gnther, G. R3/1
- Hadžija, M. 07-14/P7, 07-14/P12
Handl, S. 05/P21
Heinzl, R. 06/P4
Heriban, V. R4/2
Hirschl, M.M. R2/1
Hitrec, V. 05/P22
Honović, L. 01/P6, 01/P7
Hofmann, W. S1/1
Hrzenjak, T. 05/P17
Huderer-Đurić, K. R5/3
Huić, M. 07-12/P2
- Ilić, A. 05/P4, 05/P15
Ille, J. 07-2/P1
Išgum, V. 07-12/P9
Ivanišević, A.M. 01/P5
Ivanković, S. 05/P14
Ivelja, N. 05/P7, 07-8/P4
Ivelja, Lj. 07-8/P4
Ivić, A. 06/P9
- Jagić, V. 05/P14, 07-14/P1, 07-14/P9
Janković, Đ. 05/P16
- Jeličić, D. S1/5
Jović, M. 07-14/P13, 07-14/P14
Juretić, D. S1/4, 01/P15, 01/P17, 07-12/
P8, 07-14/P12
Juričić, M. 04/P10, 07-13/P1
Jurin, M. 07-14/P11
- Kadić, B. 05/P18
Kadrnka-Lovrenčić, M. 03/P2
Kalajlić, A. 02/P1, 02/P2
Karas, D. 05/P14
Kardum-Skelin, I. 02/P3
Kaštelan, A. 07-2/P1
Kaštelan, M. 05/P10
Kelez-Lauc, M. 04/P11
Kelly, A.M. S2/1
Kes, P. 05/P21
Kljaić, K. 07-9/P2
Knežević, F. S6/4
Knežević, N. 05/P15
Koprčina, B. 07-14/P1
Koprčina, M. 05/P21
Kordić, D. S5/2
Kovač, S. 07-12/P8
Kozmar, D. 01/P9, 06/P3
Kožaj, M. 07-12/P5
Kračun, I. 03/P5, 07-6/P4
Krajačić-Karas, G. 05/P6
Krajnović, V. 06/P1
Kralik, S. 05/P11, 05/P16
Kralj, D. 05/P1, 05/P3, 05/P22
Kranjčević, S. 07-8/P3
Krašević, M. 06/P5
Krmek-Helfrih, B. S2/9, 05/P5
Kronja-Negro, J. 01/P4
Krpán, R. 04/P2
Krstanović, M. 07-14/P10
Krstulović, A. 04/P9
Kunović, B. 06/P2
Kusić, Z. S5/2
Kuvačić, I. 05/P11, 05/P16
- Labar, B. 05/P1, 05/P3, 05/P22
Ladika, B. S5/2
Laginja, J. 06/P8
Lauc, G. 07-14/P7
Lazić, J. 07-14/P9
Lehpamer, B. 06/P2
Lipovac, V. S5/5
Loeber, J.G. S1/2
Logar-Car, G. 07-14/P15
Lončarek, J. 06/P6
Lovreček, J. 07-9/P3

- Lovrić, M. 01/P3, 01/P13
 Lovrić, Z. 07-12/P2
 Lučić, Đ. 06/P1
 Lukač, J. S5/2
 Lukač-Bakalo, J. 07-14/P15
 Lukin, A. 05/P8
 Lukinac, Lj. S6/5
 Lutkić, A. 05/P18
 Ljevaković, Đ. 07-5/P2
 Ljutić, D. 04/P8, 07-8/P4

 Macolić-Šarinić, V. 07-12/P2
 Magaš, B. 07-14/P8
 Malenica, B. 04/P9
 Malešić, I. S6/6
 Mandić, B. 03/P4
 Maradin, M. 07-6/P2, 07-6/P3
 Maričić, T. 07-12/P8
 Marout, J. 04/P2
 Martinović, D. 05/P4
 Marušić, M. 06/P5
 Matišić, D. 05/P2, 04/P5
 Mayer, V. 05/P11, 05/P16
 Medar-Lasić, M. 04/P13
 Meinitzer, A. 07-14/P11
 Mandler, S. 01/P9, 06/P3
 Metelko, Ž. 07-14/P12
 Mihaljević, I. 02/P3
 Mihatov, Š. 02/P4
 Mihalj, J. 07-8/P1
 Mikajić, D. 03/P5
 Milanović, B. 07-12/P3
 Mildner, B. 04/P2, 07-2/P2
 Milin, Č. 06/P8, 07-14/P6
 Mišulić, J. 04/P11
 Mladina, B. 04/P8, 07-8/P4
 Mlinarević, V. 07-14/P13, 07-14/P14
 Mojsova, M. 07-14/P4
 Montana, V. 06/P8
 Mrsić, S. 05/P1, 05/P3
 Mrsić, M. 05/P3
 Munk, M. 03/P4
 Muthing, J. 07-6/P4

 Nazor, A. 01/P17, 05/P12, 05/P13
 Nemet, D. 05/P22
 Novak, M. 05/P6

 Ostojić, R. 04/P9

 Pajkovska, M. 01/P10
 Papa, B. 07-5/P1
 Pape-Medvidović, E. 07-14/P12

 Paradinović, K. 03/P6, 06/P3
 Parag, G. 01/P15
 Paschke, E. 04/P4
 Pashu, M. 07-14/P4
 Pauković Sekulić, B. 05/P15
 Pauro, M. 01/P8
 Pavela, J. 03/P6, 06/P3
 Pavelić, K. S6/3, 06/P8
 Pavlič-Renar, I. 07-14/P12
 Pavlović, B. 05/P20
 Pepeljnjak, S. 07-12/P7
 Perić, M. 07-12/P8
 Perkov, S. 07-9/P1, 07-14/P2
 Petani, S. 05/P9
 Petek, I. 04/P2
 Petek, M. 03/P3, 04/P12
 Petek, W. 07-14/P11
 Peternel, R. 07-12/P8
 Petković, M. 06/P8
 Petlevski, R. 07-12/P8
 Petres, B. 06/P2
 Petrik, J. 07-12/P7
 Petrinović, R. S6/4, 06/P2
 Petro, D. 07-14/P1
 Piškur, V. S2/P, 05/P5
 Pirija, M. 01/P8
 Plavšić, F. 01/P11, 07-12/P2, 07-12/P6
 Plavšić, V. 07-2/P1
 Pleše, I. 07-14/P6
 Pohar, J. S6/6
 Polenaković, B. 07-13/P3
 Pop Stefanova, A. 01/P10, 01/P14, 04/P7
 Pop Stefanova-Trposka, M. 01/P14
 Popović, M. 05/P17
 Posavec, Lj. 07-2/P2
 Predovan, G. 01/P4, 07-12/P4

 Radaljac-Pfeiffer, I. 07-14/P8
 Radić, B. 07-12/P7
 Radošević, A. 07-14/P13, 07-14/P14
 Radošević-Stasić, B. 06/P8, 07-14/P6
 Radović, M. 07-9/P3
 Raić, B. S5/7, 05/P18, 05/P21
 Raos, M. 04/P13
 Ravnić, R. 07-8/P2
 Rekić, B. 07-12/P8
 Rieger, R. 04/P4
 Ročić, B. S2/8
 Rogić, D. 01/P2, 01/P3, 01/P13, 07-2/P1
 Rogić, J. 05/P2
 Romić, Ž. 07-9/P3
 Romić-Stojković, R. 06/P9
 Rössler, A. 04/P4

- Rumenjak, V. S2/5, 01/P2
 Rumora, L. 07-14/P12
 Runje, R. 07-9/P2
 Rupčić, J. 07-14/P6
- Sabljar-Matovinović, M. 07-14/P2
 Sakoman, S. 07-12/P9
 Salamunić, I. 07-13/P2
 Salzer, B. 03/P1
 Samoščanec, K. S2/6
 Sapunar, A. 05/P7, 05/P8
 Sarnavka, V. 07-6/P2
 Sedmak, M. 07-14/P15
 Sertić, J. S4/5, 04/P6
 Shamsuddin, A.M. S6/1
 Sikirica, M. 02/P3, 07-5/P1
 Sikirić, P. 07-14/P9
 Simeonova, C. 07-13/P3
 Slijepčević, M. 07-12/P9, 07-14/P7, 07-14/P12
 Slišković, R. 07-14/P5
 Smola, D. 07-2/P2
 Sokolić, B. 06/P2
 Solter, M. 07-2/P2
 Sorić, J. 06/P6
 Stančić, V. 05/P21
 Stanković, H. 02/P4
 Stavljenić Rukavina, A. 0/1, S1/3, 01/P1, 01/P6, 01/P7, 01/P12, 03/P1, 05/P1, 05/P3, 05/P22, 04/P4, 04/P6, 04/P10, 07-6/P3, 07-13/P1
 Stipančić, G. 03/P2
 Stojkowska, S. 07-14/P4
 Strašek, R. 05/P22
 Suchanek, E. R5/1
 Suljević, E. 02/P1, 02/P2, 07-14/P3
- Šale, S. 03/P5
 Šeper, I. 07-9/P1
 Šerić, V. 01/P9
 Šiftar, Z. 07-8/P3
 Šimek, S. 01/P8
 Škrablin, S. 05/P11, 05/P16
 Šolajić-Božičević, N. 03/P1
 Šoštarko, M. 04/P6
 Šprajc, N. 07-9/P3
 Štraus, B. 0/2
 Štrbo, N. 07-14/P6
 Šturm, D. 05/P6
 Šuperina, F. 05/P6
 Šurina, B. 07-8/P3
- Tešija, A. 04/P1
 Tiška-Rudman, Lj. 05/P17
- Tišlarić, D. 03/P2, 03/P3
 Tomašić, J. 07-5/P2, 07-14/P10
 Tomić-Pisarović, S. 07-14/P10
 Topić, E. S2/2, R2/2, 01/P5, 01/P16, 05/P9, 05/P10, 04/P1, 04/P3, 02/P4, 02/P5, 07-12/P3
 Tramišak, I. 01/P11
 Trbojević-Čepe, M. S3/4
 Trlaja, A. 05/P15
 Trogrlić, M. 07-8/P2
 Trojancanec-Piponska, S. 07-13/P3
 Turčinov, T. 07-14/P5
- Užarević, B. S5/3, 01/P12, 06/P5
- Valčić, A. 04/P11
 Varljen, J. 07-14/P6
 Venžera, Z. 01/P9
 Verbanac, D. 06/P8
 Vitunjski, B. 07-9/P3
 Vizner, B. 04/P2
 Vranešić, B. 07-5/P2
 Vranić, T. 05/P12
 Vrhovac, B. 07-12/P2
 Vrkić, N. S2/4, 01/P5, 01/P13
 Vrkljan, M. 07-2/P2
 Vucelić, B. 04/P9
 Vučenik, I. S5/6
 Vučić, M. S2/8
 Vukadinović, M.V. 02/P5
 Vukelić, N. S2/3, 02/P4
 Vukičević, S. S4/2
 Vukosavić, Đ. 02/P4
- Wagner, J. 03/P6, 06/P3
 Wildburger, R. 07-14/P11
 Wolf-Čoporda, A. 07-12/P2
- Yu, R.K. 03/P5
- Zadro, R. S5/4, 01/P6, 01/P7, 05/P1, 05/P3, 05/P22
 Zinder, O. S4/3
 Zovko, V. 07-14/P13, 07-14/P14
 Zrinski, R. 07-13/P1
 Zubčić, A. 01/P5, 01/P16, 05/P10, 04/P1, 02/P5
 Zupančić, Z. 07-14/P15
- Žanić-Grubišić, T. 07-12/P7
 Žarković, N. 07-14/P11
 Živčić, J. 07-6/P1, 07-12/P1
 Žunec, R. 07-2/P1
 Žunić, J. 07-13/P1
 Žuntar, I. 04/P1, 04/P3