

NAUČNI ODBOR

Predsednik
Vidosava Đorđević

Potpredsednik
Jovan Kavarić

Članovi
Nada Majkić-Singh
Gordana Bjelaković
Jasmina Mimić-Oka
Branislava Brkić
Svetlana Ignjatović
Danica Pribilović-Popović
Mirka Ilić

ORGANIZACIONI ODBOR

Predsednik
Nada Majkić-Singh

Potpredsednik
Olivera Janković

Sekretar
Tatjana Vodnik

Članovi
Aleksandra Poštić-Grujin
Dejan Krivokapić
Vera Cvetković
Borislav Nalčić
Janko Pejović

LOKALNI ORGANIZACIONI ODBOR

Ivana Stojanović
Tatjana Jevtović
Tatjana Cvetković
Vladan Čosić
Lilika Zvezdanović
Slavica Kundalić

ADRESA ORGANIZACIONOG ODBORA

Institut za medicinsku biohemiju
KLINIČKI CENTAR SRBIJE
Višegradska 26, 11000 Beograd

Tel/Fax: 011 361-56-31
Telefoni: 011-361-7777, lok. 36-56 i 33-62
(Aleksandra Poštić-Grujin i tehnički sekretar DMBJ Cica Lazarević)

**ULOGA LABORATORIJSKE MEDICINE
ZASNOVANE NA DOKAZIMA
U ZDRAVSTVENOJ SLUŽBI**

N. Majkić-Singh

Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd

Laboratorijska medicina zasnovana na dokazima (eng. evidence-based laboratory medicine, EBLM) koristi najbolje dokaze koji se dobijaju u vidu rezultata laboratorijskih testova za donošenje odluke o zbrinjavanju svakog pojedinačnog pacijenta. Ovaj pristup je moguć jedino na osnovu objedinjavanja laboratorijskih i kliničkih iskustava o načinu lečenja koja proizlaze iz sistematskih istraživanja u ovim oblastima. To znači da se definicija EBLM zasniva na dva elementa: iskustvu i dokazima koji potiču iz sistematskih istraživanja. Mada izraz *medicina zasnovana na dokazima* (eng. evidence-based medicine, EBM) potiče sa kanadskog Mc Master Univerziteta od grupe koju je predvodio Dr Garad Guyatt, mnogi počaju pravo na kreiranje ovog izraza i njegove suštine. Shodno ovome, brojni su faktori koji su poslednjih 30 godina uticali na formiranje mišljenja i pokreta poznatog pod imenom *Evidence-Based Medicine* i skraćenicom EBM. Jedan od faktora koji utiču na formiranje navedene filozofije je da se svaki lekar susreće sa brojnim medicinskim informacijama koje potiču iz različitih izvora, drugi faktor je globalni fenomen povećavanja troškova lečenja, a treći je da su danas pacijenti i sami dovoljno edukovani da zahtevaju najbolju dijagnostiku i lečenje. To znači da se *medicina koja se zasniva na dokazima* mora oslanjati na sve tri napred navedene pretpostavke. Protokoli koji se pripremaju za lečenje obolelih moraju uzeti u obzir efikasnost i efektivnost zdravstvene službe. Da bi se ovo ostvarilo laboratorijski stručnjaci moraju pažljivo odabirati laboratorijske testove, pomoći kojih će se dobiti najviše kliničkih informacija. Prema tome, *laboratorijska medicina zasnovana na dokazima* ima za cilj da podržava kliničku dijagnozu i zbrinjavanje oboljenja primenom novih znanja koja dovode do standardne procedure koja će najbolje omogućiti laboratorijsko ispitivanje. U laboratorijskoj medicini broj testova stalno se povećava; uvede se novi testovi, međutim stari testovi se retko skidaju sa programa. S obzirom da su sredstva zdravstvenih

**THE ROLE OF EVIDENCE-BASED
LABORATORY MEDICINE
IN HEALTH SERVICE**

N. Majkić-Singh

Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade

Evidence-based laboratory medicine (EBLM) is the use of the current best evidence of the utility of laboratory tests in making decisions about the care of individual patients. This practice means integrating laboratory and clinical experience with the last available external evidence from systematic research. It means that the definition of EBLM focuses on two key elements: experience and evidence from systematic research. Although the term *evidence-based medicine* (EBM) was created in Canada at Mc Master University by a group led by Dr Gard Guyatt, there are various claims as to the origin of its practice. Regardless of its origins, many factors have come together over the past 30 years to drive the movement to EBM. One factor is those individual physicians, faced with numerous medical informations; the second factor is the global phenomenon of increasing health care costs and third is that patients who have generally more education, want the best in diagnostics and therapies. It means that evidence-based medicine has been driven by the need to cope with information overload, by cost-control, and by public impatience for the best in diagnostics and treatment. Clinical guidelines, care maps, and outcome measures are quality improvement tools for the appropriateness, efficiency, and effectiveness of health services. Laboratory professionals must direct more effort to demonstrating the impact of laboratory tests on a greater variety of clinical outcomes. *Evidence-based laboratory medicine* aims to advise clinical diagnosis and management of disease through systematic researching and disseminating generalisable new knowledge that meets the standard of critical review on clinically effective practice of laboratory investigations. In laboratory medicine, the use of tests increases; new tests are constantly introduced, but »old« tests are seldom removed from the repertoire. This, together with limited public funds for the health care, should underline the challenge for laboratory professionals to provide evidence for the

fondova ograničena, nameće se potreba izbora onih testova koji će pružiti najviše dijagnostičkih informacija. Dijagnostika se mora izvoditi u laboratoriji koja je osigurala dobru laboratorijsku praksu u pre-analitičkoj, post-analitičkoj i analitičkoj fazi laboratorijskog dijagnostičkog procesa. Shodno navedenom ovo predavanje će se baviti izborom, metodologijom i fazama *laboratorijske medicine zasnovane na dokazima*.

NOVE TEHNOLOGIJE U KLINIČKOJ HEMIJI

L. M. Lorens, R. I. Mekonel,
J. V. Lamont, S. P. Ficdžerald

Kompanija Randox Laboratories,
Crumlin, Co Antrim, Severna Irska

Upotreba novih tehnologija dovodi do razvoja novih proizvoda za dijagnozu oboljenja. Najvažniji faktor koji utiče na razvoj novih proizvoda iz oblasti *in vitro* dijagnostike je cena. Zdravstvene organizacije postepeno su smanjile budžete za laboratorijske testove, zbog čega su i kliničke laboratorije prinuđene da umanje troškove. Osim što je neophodno da im se ponude razumne cene, kliničke laboratorije zahtevaju testove koji su laki za upotrebu, brzo daju rezultate, tačni su i precizni do najmanjeg detalja. Takvi zahtevi su podelili tržište *in vitro* dijagnostike na dva sektora – automatizacija i testiranje uz postelju pacijenta. Pokazalo se da je najefikasniji način da se zadovolje navedene potrebe, potpuno razvijen, automatizovani sistem koji može da obuhvati celokupni proces; od punjenja uzorka do krajnjih analiza i dijagnoza. Tehnologije koje su zaslužne za novine u automatizaciji su progres u oblasti elektronskog interfejsa, robotika, nanotehnologija, mikrofabrikacija, sistemi detekcije i veštačke neuralne mreže. Osim novina u sistemima, takođe se pojavljuje i čitav niz novih testova. Oni su rezultat napredovanja u oblasti genomike, proteomike i od nedavno, teranostike. Deo industrije *in vitro* dijagnostike koja nije uključena u visoku automatizaciju, koristi se sve više u oblasti testiranja uz postelju pacijenta. Tehnologije koje učestvuju u napretku ove oblasti su imunohromatografija, mikroelektronika i neinvazivne tehnologije. Ova prezentacija će omogućiti uvid u nove tehnologije iz oblasti *in vitro* dijagnostike, s posebnim akcentom na restrukturiranje kliničkih laboratorijskih usluga uz pomoć automatizacije i testiranja uz postelju pacijenta.

utility of different tests. This practice means integrating laboratory and clinical experience with the best available external evidence from systematic research. Therefore, it is important that advice given by laboratory medicine professionals are sound and based on evidence in the pre-analytical, analytical, and post-analytical phases of the diagnostic process. The lecture provides an insight into the rationale, methodology and the phases of the EBLM.

NEW TECHNOLOGIES IN CLINICAL CHEMISTRY

L. M. Lawrens, R. I. McConnell,
J. V. Lamont, S. P. FizGerald

Randox Laboratories Ltd., 55 Diamond Road,
Crumlin, Co Antrim BT29 4QY, Northern Ireland

The application of new technologies is leading to new products for the diagnosis of human disease. The most significant factor influencing the development of new *in vitro* diagnostic (IVD) products is cost. Healthcare organizations have gradually reduced the amounts they are willing to pay for laboratory tests and this has put pressure on clinical laboratories to reduce their charges. In addition to reduced costs, clinical laboratories require tests that are easy to use, give rapid results and do not compromise on accuracy or reliability. Such cost-containment pressures have divided the IVD market into two dominating sectors automation and point-of-care. The development of totally automated systems that can handle everything from sample loading to final analysis and diagnosis has been one of the most effective ways of meeting these challenges. Technologies which have driven developments in automation include advances in electronic interfaces, robotics, nanotechnology, microfabrication, detection systems and artificial neural networks. In addition to the systems themselves, a wider range of tests are also emerging. These are being driven by advances in genomics, proteomics and, more recently, theranostics. The proportion of the IVD industry not engaged in high-volume automation is becoming increasingly devoted to moving testing as close as possible to the point-of-care. Technologies underpinning these developments include immunochromatography, microelectronics and noninvasive technologies. This presentation will provide an overview of new technologies emerging in the field of IVD and will outline the significant implications that automation and point-of-care testing will have on the inevitable restructuring of clinical laboratories.

KVALITET ANALITIČKIH ODREĐIVANJA U MEDICINSKOJ BIOHEMIJI: MERENJE NESIGURNOSTI

S. Ignjatović

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije i Farmaceutski fakultet,
Univerzitet u Beogradu*

Veliki broj medicinskih odluka zasniva se na rezultatima analitičkih određivanja u kliničko-biohemijskim laboratorijama. Iz ovih razloga je neophodno da se ima uvid u kvalitet dobijenih rezultata. Jedan od osnovnih uslova za kliničko-biohemijske laboratorije predstavlja implementacija mera kontrole kvaliteta rada kako bi se omogućilo dobijanje rezultata zadovoljavajućeg kvaliteta. U ove mere spadaju: korišćenje proverenih analitičkih metoda određivanja, primena tačno definisanog postupka unutrašnje kontrole kvaliteta rada, učeće u programima spoljašnje kontrole kvaliteta rada, akreditacija zasnovana na standardima ISO 17025, kao i utvrđivanje »traceability« rezultata određivanja. Kao posledica ovih zahteva, medicinski biohemičari su u svom domenu rada podvrgnuti stalnom pritisku da demonstriraju kvalitet svojih rezultatata, kao i spremnost u pružanju podataka o njihovoј pouzdanosti. To uključuje očekivani stepen slaganja rezultata sa drugim rezultatima i ne zavisi od primenjene analitičke metode. Određivanje nesigurnosti (engl. *uncertainty*,) smatra se korisnom mernom ovog slaganja. Nesigurnost određivanja uključuje više komponenti. U praksi, nesigurnost rezultata potiče od nedovoljne definisanosti uslova određivanja, uzorkovanja, uticaja vezanih za »matriks«, interferencije, uslova u kojima se vrši određivanje, nesigurnosti opreme kojom se meri zapremina ili masa, referentnih vrednosti, aproksimacija i pretpostavki koje su inkorporirane u metodu i proceduru određivanja, kao i slučajnih varijacija. Mogućnost primene analitičkih metoda za rutinska određivanja procenjuju se postupkom »validacije«. Pomoću ovih proučavanja dobijaju se podaci o sveukupnim karakteristikama pojedinačnih faktora koji utiču na određivanje. Takođe, podaci mogu da se primene pri proceni nesigurnosti rezultata koji su dobijeni korišćenjem rutinskih metoda određivanja. U principu, merenje nesigurnosti je jednostavno i uključuje sledeće etape: specifikaciju koncentracije analita (ono što se određuje, engl. *measurand*), identifikaciju izvora nesigurnosti, merenje komponenata nesigurnosti i izračunavanje ukupne nesigurnosti. U radu će biti iznet postupak izvođenja svih gore navedenih etapa u merenju nesigurnosti, kao i mogućnost pojednostavljenja cele procedure u zavisnosti od raspoloživih podataka o kombinovanim uticajima različitog porekla.

QUALITY OF ANALYTICAL MEASUREMENTS IN MEDICAL BIOCHEMISTRY: QUANTIFYING UNCERTAINTY

S. Ignjatović

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Serbia and School of Pharmacy,
University of Belgrade, Belgrade, Yugoslavia*

Many important decisions are based on the results of analytical measurements in medical biochemistry. Whenever decisions are based on analytical results, it is important to have some indication of the quality of the results. Now it is a formal requirement for clinical laboratories to introduce quality assurance measures to ensure that they are capable of and are providing data of the required quality. Such measures include: the use of validated methods of analysis; the use of defined internal quality control procedures; participation in external quality schemes; accreditation based on ISO 17025, and establishing traceability of the results of the measurements. As a consequence of these requirements, medical biochemists are, for their part, coming under increasing pressure to demonstrate the quality of their results, and in particular to demonstrate their fitness for purpose by giving a measure of the confidence that can be placed on the result. This is expected to include the degree to which a result would be expected to agree with other results, normally irrespective of the analytical methods used. One useful measure of this is measurement uncertainty. Uncertainty of measurement comprises, in general, many components. In practice the uncertainty of the result may arise from many possible sources, including examples such as incomplete definition, sampling, matrix effects and interferences, environmental conditions, uncertainties of masses and volumetric equipment, reference values, approximations and assumptions incorporated in the measurement method and procedure and random variation. The fitness for purpose of analytical methods applied for routine testing is most commonly assessed through method validation studies. Such studies produce data on overall performance and individual influence factors which can be applied to the estimation of uncertainty associated with the results of the method in normal use. Uncertainty estimation is simple in principle. The steps involved are: specification measurand, identification uncertainty sources, quantification uncertainty components and calculation combined uncertainty. The aim of this study will be to provide guidance on the execution of all the steps listed above and to show how the procedure may be simplified depending on the information that is available about the combined effect of a number of sources.

UPRAVLJANJE ZAŠTITOM RADNE I ŽIVOTNE SREDINE U ZDRAVSTEVNIM LABORATORIJAMA

M. Ilić, A. Poštić-Grujin, N. Majkić-Singh

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Upravljanje zaštitom životne i radne sredine u laboratorijama može se ostvariti samo efikasnom kontrolom svih štetnosti koje postoje u laboratorijama i koje se mogu ispoljiti bilo kada. Zaštita otpočinje samim prepoznavanjem štetnosti (hazarda) a ostvaruje se razumnim pristupom, dobrim ponašanjem osoblja, pravilnim radnim procesom u svim laboratorijskim celinama i stalnim sprovođenjem dobre laboratorijske prakse i tehnika pri laboratorijskom radu. U većini slučajeva neželjeni događaji i nesreće pri laboratorijskom radu događaju se zbog nepažnje i loših radnih uslova. Kliničke laboratorije uglavnom manipulišu sa devet klasa opasnih materija, a prema kriterijumima Ujedinjenih nacija to su: 1) eksplozivne materije, 2) komprimovani gasovi, 3) zapaljive tečnosti, 4) zapaljive čvrste materije, 5) oksidacione materije, 6) toksične materije, 7) radioaktivne materije, 8) korozivne materije i 9) ostalo, u šta se ubraju i infektivni agensi. S obzirom na brojne štetnosti, u ostvarivanju zaštite osoblja kliničkih laboratorija veoma je značajno pravilno obeležavanje istih i upozoravanje laboratorijskog osoblja. Odgovornost za sprovođenje mera sigurnosti leži prvenstveno na rukovodiocu laboratorije, odnosno poslodavcu, ali i na svim zaposlenim. Sprovođenje mera zaštite u laboratoriji otpočinje od pisanih uputstava sa kojima treba da budu upoznati svi laboratorijski izvršioci. To znači da svaka kliničko-biohemijska laboratorija mora da ima zvaničan program zaštite. Osim toga poslodavac je dužan da obezbedi pouzdane laboratorijske radne procedure, stalni nadzor nad radom zaposlenih, informacije o načinu zaštite, obuku, ličnu zaštitnu opremu i medicinsku zaštitu. Institut za medicinsku biohemiju Kliničkog centra Srbije kao vodeća institucija za oblast kliničko-biohemijske dijagnostičke laboratorijske prakse sertifikao je sistem menadžmenta kvalitetom prema standardu ISO 9001:2001 i akreditovao sve svoje laboratoriјe prema standardu ISO 17025. Poslovnikom o kvalitetu i kroz pojedina dokumenta za sprovođenje sistema kvaliteta predviđeno je obezbeđivanje odgovarajućih uslova radne sredine za obavljanje laboratorijskih ispitivanja i zaštite laboratorijskih radnika. Dokumenta koja se odnose na upravljanje zaštitom radne i životne sredine u Institutu ovde će biti diskutovana.

PROTECTION MANAGEMENT OF WORKING ENVIRONMENT IN HEALTH LABORATORIES

M. Ilić, A. Poštić-Grujin, N. Majkić-Singh

*Institute for Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

Protection management of working environment in the laboratories may be implemented only through efficient control of all laboratory hazards, which may be manifested at any time. The protection involves first of all the recognition of the hazards and is implemented by reasonable approach, good behaviour of the personnel, adequate work process in all laboratories and continuing application of good laboratory practice and techniques in the laboratory work. In the majority of cases the laboratory hazards and accidents result from negligence and bad working conditions. Clinical laboratories, according to the United Nations criteria, chiefly manipulate with the following nine classes of hazardous materials: 1) explosive materials, 2) compressed gases, 3) combustible fluids, 4) combustible solid materials 5) oxidants, 6) toxic materials, 7) radioactive materials, 8) corrosive materials and 9) others, which include ineffective agents. Adequate labeling warning of these numerous hazards is very important for the protection of the personnel in the clinical laboratories. The responsibility for the implementation of safety measures lies primarily on the head of the laboratory i.e. employer but also on the entire personnel. The first step in the implementation of protection measures in the laboratory is the instruction manual with which all laboratory workers must be acquainted. This means that each clinical-biochemical laboratory must have an official protection programme. Besides, it is upon the employer to provide reliable laboratory procedures, constant supervision over the work of the employees, information on the manner of protection, training, protective equipment and medical protection for the personnel. The Institute for Medical Biochemistry of the Clinical Center of Serbia, as a leading institution for the field of clinical-biochemical diagnostic laboratory practice, has certified the quality management system according to ISO 9001: 2001 and accredited all its laboratories according to ISO 17025. Through quality control manual and through some documents for the implementation of quality system, the adequate working and environmental conditions, for carrying out laboratory tests and for the protection of laboratory workers, are provided. The documents relating to the protection management of working environment are discussed here.

ZAHTEVI ZA KOMPETENTNOST LABORATORIJA ZA ISPITIVANJE I NJIHOVA PRIMENA

T. Nešić, R. Bošković

Bonex inženjering, Beograd

Dokazivanje tehničke kompetentnosti, neutralnosti, nepristrasnosti i nezavisnosti laboratorijsa za ispitivanje važan je segment ukupnog procesa zaštite građana od proizvoda i usluga neodgovarajućeg kvaliteta, jer se time jača poverenje u objektivnost laboratorijsa i tačnost rezultata ispitivanja. Ovo dokazivanje sprovodi se kao deo postupka akreditacije koji se vodi pred nadležnim organom. Akreditacija je zvanični postupak u kojem organizacija za akreditaciju, nakon sprovedenog ocenjivanja, potvrđuje da je laboratorijsa kompetentna za obavljanje ispitivanja u definisanom obimu akreditacije. Poslovi akreditacije u našoj zemlji povereni su Jugoslovenskom akreditacionom telu (JUAT). Laboratorijsa za ispitivanje koja želi da bude akreditovana treba da uskladi sistem rada prema zahtevima standarda JUS ISO IEC 17025. Ovaj standard usvojen je i objavljen u našoj zemlji još marta 2001. godine. Međutim, prema zvaničnim podacima JUAT-a, do kraja 2001. godine tek jedna laboratorijsa za ispitivanje akreditovana je prema zahtevima standarda. Ostale laboratorijsne akreditovane su prema ranije važećem JUS ISO IEC Uputstvu 25 i/ili standardu JUS EN 45001 (21 regularnih rešenja o akreditaciji i 56 privremenih rešenja). Podaci pokazuju da se laboratorijsne za ispitivanje u našoj zemlji sporo prestrukturiraju na ispunjavanje novih zahteva. Bez obzira koji su razlozi za ovakvo stanje kod nas, treba se okrenuti budućnosti i obezbeđenju dovoljnog broja laboratorijsa koje imaju potvrđenu kompetentnost za vršenje definisanih ispitivanja i to upravo prema zahtevima standarda JUS ISO IEC 17025. Cilj ovog rada je da prikaže opšte zahteve koje laboratorijsne za ispitivanje treba da ispune, kako bi mogle potvrditi svoju kompetentnost. Standard JUS ISO IEC 17025 propisuje opšte zahteve koji su formulisani tako da važe za sve kategorije laboratorijsa za ispitivanje i laboratorijsa za baždarenje. Zahtevi su svrstani u dve osnovne grupe: zahtevi koji se odnose na menadžment i tehnički zahtevi. Zahtevi koji se odnose na menadžment tiču se organizacionih, upravljačkih i komercijalnih aspekata rada laboratorijsne, uključujući i zahteve za sistem kvaliteta. Može se reći da se ova grupa zahteva primenjuje na vrlo sličan način u svim laboratorijskim za ispitivanja, jer se u njima razmatraju elementi, zajednički za sve poslovne sisteme. Ono, na šta svaka pojedinačna laboratorijsa za ispitivanje treba da posveti posebnu pažnju, su tehnički zahtevi. Za definisanu oblast i obim ispitivanja, laboratorijsa mora obezbediti i dokazati:

da su zaposleni kompetentni i sposobljeni za vršenje ispitivanja i drugih poslova u laboratorijsi na koje su raspoređeni,

GENERAL REQUIREMENTS FOR THE COMPETENCE OF TESTING LABORATORIES AND THEIR IMPLEMENTATION

T. Nešić, R. Bošković

Bonex engineering, Belgrade

Demonstration of technical competence, impartiality and independence of testing laboratories is an important part of the process of consumer protection against nonconforming products or services. It strengthens the confidence in objectivity of laboratories and exactness of test results. Demonstration of competence is an integral part of accreditation process. Accreditation is the official recognition, performed by an authorized organization that a laboratory is competent to perform testing activities within defined scope of accreditation. Organization, performing accreditation in our country is called Yugoslav accreditation body. Any testing laboratory, seeking accreditation, should align its internal organization and system of work with the requirements of the standard JUS ISO IEC 17025, which has been adopted and issued in our country in the March, 2001. Unfortunately, official data of the Yugoslav accreditation body show that till December, 2001. only one testing laboratory was accredited according to the requirements of this standard. Other testing laboratories were accredited according to canceled JUS ISO IEC Guide 25 and/or standard JUS EN 45001 (21 regular certificate of accreditation and 56 temporary certificates). These data show that testing laboratories in our country very slowly move toward new requirements. Whatever the reasons for this situation, we recommend that testing laboratories should anticipate the future trends and take timely measures to demonstrate their technical competence according to the standard JUS ISO IEC 17025. The objectives of the paper is to explain general requirements that testing laboratories should fulfill in order to confirm their competence in the certain field of testing. The requirements of the standard are separated in two main groups: management requirements and technical requirements. Management requirements relate to organizational, managerial, administrative and commercial aspects of work, including requirements for the quality system. These requirements can be implemented in the similar way in testing laboratories, since they consider elements, common for all business systems. A laboratory should pay special attention to the fulfillment of technical requirements. For the defined field and scope of testing, laboratory should assure and demonstrate the following:

competence of personnel for testing activities and other activities they are assigned,
adequacy of the equipment,
adequacy of environmental conditions regarding people, samples, equipment and testing methods,

da je oprema pogodna za obavljanje definisanih ispitivanja,

da su uslovi radne sredine odgovarajući za ljudе, uzorkе, opremu i metode koje se primenjuju,

da se primenjuju adekvatne metode ispitivanja čija je validnost potvrđena,

da postupak s uzorcima obezbeđuje validnost rezultata ispitivanja,

da se primenjuju mere kojima se obezbeđuje poverenje u rezultate ispitivanja i

da se primenjuje definisan postupak izdavanja izveštaja o ispitivanju.

Pored pomenutog standarda u svakoj oblasti ispitivanja primenjuje se i regulativa koja se odnosi na tu oblast: zakoni, pravilnici, principi dobre laboratorijske prakse, tehnički standardi itd. Svaka laboratorija treba da utvrdi sopstvene ciljeve i potrebe, kao i zahteve okruženja i važeće regulative koju mora u svom radu ispunjavati. Ukoliko je među tim zahtevima i ciljevima i zahtev da laboratorija za ispitivanje bude akreditovana, potrebno je usmeriti snage ka ispunjenju ovih zahteva i to na sistematičan način i uz potpunu koordinaciju svih aspekata poslovanja laboratorije.

adequacy of testing methods whose validity has been confirmed,

adequacy of procedures with test samples which provide confidence in the test results,

use of procedures and measures that provide confidence in the testing results,

adequacy of the procedure for issuing test report.

In addition to the a.m. standard, within each test area exist other applicable legislation, e.g. law, principles of good laboratory practice, technical standards etc. Each laboratory should establish its own goals and needs taking into account the requirements of business environment and legislative that has to be implemented. If requirements for accreditation are part of these requirement, testing laboratory should focus towards fulfillment of these requirements too.

PATOFIZIOLOGIJA CEREBRALNE ISHEMIJE

Mehanizmi uključeni u neuronalna oštećenja

T. Özben

Medicinski fakultet Akdeniz,
Katedra za biohemiju, Antalija, Turska

Cerebralna ishemija je osnovni uzrok morbiditeta i mortaliteta. Mnoge reakcije koje se dogode u toku i za vreme cerebralne ishemije dobro su poznate, ali ipak ne poznaju se toliko dobro da bi se mogli u potpunosti razjasniti mehanizmi oštećenja mozga. Trošenje energije je osnovna tema svake diskusije o patofiziologiji ishemijskih povreda. Danas su u centru pažnje sledeće osobine ishemijskog i postishemijskog mozga: razvoj acidoze, formiranje otoka, prekomerno stvaranje kalcijuma, ekscitotoksičnost glutamata, formiranje slobodnih radikala i prekomerno stvaranje azot oksida. Ovi i drugi manje poznati procesi doprinose stvaranju nepovratnog oštećenja. Mozak u ogromnoj meri zavisi od protoka krvi, odnosno stalnog dotoka kiseonika i glukoze. Nakon samo nekoliko minuta od napada ishemije, potrebe za energijom su veće od mogućnosti mozga da anaerobno sintetiše ATP. Trošenje energije ima ogroman značaj u genezi kasnijih povreda, jer se laktat i nepuferovani joni vodonika akumuliraju u tkivu. Prekid rada svih mehanizama zavisnih od energije, uključujući i jonske pumpe, dovodi do opadanja membransko-jonskog gradijenta, otvaranja selektivnih i neselektivnih jonskih kanala i izjednačavanja većine intracelularnih i ekstracelularnih jona (anoksična depolarizacija). Uslед celularne akumulacije jona formira se citotoksičan edem. Gubitak ATP brzo dovodi do velikog priliva i otpuštanja kalcijuma iz intacelularnih prostora. Ekstracelularne koncentracije glutamata primetno su povećane u tkivu ishemijskog mozga, što je posledica i povećanog otpuštanja aminokiselina iz neurona i njegovog smanjenog unosa u glija ćelije i neurone. Glutamat koji je oslobođen iz depolarizovanih presinaptičkih krajeva aktivira nekoliko postsinaptičkih receptor/kanal kompleksa, koji su nazvani prema odgovarajućim agonistima (kviskalat, kainat i NMDA-prioritetni receptor). Jedini koji propušta jone kalcijuma je N-metil-D-asparat (NMDA) receptor/kanal kompleks. Smatra se da intracelularni višak Ca^{2+} tokom ishemije ostavlja nekoliko posledica, uključujući aktiviranje fosfolipaze A₂, prekid oksidativne fosforilacije, promenu funkcije receptora, oslobađanje

PATHOPHYSIOLOGY OF CEREBRAL ISCHEMIA

Mechanisms Involved In Neuronal Damage

T. Özben

Akdeniz University School of Medicine,
Department of Biochemistry, 07070, Antalya, Turkey

Cerebral ischemia represents a major cause of morbidity and mortality. Many events occurring during and after cerebral ischemia are well known, but they are not known enough to fully elucidate the mechanisms of brain damage. Central to any discussion of the pathophysiology of ischemic lesions is energy depletion. At present, the following features of the ischemic and postischemic brain are the focus of interest: development of acidosis, edema formation, calcium overload, glutamate excitotoxicity, free radical formation and nitric oxide overproduction. These events, with other less known ones, contribute altogether to the occurrence of irreversible damage. The brain is critically dependent on its blood flow for a continuous supply of oxygen and glucose. Within minutes of the onset of ischemia, energy demands exceed the brain's capacity to synthesize ATP anaerobically. Energy depletion has fundamental importance in the genesis of subsequent injurious events. Lactate and unbuffered hydrogen ions accumulate in tissue. Failure of all energy dependent mechanisms, including ion pumps, leads to the deterioration of membrane ion gradients, opening of selective and unselective ion channels and equilibration of most intracellular and extracellular ions (anoxic depolarization). Cellular accumulation of ions cause formation of cytotoxic edema. Loss of ATP rapidly leads to a massive calcium influx and release of calcium from intracellular compartments. Extracellular concentrations of glutamate are markedly elevated in ischemic brain tissue as a consequence of both enhanced release of the amino acid from neurons and its impaired uptake into glia and neurons. Glutamate released from depolarized presynaptic endings activates several post-synaptic receptor/channel complexes which are named according to the preferred agonist (the quisqualate, kainate and NMDA-prefering receptor). Of these, the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor/channel complex is permeable to calcium ions. Intracellular Ca^{2+} overload during ischemia is thought to have several deleterious consequences including activation of phospholipase A₂,

toksičnih ekscitatornih aminokiselina (EAA), uvođenje neurona u stanje hiperekcitabilnosti. Intracelularni višak Ca^{2+} takođe može prouzrokovati lavinu procesa, na primer formiranje raznih vrsta reaktivnog kiseonika. Uslед povrede moždanih ćelija otpuštaju se joni gvožđa, koji mogu da stimulišu reakcije slobodnih radikala. Pored toga, u sivoj i beloj masi CNSa nalazi se visoka koncentracija askorbinske kiseline. Mešavine askorbat/gvožđa i askorbat/bakra generišu slobodne radikale. Još jedan izvor kiseoničnih slobodnih radikala je intramitohondrijalni lanac prenosa elektrona. Slobodni radikali koji se stvaraju u mitohondrijama takođe mogu da izazovu tačkaste mutacije, umrežavanje DNK i prekid u lancu DNK u mitohondrijalnim genima. Oštećenje mitohondrijalnog genoma dovodi do oslabljene respiracije, dalje povećavajući mogućnost proizvodnje radikala kiseonika. Osim toga, mozak ima slabu aktivnost katalaze i samo malu količinu superoksida dizmutaze i glutation peroksidaze. Azot monoksid (NO) nedavno se pojavio kao važan posrednik ćelijskih i molekularnih procesa i utiče na patofiziologiju cerebralne ishemije. Povećanje Ca^{2+} aktivira enzim azot monoksid sintetazu (NOS; EC 1.14.13.39), koji dalje katalizuje sintezu azot monoksidu iz guanidin azota L-arginina i molekularnog kiseonika. NO se proizvodi u neuronima, glija ćelijama i vaskularnom endotelijumu u centralnom nervnom sistemu (CNS). Efekti su različiti u zavisnosti od porekla. NO je posrednik koji ima i neurotoksične i neuromodulatorske efekte. Neuronalni NO je predložen kao neurotoksični agens koji utiče na NMDA toksičnost i povećanu akutnu ishemijsku povredu. On je uzrok citotoksičnosti tokom formiranja gvožđe-NO kompleksa sa nekoliko enzima, uključujući transportni lanac mitohondrijalnog elektrona, oksidaciju protein sulfhidrila i DNK nitraciju. NO može da utiče na odumiranje ćelije kroz formiranje jakih oksidantnih peroksinitrata (ONOO⁻). ONOO⁻ se raspada na hidroksilni slobodni radikal (OH^-) i na nitrogen dioksid radikal (NO_2) koji je snažan aktivator lipidne peroksidacije. S druge strane, vaskularni NO, kao snažan vazodilator i inhibitor agregacije trombocita, može delovati povoljno u ranim fazama fokalne cerebralne ishemije, olakšavajući dotok kolateralne krvi do teritorije zahvaćene ishemijom. Prvobitna uverenja da inhibitori sinteze NO mogu da se suprotstave toksičnosti glutamata u ćelijskoj kulturi, dovela su do temeljnih ispitivanja uloge NO u patofiziologiji cerebralne ishemijske povrede u organizmu. Ipak, studije o efikasnosti inhibitora NO sintaze u modelima fokalne cerebralne ishemije navele su različite pronalaska, od onih drastičnih neuroprotekcija do pogoršanja ishemijske povrede. Osnovni razlog koji podupire neke od postojećih kontroverzi je upotreba neselektivnih NOS inhibitora. Da bi se smanjila ishemijska povreda, trebalo bi da se razviju selektivni inhibitori za neuronalne izoforme.

Ključne reči: cerebralna ishemija, glutamat, azot oksid.

uncoupling of oxidative phosphorylation, alteration of receptor function, toxic excitatory amino acid (EAA) release, precipitating neurons in a state of hyperexcitability. Intracellular Ca^{2+} overload can also set off a cascade of events which may lead to the formation of reactive oxygen species. Injury to brain cells may release iron ions that can stimulate free radical reactions. In addition, there is a high concentration of ascorbic acid in the gray and white matter of the CNS. Ascorbate/iron and ascorbate/copper mixtures generate free radicals. One more source of oxygen free radicals is the intramitochondrial electron transfer chain. Free radicals produced in mitochondria could also have the ability to cause point mutations, DNA cross link and DNA strand breaks in mitochondrial genes. Damage to the mitochondrial genome results in impaired respiration, further increasing the possibility of oxygen radical production. In addition, the brain is poor in catalase activity and has only moderate amounts of superoxide dismutase and glutathione peroxidase. Nitrogen monoxide (NO) has recently emerged as an important mediator of cellular and molecular events which impacts the pathophysiology of cerebral ischemia. An increase in intracellular Ca^{2+} activates the enzyme NOSynthase (NOS; EC 1.14.13.39) which catalyzes the synthesis of NO from the guanido nitrogen of L-arginine and molecular oxygen. NO is produced in neurons, glia cells and vascular endothelium in central nervous system (CNS). Depending on their origin, its effects are varied. NO is a mediator having both neurotoxic and neuromodulator effects. Neuronal NO was proposed as the neurotoxic agent mediating NMDA toxicity and increasing acute ischemic damage. It causes cytotoxicity through formation of iron-NO complexes with several enzymes including mitochondrial electron transport chain, oxidation of protein sulphhydryls and DNA nitration. NO may mediate cell death also through formation of the potent oxidant peroxynitrite (ONOO⁻). ONOO⁻ decomposes to the hydroxyl free radical (OH^-) and to the radical nitrogen dioxide (NO_2) which is a potent activator of lipid peroxidation. On the other hand, vascular NO as a potent vasodilator and an inhibitor of platelet aggregation, may be beneficial in the early stages of focal cerebral ischemia. It may facilitate collateral blood flow to the ischemic territory. The original observation that inhibitors of NO synthesis can antagonize glutamate toxicity in cell culture has led to extensive investigation of the role of NO in the pathophysiology of cerebral ischemic injury *in vivo*. However, studies of the efficacy of NO synthase inhibitors in models of focal cerebral ischemia have generated widely disparate findings, ranging from dramatic neuroprotection to exacerbation of ischemic damage. The main reason that underlies some of the existing controversies is the use of non-selective NOS inhibitors. To diminish the ischemic injury, selective inhibitors for neuronal isoform should be developed.

Key word: cerebral ischemia, glutamate, nitric oxide.

OKSIDATIVNI STRES I KANCER*S. Kakari*

*Onkološka bolnica Sveti Sava
Mystra 10, Voula 16673, Atina, Grčka*

Razvoj i postojanje aerobnih organizama u prisustvu kiseonika povezano je sa generisanjem »reaktivnih« kiseoničnih (ROS) i azotnih (RNS) vrsta, koji su, što je paradoks, odgovorni za oksidativna oštećenja bioloških makromolekula (DNK, proteini, lipidi itd.). Ovi procesi su uključeni u inicijaciju progresije oboljenja kao što su arteroskleroza, ishemija-reperfuzija povreda, inflamacija, traumatska paraplegija i kancer. U ovom radu biće reči o ulozi slobodnih raidikala (F.R.) i ROS/RNS u karcinogenezi i štetnosti oksidativnog stresa (O.S.), poremećaja u antioksidativnom odbrambenom sistemu u razvoju i progresiji kancera. Oksidativni stres je rezultat poremećaja redukcionih i oksidativnih procesa u ćeliji. U prooxidativnim stanjima ćelije, intracelijski ROS/RNS su povišeni, zbog povišene proizvodnje ili nemogućnosti da se neutrališu. Kao posledica, oksidativni stres mogu da prouzrokuju mnogobrojne različite grupe faktora, kao što su radijacija, hiperbarični kiseonik, ksenobiotski metaboliti, tip Fenton metal joni (Fe^{2+} , Cu^{2+}), modulatori citohroma P-450, nedostatak hvatača slobodnih radikala i helatori metalnih jona i neadekvatne aktivnosti antioksidantnog enzima i neenzimskih antioksidanata. Ako se ima u vidu važnost oštećenja DNK u karcinogenezi, kompleksnom procesu, očigledno je da je bilo koji faktor koji može da modifikuje hemiju DNK, potencijalni karcinogen. Postoje tri osnovne odlike karcinogeneze:

1. mogućnost da se proizvodi permanentna strukturalna povreda DNK, kao što su mutacije osnovnog para, ubacivanje, brisanje i sekvencionirano umnožavanje,
2. mogućnost da se aktiviraju citoplazmični i nuklearni signali transdupcionih putanja, i
3. mogućnost da se modulira aktivnost stresogenih gena i proteina da bi se regulisali efektivni geni koji su povezani sa rastom ćelije, njenom diferencijacijom i odumiranjem.

Bitno je da slobodni radikali i ROS/RNS mogu da izazovu sve ove promene.

Razvoj neoplastičnih ćelija iz normalnih ćelija uključuje tri glavna koraka: inicijaciju, promociju i progresiju. Inicijacija je nepovratna specifična prome-

OXIDATIVE STRESS AND CANCER*S. Kakari*

*St. Sava Anticancer Hospital
10 Mystra St., Voula 16673, Athens, Greece*

The development and existence of aerobic organisms in the presence of oxygen is associated with the generation of »reactive« species of oxygen (ROS) and nitrogen (RNS) which, paradoxically, are responsible for oxidative damage to biologic macromolecules (DNA, proteins, lipids, etc.). These processes are involved in the initiation or progression of diseases like atherosclerosis, ischaemia-reperfusion injury, inflammation, traumatic paraplegia and cancer. This discussion focuses on the role of free radicals (F.R.) and ROS/RNS in carcinogenesis, and the detrimental consequences of Oxidative Stress (O.S.) and of disturbances in the antioxidant defense system in the development and progression of cancer.

Oxidative stress is the result of disturbances in the redox homeostasis of cells. In prooxidant states of the cell intracellular ROS/RNS are elevated, obviously because of overproduction or inability for their neutralization. Consequently, oxidative stress may be produced by many different groups of environmental factors such as radiation, hyperbaric oxygen, xenobiotic metabolites, Fenton-type metal ions (Fe^{2+} , Cu^{2+}), modulators of cytochrome P-450, lack of free radical scavengers and of metal chelators, and from inadequate antioxidant enzyme activities and non-enzymic antioxidants. In view of the importance of DNA damage in carcinogenesis, a complex process, it is obvious that any factor able to modify DNA chemistry is a potential carcinogen. There are three critical properties of carcinogens:

1. The capacity to produce permanent structural DNA lesions such as base-pair mutations, insertions, deletions, and sequence amplification.
2. The ability to activate cytoplasmic and nuclear signal transduction pathways, and
3. The capacity to modulate the activity of stress genes and stress proteins to regulate effector genes related to cell growth, differentiation and death.

Importantly, free radicals and ROS/RNS have the properties to cause all of these changes.

The development of neoplastic cells from normal cells involves three major steps: initiation, promotion and progression. Initiation is an irreversible specific

na u DNK ciljne ćelije (npr. agensi iz neposredne okoline, kao što je duvanski dim, mogu da indukuju onkogeno stanje). Promocija uključuje reverzibilnu stimulaciju ekspanzije zahvaćenih ćelija ili reverzibilnu promenu stanja gena u toj ćeliji ili progenu. Neki agensi, potencijalni potpomagači, ne mogu sami da pobude kancer, ali mogu da povećaju razvijanje kancera tako što pobuđuju inicirajuće agense. Kompletni karcinogeni mogu da budu i inicijatori i promotori. Primeri kompletnih karcinogena uključuju onkogenu DNK i RNA virus, joniziranje i ultraljubičastu radijaciju i razne policklične hidrokarbonate. ROS/RNS su izgleda uglavnom uključeni u promotivnu fazu karcinogeneze, iako neki ROS mogu da budu slabi kompletni karcinogeni. Suprotno tome, neki antioksidanti su anti-promoteri i anti-karcinogeni. Progresija, treća faza karcinogeneze, karakteriše razvoj aneuploidne i cionalne varijacije tumora. To dovodi do invazije tumora i metastaze. Često se dešava da tkivo tretirano karcinogenima pokazuje povećan nivo 8-hidroksideoksiguanozina (8-OhdG), koji je marker oksidativnog oštećenja DNK. To navodi na zaključak da je oksidativni stres uključen u karcinogenezu, nezavisno od karcinogena koji je inicirao ovaj proces. Oksidativni stres prouzrokuje celularni na više načina, putem oštećenja DNK, koje može biti direktno, npr. putem hidrokslinih radikala (OH^{\cdot}) koji su generisani u nukleusu (preko Fenton reakcije) ili indirektno putem vezivanja produkata lipidne peroksidacije, kao što su aldehidi, tj. 4-HNE (4-hidroksinonenal) sa bazom DNK, zbog nesposobnosti polimeraze i oporavka enzima DNK i zbog pucanja DNK usled nuklease, koju je aktiviralo povećanje intracelularnog slobodnog Ca^{2+} , koji je uzrokovani oksidativnim stresom. Veliki broj tumora pojavljuje se u kasnijim godinama, nakon kompleksne interakcije genetskih faktora i faktora iz neposredne okoline, kao što su način života (pušenje, preterano uzimanje alkohola, itd.), ishrana, infektivni mikroorganizmi i radijacija. Duvan je najveći uzročnik kancera i nekoliko drugih bolesti zabeleženih u svetu. U trećini slučajeva duvan je uzročnik kancera, a u četvrtini je uzročnik srčanih oboljenja, usled čega svake godine u Sjedinjenim Američkim Državama ranu smrt pogodi 400000 osoba. Pušenje je glavni faktor rizika kancera pluća, usta larinks, bubrega, mokraće bešike, esofagusa, stomaka i pankreasa. Svaki udahnuti dim formira više od milijardu oksiradikala. Kad se uporedi sa udahnutim, izdahnuti dim sadrži 10 puta više ONOO⁻, koja je najotrovnija citotoksična reaktivna vrsta i predstavlja opasnost za pasivnog pušača. Nedavna studija u Kanadi potvrdila je 6 prethodnih ispitivanja na populaciji koja su pokazala da pasivno pušenje predstavlja potencijalni rizik ne samo za pojavu kancera pluća, već i kancera dojke. Pušenje može da aktivira sinergiju sa drugim potencijalnim karcinogenima koji su povezani sa načinom života, kao što je preterano konzumiranje alkohola i kafe, kao i slaba ishrana. Drugi po redu faktor pojave kancera je, posle pušenja, preterano uzimanje alkohola.

alteration in the DNA of the target cell (e.g. environmental agents as in tobacco smoke may induce oncogene expression). Promotion involves the reversible stimulation of the expansion of the initiated cell or the reversible change of gene expression in that cell or its progeny. Some agents, capable promoters, are unable to induce cancer on their own, but can enhance cancer development by initiating agents. Other compounds are complete carcinogens in that they are both initiators and promoters. Examples of complete carcinogens include oncogenic DNA and RNA viruses, ionizing and ultraviolet radiation and various polycyclic hydrocarbons. ROS/RNS appear to be involved primarily in the promotion phase of carcinogenesis, although some ROS may also be weak complete carcinogens. Conversely, some antioxidants are anti-promoters and anti-carcinogens. Progression, the third phase of carcinogenesis, is characterized by the development of aneuploidy and clonal variation in the tumor. These, in turn, lead to tumor invasion and metastasis. Frequently, tissues treated with carcinogens exhibit increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG) a marker of oxidative DNA damage suggesting that oxidative stress is involved in carcinogenesis, independent of the carcinogen that initiated this process. Oxidative stress causes cellular by multiple ways such as by DNA damage which may be direct, for example by hydroxyl radicals (OH^{\cdot}) generated in the nucleus (by Fenton reaction) or indirect by binding of lipid peroxidation products such as aldehydes i.e. 4-HNE (4-hydroxynonenal) with DNA bases, from inability of polymerases and of the enzymes of DNA repair, and from DNA breakdown by nucleases activated by the intracellular free Ca^{2+} increase, caused by oxidative stress. The great majority of tumors appear in adulthood following a complex interaction of genetic and environmental factors such as: lifestyle (e.g. smoking, excessive drinking etc.), diet, infectious microorganisms and radiation. Tobacco abuse is the most important single cause of cancer and several other diseases in the world, contributing to one third of cancer cases and one fourth of coronary heart disease, and about 400,000 premature deaths each year in the United States. Smoking is a major risk factor for cancer of the lung, mouth, larynx, kidney, urinary bladder, esophagus, stomach and pancreas. Cigarette smoke results in the formation of more than a billion oxyradicals in each puff. Compared to the inhaled, the exhaled tobacco smoke (side-stream) smoke contains 10 times more ONOO⁻, the most cytotoxic reactive species, and is of great concern to passive smokers. Recent Canadian study confirmed six previous population studies, which showed that passive smoking, in addition to lung cancer, is a potential risk factor for breast cancer in women. Furthermore, smoking may act synergistically with other potential carcinogens related to lifestyle such as alcohol and coffee over-consumption in addition to poor diet among others. Alcohol over-consumption is second in importance only to smoking as a cause of cancer.

HIPERHOMOCISTEINEMIJA I KARDIOVASKULARNI POREMEĆAJI

A. Tzontcheva

*Medicinski fakultet i Institut za kliničku laboratoriju
i kliničku imunologiju »Aleksandar bolnica«,
Sofija, Bugarska*

Homocistein (Hcy) je normalni metabolit esencijalne aminokiseline metionina, za koji vlada interesovanje poslednjih nekoliko godina. Istraživači su otkrili da homocistein direktno oštećuje krvne sudove i izrazito je povezan sa srčanim udarima, šlogom i perifernim vaskularnim oboljenjima. Homocistein se vazuje za LDL pri čemu se modifikuje njegova struktura tipa oksidacije ili glikozilacije. Epidemiološka izučavanja ukazuju da su povećane koncentracije homocisteina u plazmi nezavisni faktori rizika za kardiovaskularna oboljenja (KVO) i osjetljiv marker funkcije kobalamina i folata (Fol). Hcy posreduje endotelnu ćelijsku toksičnost povećanjem ćelijske gustine i stvaranja kolagena. Folna kiselina značajno snižava koncentracije homocisteina u plazmi. Izrazita inverzna korelacija je nađena između ukupnog homocisteina i serumskog folata. Graham sa sar. (1997) je u velikoj multicentričnoj evropskoj studiji koja je uključivala 750 slučajeva i 800 kontrola našao da je povećani tHcy isto tako izrazit nezavisni faktor rizika za KVO oboljenja kao i pušenje i hiperlipidemija. Uočeno je da je odnos između nivoa Hcy i vaskularnih oboljenja postepen. Povećanje homocisteina za svakih 5 mmol/L u plazmi je praćeno učestalošću koronarnog oboljenja od 1,6 do 1,8 puta (CJ Boushley i sar., 1995). Srednje do umerena hiperhomocisteinemija je nađena kod vaskularnih oboljenja praćenih polimorfizmom metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR) (P. Frosst i sar., 1995). Naš cilj je bio da se ispita odnos između homocisteina u plazmi i infarkta mokarda poređenjem samog uticaja HCy i kombinacije visokog Hcy i vitamin B₁₂ i doprinosa polimorfizma MTHFR ovom odnosu.

HYPERMOCYSTEINEMIA AND CARDIO-VASCULAR FAILURE

A. Tzontcheva

*Medical University Sofia, Chair of Clinical Laboratory
and Clinical Immunology »Alexander Hospital«,
Sofia, Bulgaria*

Homocysteine (Hcy) a normal metabolite of the essential amino acid methionine, came into the lime-light several years ago. Researchers discovered that homocysteine can directly damage blood vessels and is strongly associate with heart attacks, strokes and peripheral vascular disease. Homocysteine attaches to LDL and modifies its structure, much like oxidation and glycosylation do. Accumulating findings from epidemiological studies provide a compelling case for considering that increased plasma homocysteine level is an independent risk factor for cardiovascular disease (CVD) and a sensitive marker of cobalamine and folate (Fol) function. Hcy mediates endothelial cell toxicity by increasing both cell toxicity by increasing both cell density and collagen production. Folic acid effectively lowers homocysteine concentration in plasma. A strong inverse correlation was found between total homocysteine and serum folate. Graham et. al. reported that increased risk factor for CVD on the basis of a large multicenter European study involving 750 cases and 800 controls (1997). The relationship between Hcy levels and vascular disease is considered to be graded. Each 5 μmol/L increase in fasting plasma Hcy are associated with an 1.6 to 1.8-fold increase in incidence in fasting plasma Hcy are associated with an 1.6 to 1.8-fold increase in incidence of coronary disease (CJ Bousshley et al., 1995). Mild-to-moderate hyperhomocysteinemia seen in vascular disease associates with methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism (P. Frosst et al., 1995). Our objectives were to estimate the relationship between fasting plasma Hcy and myocardial Infarction (MI), comparing the influence of Hcy alone with those of combination of high Hcy and low Fol and Vit. B₁₂ and to examine the contribution of MTHFR polymorphism to that relationship.

**KLINICKA PRIMENA CISTATINA C
KOD PACIJENATA SA RAZLIČITIM
BUBREŽnim OBOLJENJIMA**

T. Gruev, S. Domazetovska,
K. Stefanovski, K. Čakalarovski

*Institut za kliničku biohemiju, Klinika za nefrologiju
Klinički centar, Skopje, Makedonija*

Cistatin C (cystatin proteazni inhibitor) je protein sa niskom molekulskom težinom, koji se stvara konstantno u svim nuklearnim ćelijama nezavisno od različitih patoloških stanja, a eliminiše se preko krvi glomerularnom filtracijom. Isto je predložen kako alternativni marker za GFR, a poslednja ispitivanja pokazuju da je dobar marker za GFR. Cistatin C se reflekira sa glomerularnom filtracijom kod pacijenata sa različitim bubrežnim oboljenjima i kod pacijenata sa izvršenom bubrežnom transplantacijom. Ispitivano je 120 pacijenata sa dijabetičnom nefropatijom i hroničnim oboljenjima i 38 pacijenata sa izvršenom bubrežnom transplantacijom. Koncentracija Cistatina C i beta-2 mikroglobulina je određivana imunoturbidimetriskim metodom sa testovima DAKO. Određivanje kreatin klirensa vršeno je prema formuli Cockroft-Gault kao indikator za GFR. Pacijenti sa hroničnim oboljenjima su podeljeni na subgrupe prema GFR (mL/min). Kod svih ispitivanih grupa (glomerulonefritis, glomerulonefritis sa nefrotском proteinurijom, pielonefriti i transplantacija) dobili smo različite koeficijente korelacije između kreatin klirensa i cistatina C i kreatin klirensa i beta-2 mikroglobulina. Rezultati pokazuju da je Cistatin C bolji marker za GFR u odnosu na beta-2 mikroglobulin kod pacijenata sa nefrotском proteinurijom.

**CLINICAL USEFULNESS OF SERUM
CYSTATIN C IN PATIENTS WITH
VARIOUS KIDNEY DISEASES**

T. Gruev, S. Domazetovska,
K. Stefanovski, K. Čakalarovski

*Institut of Clinical Chemistry, Clinic of Nephrology
Clinical Centre, Skopje, Macedonia*

Cystatin C (cysteine proteinase inhibitor) is a low weight protein which is produced constantly by all nucleated cells independently of different pathological conditions and eliminated from the blood by glomerular filtration. Cystatin C has been proposed as an alternative marker of GFR, which meets many of the criteria of a good GFR marker. Serum Cystatin C closely reflects the glomerular filtration rates in patients with different kidney diseases and in patients after kidney transplantation. The patients (120) with different diseases (diabetic nephropathy, chronic diseases) and 38 after transplantation were investigated. The concentration of Cystatin C and beta 2 microglobulin was determined using the DAKO test. Creatinine clearance estimated by the Cockcroft-Gault formula was used as an indicator of GFR. Patients with chronic diseases were divided into subgroups according to GFR(mL/mm). In all studied groups (glomerulonephritis, GN with nephrotic proteinuria, pyelonephritis and transplantation) there were differences (except glomerulonephritis) in correlation coefficients between Ccr and Cystatin C and Ccr and beta 2 microglobulin. However, serum Cystatin C is a better marker of GFR than beta 2 Microglobulin in patients with nephrotic proteinuria ($p=0.620$, $p=0.410$).

**IMUNSKI SISTEM I PROMENE
U OKSIDATIVNOM METABOLIZMU**

B. Kamenov, H. Dimitrijević,
S. Pljaskić, T. Zaharov

Dečja klinika, Klinički centar Niš

Postoji mnogo elemenata koji povezuju aktivaciju imunskog sistema i oksidativni metabolism. Klinički element ove veze su: anemija u hroničnim bolestima, nishodna regulacija oksidativnog metabolizma perifernih fagocita u toku hroničnih inflamacija, nishodna regulacija oksidativnog metabolizma i disfunkcija imunskog sistema u sindromu hroničnog umora, uklanjanje gvožđa u toku hroničnih inflamacija, sindrom hladnih ruku i nogu, simptomatska glavobolja u hroničnim inflamatornim bolestima, bronhoopstrukcija u toku inflamacije zbog infekcije ili alergije. Analiza kliničkih manifestacija kod 250-ro dece s hroničnom disfunkcijom imunskog sistema pokazuje da su najčešće kliničke manifestacije vezane za hemopoetski sistem (anemija 78,8%, sideropenija 64,8%, monocitoza 49,2%, virocitosa 31,6%, trombocitoza 11,6%, leukopenija 5,6%, trombocitopenija 2,8%), limfadenopatija 62%, sindrom hroničnog umora 36,5%, vaskulitis 28,8%, glavobolja 21,6%, sviranje u grudima 14,4%, Raynold-ov sindrom 8,4%. Antitela specifična za CMV nađena su kod 92,4%, HSV u 51,2%, EBV u 23,6%. Makrofagi dobijaju najveći deo gvožđa eritrofagocitozom. Kada su makrofagi kvitirani oni povećavaju sintezu feritina, što je pod kontrolom citokinske mreže, i što dovodi do deponovanja gvožđa, umesto njegovog oslobođanja. Citokini poput TNF-beta, IL-1 beta, IL-6, IFN-gama inhibiraju stvaranje Epo i proliferaciju BFU-E i CFU-E. Slične efekte pokazuju smanjenje IL-10 što je često u hroničnim inflamacijama. Citokini i drugi medijatori aktivacije imunskog sistema pokazuju efekte na nivou endotela dovodeći do vazokonstrikcije ili bronhoopstrukcije bronhijalnog sistema. Aktivacija imunskog sistema dovodi do izmena u oksidativnom metabolizmu na nivou metabolizma gvožđa, stvaranja hemoglobina i eritrocita, snabdevanja tkiva krvlju ili ventilacije što su komponente imunoregulacije i patogeneze bolesti, ali i značajni elementi prognoze i lečenja.

**IMMUNE SYSTEM AND OXIDATIVE
METABOLISM DOWN REGULATION**

B. Kamenov, H. Dimitrijević,
S. Pljaskić, T. Zaharov

Pediatric Clinic, Clinical Centre Niš, Yugoslavia

There are many elements connecting the immune system activation to oxidative metabolism. Clinical elements of this connections are: anemia in chronic diseases, down regulation of the oxidative burst of the peripheral phagocytes during chronic inflammation, oxidative metabolism down regulation and immune system dysfunctions in chronic fatigue syndrome, iron withdrawal during chronic inflammations, syndrome of cold legs and hands or symptomatic headache, bronchobstruction during inflammation because of infection or allergy. Analysis of the clinical manifestation in 250 children with chronic immune dysfunctions has shown that the most common manifestations are related to the haemopoietic system (anemia 78,8%, sideropenia 64,8%, monocytosis 49,2%, virocytosis 31,6%, thrombocytosis 11,6%, leucopenia 5,6%, thrombocytopenia 2,8%), lymphadenopathy 62%, chronic fatigue syndrome 36,5%, vasculitis 28,8%, headache 21,6%, wheezing 14,4%, raynold syndrome 8,4%. Antibodies specific for CMV were present in 92,4%, HSV in 51,2%, EBV in 23,6%. Macrophages acquire most of their iron by erythrophagocytosis. When macrophages are activated they increase the synthesis of ferritin which is under control of the cytokine network leading to iron storage instead iron release. Cytokines like TNF-beta, IL-1 beta, IL-6, IFN gamma inhibit Epo production, and proliferation of BFU-E, CFU-E. Similar effects have low levels of IL-10 which is common in chronic inflammations. Cytokines and other mediators of immune system activation have effects on the level of the endothelium leading to vasoconstriction, or bronchial system to bronchoconstriction. Immune system activation leads to oxidative metabolism modulation on the level of iron metabolism, hemoglobin and red blood cell production, blood supply or ventilation, which are part of the immunoregulation and pathogenesis of the disease, but may be important elements for prognosis and treatment.

BIOHEMIJSKA OSNOVA PATOGENEZE DEPRESIJE

V. R. Paunović

*Institut za psihijatriju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Biohemijski patogenetski supstrat depresije čine premećaji serotonergičke, noradrenergičke i delimično dopaminergičke neurotransmisijske. Kako sistemi neurotransmisijske funkcije funkcionisu u stalnoj međusobnoj komunikaciji, čitav niz modulatomih interakcija dovodi do poremećaja u drugim sistemima neurotransmisijske/neuromodulacije. Primarni biohemijski disbalans javlja se u serotonergičkim strukturama. Smanjena je koncentracija L-hidroksitriptofana i serotonina u plazmi. Smanjena produkcija serotonina dovodi do promene funkcionalnosti serotoninskih presinaptičkih 5-HT1 (promena senzitivnosti) i postsinaptičkih 5-HT2 (hipersenzibilizacija) receptora. Smanjena produkcija i obrt serotonina potvrđuju se smanjenjem koncentracija 5-hidroksindolsirčetne kiseline (5-HIAA) u cerebrospinalnoj tečnosti. Promene koncentracije serotonina u trombocitima takođe ukazuju na poremećaj centralnih serotonergičkih mehanizama, kao i povećanje broja trombocitnih 5-HT2 receptora i slabije vezivanje imipramina i paroksetina za trombocite. Snižena funkcija serotonergičkog sistema dovodi do hipersenzibilizacije postsinaptičkih beta-2 adrenoceptora, što ukazuje na značajne interakcije serotonergičkog i noradrenergičkog sistema u procesima organizacije afektiviteta. Disfunkcionalnost noradrenergičkog sistema je druga bitna komponenta patogenetskog procesa. Producija i obrt noradrenalina u početku patoloških događanja mogu biti sniženi, nepromenjeni ili povećani. Sniženje noradrenergičke transmisijske može biti uslovljeno nedostatkom noradrenalina ili promenom osetljivosti noradrenergičkih receptora (ushodna regulacija i hipersenzibilizacija alfa-adrenergičkih presinaptičkih auto- i heteroreceptora). Smanjene koncentracije 3-metoksi-4-hidroksifenilglikola (MHPG) u cerebrospinalnoj tečnosti i urinu, ukazuju na snižen obrt noradrenalina. Presinaptička disfunkcija indukuje i promene na subcelularnom postsinaptičkom nivou: u bipolarnom poremećaju nađena je hiperaktivnost G-proteina, promene aktivnosti sistema fosfoinozitida i pojačano oslobođanje intracelularnog kalcijuma. Niz drugih pokazatelja (smanjeni

BIOCHEMICAL BASIS OF DEPRESSION

V. R. Paunović

*Institute of Psychiatry,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade*

Dysfunctional central serotonergic, noradrenergic and, at lesser degree, dopainergic mechanisms are the core biochemical factors of pathogenesis of depression. Continuous interactions of different systems of neurotransmission generate, as a result of dysfunctional monoaminergic systems, changes in other systems of neurotransmission/neuromodulation. The primary biochemical disturbance appears in serotonergic structures. Reduced plasmatic concentrations of L-hydroxytryptophan and serotonin are found in depressed subjects. Lower rates of synthesis and lack of serotonin induce functional changes in presynaptic 5-HT1 (altered sensitivity) and postsynaptic 5-HT2 (upregulation) serotonergic receptors. Lowered concentrations of 5-hydroxyindolacetic acid in CSF reflect diminished turnover and serotonergic transmission. The changes of platelet serotonin point to altered central serotonergic mechanisms, as well as increased number of platelet 5-HT2 receptors and weakened thrombocyte binding of imipramine and paroxetine. The lowered serotonergic transmission leads to hypersensitization of postsynaptic beta-2 adrenoceptors, revealing important interactions between serotonergic and noradrenergic systems in organization of affectivity. Dysfunction of noradrenergic central system is the second core component of pathogenesis of depression. Noradrenaline biosynthesis and turnover may be augmented, diminished, or even unchanged at the beginning of depressive disorder. In most of depressive subentities, dysfunction is based on lowered noradrenergic transmission, due to the lack of noradrenaline or to altered sensitivity of noradrenergic receptors (upregulation of alpha-2 presynaptic auto- and heteroreceptors). Lowered CSF and urinary concentrations of 3-methoxy-4-hydroxy-phenylglycol (MHPG) reveal noradrenergic dysfunction in depression. Presynaptic disturbances induce changes on the postsynaptic subcellular level: hyperactivity of G-protein and phosphoinositide system with augmented intracellular calcium release is found in bipolar depression. Other functional sys-

odgovori na stimulaciju hormona rasta, oslabljen odgovor TRH na stimulaciju TSH, izostajanje supresije oslobođanja kortizola posle aplikacije deksametazona, slab odgovor ACTH, kortizola i prolaktina na stimulaciju fenfluraminom) ukazuje na poremećaj noradrenergičkih i serotonergičkih regulatomih mehanizama u depresiji. Podaci dobijeni vizualizacijom mozga (SPECT, PET) otkrivaju smanjenje potrošnje glikoze u frontalnim regijama u kojima se vrši sintetička obrada informacija. U toku su studije neurotropnih faktora (BDNF), stimulisanih serotonergičkim i noradrenergičkim mehanizmima, čija je aktivacija subcelularno posredovana CREB proteinom.

tems may be affected in depression due to the altered neurotransmission/neuromodulation. Blunted responses at the level of HPA, thyroid axes, and to the growth hormone stimulation, diminished response of ACTH, cortisol and prolactin to serotonin agonist, fenfluramine, are in some way, markers of depressive disorder. New visualization techniques (SPECT, PET) reveal metabolic changes in frontal lobes (synthetic information processing), that clinically correlate with depressive mood and cognition. Studies of neurotropic factors (BDNF), stimulated by serotonergic and noradrenergic mechanisms, and activated by CREB protein, are in progress.

ULOGA PATOLOŠKOG TAU PROTEINA U NEURODEGENERACIJI

G. Ocić

Institut za neurologiju KCS, Beograd

Depoziti neurofilamenta sa patološkim oblicima tau proteina nalaze se kod brojnih degenerativnih oboljenja mozga, uključujući pored hereditarnih tau-patija, Alchajmerovu bolest, progresivnu supranuklearnu paralizu i kortikobazalnu degeneraciju. Hereditarne taupatije obuhvataju frontotemporalne demencije i mešovite sindrome kao što su frontotemporalna demencija sa parkinsonizmom, dezinhibicija demencija parkinsonizam amiotrofija kompleks, pallidopantonigralna degeneracija i šizofreniji slično ponašanje sa degeneracijom amigdala. Tau protein se u mozgu odraslih nalazi u 6 izomorfnih oblika generisanih pojedinačnim genom na 17. hromozomu putem alternativnog cepljanja iRNK. Oni se međusobno razlikuju prema sadržaju 3 (tau-3, -3S, -3L) ili 4 (tau-4, -4S, -4L) za mikrotubule vezujućih domena u blizini C-terminala. Kod Alchajmerove bolesti ovi oblici tau proteina nalaze se u hiperfosforilisanom stanju zahvaljujući povišenoj aktivnosti protein kinaza ili sniženoj aktivnosti protein fosfataza. Hiperfosforilisani tau protein ulazi u sastav parova helikalnih filamenata intracelularno lociranih neurofibrilarnih klubadi kod Alchajmerove bolesti. Kod raznih oblika hereditarnih taupatija do danas je opisano oko 20 mutacija na 17. hromozomu egzon-skog i intronskog tipa, koje dovode do promene odnosa tau-3 i tau-4 izomorfa u korist poslednjeg. Pojava brojnih, uvijenih filamenata sačinjenih pretežno od tau-4 izomorfa uzrokovanu je navedenim mutacijama. Patološki oblici tau proteina čine jedan od ključnih mehanizama neurodegeneracije sa krajnjim ishodom izumiranja neurona.

THE ROLE OF PATHOLOGICAL TAU PROTEINS IN NEURODEGENERATION

G. Ocić

Institute for Neurology, CCS, Belgrade

Neurofilament deposits accompanied with pathological forms of tau protein are found in a number of brain degenerative diseases, including hereditary tauopathies, Alzheimer's disease, progressive supranuclear paralysis and corticobasal degeneration. Hereditary tauopathies encompass frontotemporal dementias and mixed syndromes such as frontotemporal dementia associated with parkinsonism, disinhibition dementia parkinsonism amiotrophy complex, pallidopantonigral degeneration and schizophrenia like behaviour with amygdala degeneration. In adult brain tau protein is expressed in 6 isomorphic forms generated by single gene located at 17 chromosome by alternative cleavage of mRNA. They differ according to the content 3 (tau-3, -3S, -3L) or 4 (tau-4, -4S, -4L) of microtubuli bound C-terminal domain. In Alzheimer's disease these tau protein forms are hyperphosphorylated due to increased protein kinase activities or decreased protein phosphatase activities. Hyperphosphorylated tau protein is the structural component of intracellular neurofibrillar glome helicoidal filament pairs in Alzheimer's disease. Up to now about 20 mutations at 17 chromosome (exonic or intronic type), leading to the change of tau-3 and tau-4 isomorph relation, are described in different types of hereditary tauopathies. Appearance of numerous convoluted filaments mostly composed of tau-4 isomorph is induced by mentioned mutations. Pathological forms of tau protein represent one of the key mechanisms of degeneration leading to death of neurons.

BIOHEMIJSKE OSNOVE ANKSIOZNOSTI

S. Miljković, S. Tošić-Golubović

Medicinski fakultet, Niš

Anksioznost je ubikvitarna pojava koja prožima sveukupno ljudsko življenje normalno i patološko. U sklopu normalne emocionalne reaktivnosti ona aktivira budnost, selektivnu pažnju i procesiranje informacija, delujući kao opšti alarmni signal. U patološkim stanjima ovaj signal gubi autentičnost, t.j. aktivira se i u prilikama koje ne predstavljaju opasnost po individuu. Bez obzira na brojne kontroverze o mestu anksioznosti u različitim kliničkim entitetima i mogućim komorbidnim manifestacijama (na pr. sa depresijom), anksioznost je najzastupljenija u stanjima straha: generalizovanim anksioznim poremećajima, paničnim poremećajima i fobijama. Autori u saopštenju razmatraju biohemijске promene u okviru neurotransmisijske i neuromodulacije koje leže u osnovi navedenih tipova reakcije straha. Pouzdana naučna saznanja iz ove oblasti predstavljaju osnovu za proučavanje kompleksnijih stanja anksioznosti i solidne implikacije za suptilnije terapijske zahvate. Posebno se razmatraju uloge GABA-ergičnog, noradrenergičnog i serotonergičnog sistema. Istiće se značajna uloga GABA-ergičkih inhibitornih procesa (direktnih i indirektnih) preko modulacije svih ascendentnih sistema koji učestvuju u bihevioralnoj organizaciji stanja straha. Značaj *Locus coeruleus*-a i norepinefrina u noradrenergičkoj transmisiji potvrđen je eksperimentalno na životinjama, dok u klinici ovi podaci služe kao osnova u terapiji anksioznosti nebenzodiazepinskim agensima. Najzad, razmatra se kontroverzna uloga serotonergičke transmisije (anksiogena ili anksiolitička?), uloga parcijalnih agonista u adaptaciji 5-HT₁ receptora i moguća relacija sa stanjima depresije. Osim generalnog pristupa, ističu se biohemijске specifičnosti pojedinih kliničkih entiteta stanja straha, koje predstavljaju osnovu za uspešnu primenu psihofarmakoterapije ovih stanja.

THE BIOCHEMICAL BASIS OF ANXIOSITY

S. Miljković, S. Tošić-Golubović

Medical Faculty, Niš, Yugoslavia

Anxiety is ubiquitous phenomenon pervading the entire human living normal and pathological. In normal emotional reactivity, it activates awareness, selective concern, information processing, acting as general alarm signal. In pathological states this signal loses authenticity, being activated in situations that are not dangerous for the person. Aside from numerous controversies about the site of anxiety in different clinical entities and possible comorbid manifestations (for example depression), anxiety is mostly present in the states of fear: generalised anxious disorders, panic disorders and phobias. In this report the authors discuss the biochemical changes in neurotransmission and neuromodulation, underlying the mentioned types of fear reaction. Relevant scientific knowledge in this area represents the basis for investigation of more complex states of anxiety and solid implications on more subtle therapeutic approaches. The roles of GABA-ergic, noradrenergic and serotonergic systems are discussed separately. The important role of GABA-ergic inhibitory processes (direct and indirect) via modulation of all ascendant systems involved in behavioural organisation of fear state is emphasized. The importance of *Locus coeruleus* and norepinephrine in noradrenergic transmission is experimentally confirmed on animals, while clinically these data are basic support in nonbenzodiazepine drug therapy of anxiety. Finally, the controversial role of serotonergic transmission (anxiogenic or anxiolytic ?), the role of partial agonists in 5-HT₁ receptor adaptation and possible relation to depression states are also of concern. Apart of general approach, the biochemical specificities of some clinical entities of fear states, representing the basis of these states psychopharmacotherapy, are emphasized.

**BOLESTI TRINUKLEOTIDNIH PONOVAKA:
PATOFIZIOLOŠKI MEHANIZMI
I KLINIČKI ZNAČAJ**

V. S. Kostić

Institut za neurologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

Na kraju 20. veka identifikovano je 14 bolesti koje nastaju kao posledica ekspanzija nestabilnih trinukleotidnih ponovaka, ustanovljavajući ovaj nekada jedinstveni mutacioni mehanizam kao osnovu sve većeg broja bolesti centralnog nervnog sistema. Bolesti trinukleotidnih ponovaka mogu se zavisno od lokacije samih trinukleotidnih ponovaka, grubo grupisati u dve celine: (a) bolesti koje uključuju nekodirajuće ponovke (npr. Friedreichova ataksija, miotonička distrofija, spinocerebelarne ataksije SCA tip 8 i 12) i (b) bolesti u kojima se ponovci nalaze unutar kodirajućih regiona. Ova druga grupa bolesti je uzrokovanu egzonskim ekspanzijama CAG ponovaka, koje se potom transliraju u duge poliglutaminske nizove (otuda i *bolesti glutaminskih ponovaka*). U ovu grupu jedinstvenih oboljenja spadaju brojne SCA, spinobulbarna mišićna atrofija, Huntingtonova bolest i dentatorubropalidoluzijalna atrofija. Ovaj tip mutacija je od ključne važnosti za razumevanje patofizioloških mehanizama u razvoju različitih bolesti, a posebno uloge struktorno izmenjenih proteina (npr. huntingtin ili ataksini sa produženim poliglutaminskim nizovima) tokom procesa njihove degradacije proteasomsko-ubikvitinskim mehanizmima. Uz to, ovaj tip mutacija omogućio je i razumevanje čitavog niza kliničkih fenomena, tipa anticipacije i različitih brzina progresije patološkog procesa. Najzad, identifikacija patofizioloških mehanizama otvara vrata i za nove terapijske strategije u, inače rezistentnim, neurodegenerativnim procesima.

**TRINUCLEOTIDE REPEAT DISEASES:
PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS
AND CLINICAL SIGNIFICANCE**

V. S. Kostić

*Institute for Neurology, Clinical Center of Serbia,
Belgrade, FR Yugoslavia*

At the end of the twentieth century 14 diseases that resulted from expansions of unstable trinucleotide repeats were identified. The formerly unique mutation mechanism has been recognized as the basis of increasing number of diseases of the central nervous system. The trinucleotide repeat diseases may be roughly divided into two groups, according to location of the repeats themselves: (1) diseases that affect the non-coding repeats (e.g. Friedrich's ataxia, myotonic dystrophy, spinocerebellar ataxias [SCA] type 8 and 12) and (b) diseases where the repeats are in the coding regions. This latter group of diseases is caused by exonic expansions of CAG repeats that are subsequently translated into long polyglutamine tracts SCAs, spinobulbar muscular atrophy, Huntington's disease, and dentatorubropallidolusian atrophy. This type of mutations is crucially important for understanding of pathophysiological mechanisms in development of miscellaneous diseases, particularly the role of structurally altered proteins (e.g., huntingtin or ataxins with prolonged polyglutamine tracts) during the process of their degradation by proteosomal-ubiquitine mechanisms. Besides, this type of mutations has made it possible for us to understand a series of clinical phenomena, such as anticipation and different rates of progression of pathological processes. Finally, identification of pathophysiological mechanisms opens the door to new therapeutic strategies in otherwise resistant neurodegenerative processes.

Jugoslov. Med. Biohem. 21: 113–115, 2002

*Predavanja
Lectures*

NEUROBIOLOGIJA CEREBROSPINALNE TEČNOSTI: FAZNOST U RAZVOJU ISHEMIČNOG NEURONALNOG OŠTEĆENJA

M. Živković

Klinika za neurologiju, Klinički centar, Niš

Cerebrospinalna tečnost suptilno reflektuje promene metaboličkog statusa kod ishemije mozga. Cilj ovog istraživanja bio je da se evaluiraju neurohemiske promene u ranoj postishemiji, sa idejom da se definije vremenski interval (terapijski prozor) u kome aplikacija medikamenata povoljnije utiče na metaboličke promene u ishemiji mozga. Sadržaj energetskih metabolita (glikorahija, laktat, piruvat) i cAMP ispitivani su u likvoru 65 bolesnika, a biogenih amina (noradrenalin, dopamin, serotonin, 5-HIAA) kod 85 obolevih pacijenata. Kao kontrolna grupa u ispitivanje uključeno je 10 pacijenata bez znakova akutnog cerebrovaskularnog oboljenja. Uzorci likvora su zamrzani i nakon toga ispitivani enzimskim fluorometrijskim i radiometrijskim tehnikama. Unutar prvih 6 sati od početka bolesti je uočeno značajno povećanje sledećih parametara: glikorahije (230%), laktata (1300%), piruvata (270%), cAMP-a (600%), noradrenalina (478%), dopamina (303%), serotoninine (173%), 5-HIAA (205%), 5-HIAA/5HT (118%). Rezultati istraživanja ukazuju da je rani postishemični period (prvih 6–12 sati od početka bolesti) faza burnih metaboličkih zbivanja, što može biti svojevrstan terapijski prozor adekvatnog tretmana.

BIOCHEMISTRY OF CEREBROSPINAL FLUID: PHASIC RECOGNITION OF ISCHEMIC DAMAGE

M. Živković

Department of Neurology, Faculty of Medicine, Niš

Cerebrospinal fluid (CSF) reflects brain extracellular fluid composition, thus being valuable in assessing metabolic state of the tissue in various conditions. In the present investigation, we have assessed the temporal pattern of the biochemical changes in the CSF of patients with stroke; i.e. 85 patients were classified into two groups according to the time that had elapsed after the onset of the stroke and prior the administration of therapy. Control lumbar CSF samples were immediately frozen and analyzed using the appropriate enzymatic, fluorometric and radiometric techniques. Within first 6 hours the following biochemical parameters were found increased: glucose (230%), lactate (1300%), piruvate (270%), cyclic AMP (600%), norepinephrine (478%), dopamine (303%), serotonin (173%), 5-HIAA (205%), 5-HIAA/5HT (118%). Our results suggest that there is an »active phase« from the onset of the stroke to the 6–12th hour afterwards; during this interval dynamic changes are found. These phases are documented by means of the therapy administrated before or after 12 hours following the onset of the stroke.

PROSPEKTIVNA STUDIJA O STATUSU HOMOCISTEINA KOD KARAKTERISTIČNIH GRUPA PACIJENATA

D. Mirković, S. Ignjatović, N. Majkić-Singh

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Vrlo važno polje istraživanja u svetu, kada je u pitanju rizik za nastanak koronarne bolesti s jedne, odnosno rizik za nastanak karakterističnih trombotičkih promena vaskularnog sistema s druge strane, je utvrđivanje karakterističnih vrednosti homocisteinemije. Evidentna je i genetska predispozicija pojedinih grupa pacijenata za nastanak hierhomocisteinemije. Pošto ovakve vrste podataka nema za našu populaciju, ispitivan je nivo ukupnog homocisteina kod tri karakteristične grupe pacijenata: hroničnih bolesnika sa anginom pektoris (AP), pacijenata sa preležanim akutnim infarktom miokarda (AIM) i grupe pacijenata sa bubrežnom insuficijencijom na stalnoj hemodializi. Grupa pacijenata sa simptomima AP imala je 77 osoba, a broj pacijenata sa preležanim AIM, kojima je krv uzimana maksimalno 48 časova nakon manifestacije AIM, imala je 148 pacijenata. U poređenju sa kontrolnom grupom od 25 osoba nađeno je statistički značajno povećanje koncentracija ukupnog homocisteina, uz primetno izraženije povećanje homocisteinemije za grupu pacijenata sa preležanim AIM. Ovo ukazuje na povećanu sintezu homocisteina u toku i eventualno pre nastanka lezija srčanog mišića, odnosno potvrđuje pozitivnu korelaciju između povećanih vrednosti ukupnog homocisteina i povećanja rizika za nastanak koronarne bolesti uključujući i AIM. Kod nezavisne grupe od 117 hroničnih bolesnika na stalnoj hemodializiji nađeno je statistički najizraženije povećanje vrednosti ukupnog homocisteina u odnosu na kontrolnu grupu. Ovakav podatak može se dovesti u vezu sa izraženom toksičnim delovanjem homocisteina na intimu krvnih sudova. Mehanizam nastanka izražene hiperhomocisteinemije kod grupe pacijenata na hemodializiji za sada je nepoznat, a utvrđivanje mehanizma istog može imati veliki značaj u sagledavanju problema kvalitetnog saniranja pomenutih pacijenata.

PROSPECTIVE STUDY ABOUT HOMOCYSTEINE STATUS IN ORDERED PATIENT GROUPS

D. Mirković, S. Ignjatović, N. Majkić-Singh

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade*

One of the very important field of investigation, when we put question about coronary risk factor, and risk for trombotic changes in vascular system, respectively, is homocysteine levels. Genetic predisposition for hyperhomocysteinemia in typical patient groups, are also evident. There are no data like those for our population, then we have investigated whole homocysteine levels in three typical patient groups: chronic patient, with angina pectoris (AP), patient who went through acute myocardial infarction (AMI), and patients with kidney insufficiency, on permanent hemodialysis. Patient group with AP symptoms had 77 persons, while number of patients in group with AMI, whose blood was collected maximum 48 hours after attack, had 148 persons. In comparsion with control group, which was consisted of 25 healthy persons, statistical significant elevation for whole homocysteine levels was detected, for both groups, with marked elevation for (AMI) group. This data appear on increased synthesis of homocysteine during attack, and before rise of coronary muscle lesion, confirmed positive correlation among elevated whole homocysteine levels and increased risk for coronary diseases, including AIM. By independent group with 117 patients on permanent hemodialysis, most significant homocysteine elevation has been detected against control group. This fact can be bind with toxic homocysteine action on intima. Mechanism for hiperhomocystinemny in this patient group is not clear and its determination can give important results in qulitative treatmant of these patients.

UTROŠAK MANOZA VEZUJUĆEG PROTEINA U SERŪMU I SINOVIJALNOJ TEČNOSTI KOD BOLESNIKA SA REUMATOIDNIM ARTRITISOM

Z. V. Mijušković¹, I. Zgradić³, M. Čolić²,
R. Nikolajević¹, G. Radunović⁴, Lj. Rackov³,
Z. Anđelković³, M. Popović³

¹Institut za medicinsku biohemiju

²Institut za medicinska istraživanja

³Klinika za reumatologiju i kliničku imunologiju,
Vojnomedicinska akademija

⁴Institut za reumatologiju, Beograd

Izmenjen proces glikozilacije kod bolesnika sa reumatoidnim artritisom (RA) manifestuje se deficitom u sadržaju galaktoze unutar glikanskog lanca na Fc fragmentu IgG, a G0IgG je dominatna forma. Tačke strukturne promene mogu da promovišu nove epitope i autoreaktivnost ili da olakšaju stvaranje kompleksa agregiranih G0IgG, koji aktiviraju »pseudočistični« put aktivacije komplementa, posredstvom manzoa vezujućeg proteina (MbP). Da bi se ispitivala povezanost ovih fenomena sa pomenutom aktivacijom komplementa kod RA, određena je koncentracija MbP u 59 serumima i sinovijalnih tečnosti (ST), imunonefeliometrijskom metodom (DADE Behring). Bolesnici su razvrstani u 2 grupe: 24 sa umerenom (UA) i 35 sa visokom aktivnošću (VA) RA prema klinički utvrđenim kriterijumima. Kontrolnu grupu (KG) činilo je od 15 bolesnika sa lezijama meniskusa. Prosečne vrednosti ± SD za MbP u serumu uznosile su za KG 2.1 ± 1.0 ; 2.6 ± 1.5 za UA i 3.3 ± 1.9 u grupi sa VA, dok su vrednosti u ST bile 1.1 ± 0.8 ; 1.0 ± 0.9 ; 2.9 ± 1.7 mg/L. Koncentracije MbP bile su unutar fizioloških granica ili povišene u serumu a u ST su bile niže za oko 40–55% u odnosu na serum. Statistička značajnost je zabeležena u koncentracijama MbP u serumu i ST između grupa sa VA i UA RA, a samo u serumu između VA i KG ($p < 0.05$). Nije konstatovan očekivan utrošak MbP u serumu i ST, te rezultati ovog ispitivanja niti opovrgavaju ustanovljenu ulogu MbP u aktivaciji komplementa, niti idu u prilog ovakve hipoteze.

MANNOSE-BINDING PROTEIN CONSUMPTION IN SERUM AND SYNOVIAL FLUID OF RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS

Z. V. Mijušković¹, I. Zgradić³, M. Čolić²,
R. Nikolajević¹, G. Radunović⁴, Lj. Rackov³,
Z. Anđelković³, M. Popović³

¹Institute for Medical Biochemistry

²Institute for Medical Research

³Clinic for Rheumatology and Clinical Immunology,
Military Medical Academy

⁴Institute for Rheumatology, Belgrade, Yugoslavia

Altered glycosylation at rheumatoid arthritis (RA) patients was demonstrated by deficiency in galactose content of the N-linked carbohydrate in IgG Fc molecule, while G0IgG form is dominating. Such structural change might expose new epitopes that could elicit autoreactivity or, enhance complex formation containing aggregated G0IgG and complement »pseudoclassical« activation via mannose-binding protein (MbP) attachment. In order to prove connection between RA and mentioned anticomplementary activity, 59 RA patients sera and synovial fluid (SF) were assayed for the level of MbP by the latex-enhanced immunonephelometry (DADE-Behring) method. Patients were divided in two groups: 24 with moderate (MA) and 35 with severe activity (SA), according to the established clinical criteria. Control group (CG) was consisted of 15 patients suffering from meniscus lesion. Mean ± SD sera MbP values (mg/L) were for CG 2.1 ± 1.0 ; 2.6 ± 1.5 in MA and 3.3 ± 1.9 in SA group and 1.1 ± 0.8 ; 1.0 ± 0.9 ; 2.9 ± 1.7 in SF, respectively. MbP serum concentrations were either normal or elevated and SF concentration represented about 40–55% of serum values. Statistical significance was detected in sera and SF MbP values in SA versus. MA groups and only in sera in VA versus. CG ($p < 0.05$). However, undetectable MbP consumption in both fluids from this examination, do not refute the proposed role of MbP-mediated complement activation, but provide no support for that hypothesis.

**BIOHEMIJSKA DIJAGNOSTIKA
HEMATOLOŠKIH BOLESTI
DEČIJEG UZRASTA**

G. Bjelaković, G. Kostić, M. Ilić, T. Jevtović

Institut za biohemiju, Medicinski fakultet
i Dečja interna klinika, Klinički centar, Niš

Hematološke bolesti u dečijem uzrastu su veoma česte. Analiza hematološkog statusa kao i standardnih biohemijskih analiza krvi, koje predstavljaju odraz funkcije hematopoeznog sistema, od vitalnog značaja su u otkrivanju i prepoznavanju oboljenja. Sva hematološka oboljenja javljaju se bilo zbog poremećaja funkcije hematopoeznog sistema na nivou produkcije, stepena vitalnosti krvnih ćelija i preživljavanja u cirkulaciji što ima odraza na hemogram, kao i biohemiske karakteristike krvne plazme i seruma. Osnovni hematološki pokazatelji postojanja krvnih oboljenja (osim poremećaja koagulacije krvi) su: ukupan broj krvnih ćelija (eritrocita, leukocita sa utvrđivanjem leukocitarne formule, ukupan broj trombocita), koncentracija hemoglobina, vrednost hematokrita, brzina sedimentacije eritrocita, osmotska rezistencija eritrocyta. Od standardnih biohemijskih analiza kod ovih bolesti određuje se vrednost ukupnog bilirubina uz posebno sagledavanje vrednosti indirektnog bilirubina, nivo gvožđa u serumu, transferina (TIBC), serumskog bakra, ceruloplazmina. Elektroforeza proteina i hemoglobina takođe se koriste. Enzimološka ispitivanja, osim povremenog merenja ukupne aktivnosti laktat dehidrogenaze, retko se primenjuju. *Osnovna ideja ovog prikaza* je sagledavanje većih biohemijskih mogućnosti u rasvetljavanju prirode hematoloških poremećaja (osim poremećaja hemostaze), prvenstveno kroz širi dijapazon enzimoloških analiza, specifičnih enzima u krvnim ćelijama što ima direktni odraz na aktivnost enzima u serumu; ispitivanje aktivnosti enzima vezanih za razgradnju glukoze glikolizom (LDH sa izoenzimima, aldolaze A, piruvat kinaze, alkalne fosfataze, kisele fosfataze), enzima vezanih za pentozni put razgradnje glukoze i metabolizam glutationa (glukozo-6-fosfat dehidrogenaze, glutation sintetaze, glutation reduktaze, glutation peroksidaze), enzime vezane za metabolizam purina i pirimidina (5-nukleotidaze, AMP-dezaminaze, adenozin dezaminaze, citidin dezaminaze i enzime vezane za metabolizam poliamina i RNK (arginaza, poliamino oksidaza i alka-

**BIOCHEMICAL INVESTIGATION
OF HEMATOLOGICAL DISEASES
IN CHILHOOD**

G. Bjelaković, G. Kostić, M. Ilić, T. Jevtović

Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine,
Pediatric Clinic, Clinical Center, Niš

Hematological diseases in childhood occur very frequently. Analysis of hematological status as well as standard biochemical analysis of blood, which are the result of hematopoietic system function, is of great importance in discovering and recognition of these diseases. All hematological diseases appear as a result of disturbance of hematopoietic system function at the level of the production and viability in blood stream; this disturbance has reflection on the hemogram and on the biochemical analysis of blood plasma and serum. The basic hematological parameters of blood diseases (except disturbance of blood coagulation) are: total blood count cells (erythrocytes, leukocytes with differential leukocytes formulas, thrombocytes) hemoglobin concentration, the amount of hematocrit (PCV, packed cell volume), erythrocytes sedimentation rate, erythrocytes osmotic fragility. Among the standard biochemical analysis in these diseases total bilirubin with the calculation fraction of indirect bilirubin, the amount of serum iron and transferine (TIBC), serum copper and ceruloplazmin are determined. The protein and hemoglobin electrophoresis are in use as well. The measurement of lactate dehydrogenase activity infrequently another enzymological investigations are rare in use. Enzymological researches, measurement of lactate dehydrogenase activity, are rarely in use. The basic idea of this study is evaluation of another biochemical possibility with the aim to understand the nature of hematological disturbance (beside the hemostase disturbances), by the use the great specter of enzyme analysis, especially the enzymes which are present in different blood cell and with the direct reflection on the serum enzymes activities such as: the investigation of enzymes of glycolysis (LDH with isoenzymes, aldolase A, pyruvate kinase, alkaline and acid phosphatase), enzymes of pentose phosphates pathway and glutathione metabolism (glucose-6-phosphate dehydrogenase, glutathione synthetase, glutathione reductase, glutathione peroxidase), enzymes of puri-

Ine ribonukleaze). Merenje sadržaja vitamina C u krvi, dijagnostikovanje hipovitaminoze piridoksina kroz merenja aktivnosti transaminaza, pre i posle *in vitro* suplementacije sa piridoksal-fosfatom, elektroforetsko ispitivanje formimino-glutaminske kiseline u urinu (Figlu) u cilju rasvetljavanja hipovitaminoze folne kiseline, kao i merenje količine metilmalonične acidemije u cilju dijagnostikovanja hipo ili avitaminoze vitamina B₁₂ takođe predstavljaju specifične biohemijiske analize primenljive u okviru biohemijске dijagnostike. Zbog važnosti hemoglobina u regulaciji pH krvi, ispitivanje acidobaznog statusa kod bolesti koje zahvataju eritropoezu moglo bi da bude od koristi u sa sledavanju stepena poremećaja intermedijernog metabolizma. Dosadašnji rad na ispitivanju pomenutih enzima i ostalih biohemijskih parametara u raznim hematološkim oboljenjima, urođenim ili stičenim, ukazuju na mogućnost i potrebu izvođenja pomenutih biohemijskih analiza u savremeno opremljenim laboratorijskim uslovima.

ne and pyrimidine metabolism (5-nucleotidase, AMP-deaminase, adenosine desaminase, cytidine deaminase and enzymes which participate in metabolism of polyamines and RNA (arginase, polyamine oxidase and alkaline ribonuclease). The measurement of vitamin C amount, activity of transaminases before and after supplementation with pyridoxal phosphate in order to prove the hypovitaminosis of pyridoxine, the determination of formiminoglutamic acid (Figlu) by methods of electrophoresis in order to prove hypovitaminose of folic acid and the determination of methylmalonic acidemia with the intention to prove the hypo or avitaminosis of vitamin B₁₂ represent the possibilities in biochemical diagnostics of hematological diseases. As a result of the importance of hemoglobin in the blood pH regulation, the investigation of acid-base status may give some greater possibility in laboratory diagnostic methods. Our work in the past on the determination of the mentioned enzymes activities and other biochemical parameters in different hematological diseases, inherited or acquired, show the need and practical possibility for application of all these methods in modern equipped laboratories.

IZBOR PARAMETARA HEMOSTAZE ZA PRAĆENJE NORMALNE I KOMPLIKOVANE TRUDNOĆE

T. Vodnik, S. Ignjatović, N. Majkić-Singh

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Koncentracije proteina plazme uključenih u proces koagulacije menjaju se tokom normalne trudnoće što remeti ravnotežu koja postoji između prokoagulantnog i antikoagulantnog sistema. Ove promene obuhvataju povećanje aktivnosti faktora koagulacije, povećano stvaranje fibrina i supresiju fibrinolize. Na ovaj način se fiziološkim mehanizmima smanjuje rizik od gubitka krvi u trudnoći, ali se povećava rizik od pojave tromboze. Uslед tromboze placentarnih krvnih sudova može se javiti placentarna insuficijencija koja dovodi do pojave ponavljajućih abortusa, zastoja u rastu fetusa, eklampsije, intrauterine smrti ploda i pre-vremenog porođaja. Poslednjih godina istraživanja pokazuju da su mogući uzroci ovih pojava promene koje se dešavaju unutar protein C koagulantnog sistema. Aktivirani protein C (APC) svoje antitrombotičko delovanje ispoljava proteolitičkom razgradnjom faktora V i VIII. Mutacija na genu za faktor V (tzv. Factor V Leiden mutacija) stvara mutirani faktor V koji ispoljava normalnu prokoagulantnu aktivnost ali je manje osetljiv na APC. Ove promene vode stabilizaciji kompleksa protrombinaze, stvara se više trombina koji aktivira još veće količine proteina C, ali rezistentnog,

CHOICE OF HAEMOSTASIS PARAMETERS FOR MONITORING OF NORMAL AND COMPLICATED PREGNANCY

T. Vodnik, S. Ignjatović, N. Majkić-Singh

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

The concentrations of plasma proteins involved in the process of coagulation are changed during the normal pregnancy, disturbing the balance between procoagulant and anticoagulant system. These changes include the increased activity of coagulation factors, the increased fibrin production and suppression of fibrinolysis. In this way, the risk of loosing blood during pregnancy is reduced by physiological mechanisms, but the hazard of developing thrombosis is increased. Placental insufficiency may occur due to thrombosis of placental blood vessels, leading to repeated miscarriages, retardation of foetal growth, eclampsia, intrauterine foetal death and preterm birth. The causes of these incidents are the changes occurring within protein C coagulation system. Activated Protein C inhibits blood coagulation by factor Va and VIIIa proteolytic degradation. The mutation in gene for factor V (so-called Factor V Leiden mutation), where the arginine 506 is replaced by glutamine, produces the mutated factor V having normal procoagulant activity but it is less responsive to APC. The condition characterized by poor anticoagulant response to APC is called the APC resistance. The aim of

čime se postiže stanje hiperkoagulabilnosti. Stanje koje karakteriše slab antikoagulantni odgovor na APC uzrokovani mutacijom na genu za faktor V naziva se APC rezistencija. Cilj ovog rada je bio da se ispita stanje koagulantnog, antikoagulantnog i fibrinolitičkog sistema kod trudnica sa normalnom i komplikovanom trudnoćom različite gestacijske starosti. Takođe ispitana je i funkcionalnost protein C antikoagulantnog sistema u trudnoći različitih gestacijskih starosti i APC rezistencija. Za procenu stanja hemostaznog sistema određivani su sledeći parametri: protrombinsko vreme, parc. protrombinsko vreme, fibrinogen, fibrin monomer, D-dimer, antitrombin III, TAT kompleks, plasminogen, PAI, faktor XIII, protein C, protein S, protein C Global i aktivirani protein C. Pokazano je da su fibrinogen, fibrin monomer, TAT kompleks i PAI kao parametri hemostaze dobri markeri veličine hiperkoagulabilnog stanja kod trudnica. Vrednosti za PT, aPTT, D-dimer, faktor XIII i antitrombin III u ovom ispitivanju ostale su uglavnom u granicama normalnih vrednosti ili su se neznatno menjale u poodmakloj trudnoći. Vrednosti proteina S kod većine trudnica bile su snižene, dok su za protein C bile u granicama normalnih vrednosti. Globalna aktivnost protein C antikoagulantnog puta i odnos sa prokoagulantnim sistemom pokazana je kvantitativnim merenjem kroz ProC Global test. Određivanje aktiviranog proteina C kroz test APC senzitivnosti koristi se kao pomoć u identifikaciji osoba sa APC rezistencijom odnosno sa povećanim rizikom od tromboze. U ovom radu statistički značajno niže vrednosti PC-NR i APC-NR dobijene su u sva tri vremenska perioda kod trudnica sa ponavljajućim pobačajima i trudnica sa hipertenzijom u odnosu na trudnice sa normalnim tokom trudnoće. Na taj način je u ovom radu pokazano da je antikoagulantna aktivnost aktiviranog proteina C značajno smanjena u trudnoći, naročito u trudnoći praćenoj komplikacijama. Dijagnostička vrednost parametara hemostaze kao markera trombotičkih promena kod trudnica ispitana je ROC analizom. Sveukupnim ispitivanjem je potvrđeno da su PC-NR i APC-NR pokazali zadovoljavajuću dijagnostičku tačnost kao markeri trombotičkih promena u trudnoći. U ovom radu je pokazano da su PC-NR i APC-NR dobri markeri trombotičkih promena u placentarnim krvnim sudovima tačnije dobri pokazatelji razvoja rezistencije na aktivirani protein C u trudnoći. Određivanje ovih parametara kao i određivanje fibrinogena, fibrin monomera, TAT kompleksa i PAI vrlo je korisno za otkrivanje i praćenje trudnica sa trombozom. Zbog velike uloge koju ovi parametri imaju u periodu trudnoće, postoje brojne preporuke za njihovo uvođenje u rutinsko određivanje. Na taj način bi se pravovremeno utvrdilo odsustvo ili prisustvo jednog iz niza faktora rizika koji prati stanje trudnoće.

This study was to test the condition of coagulant, anti-coagulant and fibrinolytic system in normal and complicated pregnancy as well as the function of protein C anticoagulant system in pregnancy of various gestation periods and APC resistance. The following parameters were measured for the evaluation of haemostasis system: prothrombin time, partial prothrombin time, fibrinogen, fibrin monomer, D-dimer, antithrombin III, TAT complex, plasminogen, PAI, factor XIII, protein C, protein S, protein C Global and activated protein C. The testing was performed in pregnant women with normal and complicated pregnancy of various gestation periods. A special group consisted of pregnant women having two or more consecutive miscarriages. It was shown that fibrinogen, fibrin monomer, TAT complex and PAI, as parameters of haemostasis, were good markers for the extent of hypercoagulable condition in pregnant women. PT, aPTT, D-dimer, protein C and antithrombin III values stayed within normal range. Values of protein S were decreased in pregnancy. Pro C Global test is a coagulation test for the determination of the anticoagulatory capacity of the protein C system in human plasma. The determination of the APC sensitivity is thus used to identify persons with an elevated thromboembolic risk. In this study, significantly lower values of PC-NR and APC-NR were obtained in all three time periods in pregnant women with hypertension and repeated miscarriages in comparison to healthy controls, what verified that anticoagulant activity of activated protein C was significantly reduced during pregnancy, and especially in pregnancy associated with complications. The diagnostic value of haemostasis parameters as markers of thrombotic changes in pregnant women was tested by ROC analysis. According to the obtained results, PC-NR and APC-NR showed satisfactory diagnostic accuracy as markers of thrombotic changes in pregnant women, more precisely, they were found to be good indicators of resistance to activated protein C in pregnancy. Therefore it is very useful to introduce these parameters in daily work. Thereby it would be affirm absence or presence pregnancy risk factors in time.

LEPTIN: FIZIOLOŠKA ULOGA I DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ

B. Brkić, G. Lazović, V. Milošević

KBC »Dr Dragiša Mišović«, Ginekološka klinika,
Klinički centar Srbije, Institut za biološka istraživanja
»Siniša Stanković«, Beograd

Leptin je proteinski hormon od 167 aminokiselina, molekulske mase 16 kDa, koga pretežno stvaraju adipociti. Tercijarna struktura leptina slična je citokinima i laktogenim hormonima. Leptin cirkuliše u krvi u koncentraciji koja je proporcionalna količini masnog tkiva, odnosno indeksu telesne mase. Leptin cirkuliše u biološkim tečnostima kao slobodan protein, i u obliku vezujuće solubilne izoforme za njegov receptor. Leptin se sekretuje pulsativno i ima cirkadijalni ritam, sa noćnim pikom između 01.00h i 02.00h. Poznato je da leptin i odgovarajući receptor, predstavljaju integralne komponente fiziološkog signalnog sistema regulisanja energetskih depoa i energetskog balansa. Leptin se stvara u adipoznom tkivu, placenti, stomaku i poprečno prugastim misićima. Leptin je moćan regulator unosa hrane sposoban je da značajno smanji ekspresiju najmoćnijeg peptida gladi Y (NPY) za koga je dokazano da je fiziološki transdijuser apetita u mozgu. Dejstvo na suprimiranje unosa hrane ostvaruje preko mRNK u hipotalamusu, koji kontroliše apetit i termogenezu. Koncentracija leptina u serumu kod zdravih osoba u pozitivnoj je korelaciji sa sadržajem masnog tkiva i telesnim masenim indeksom (BMI). Ona je viša kod debelih nego kod mršavih osoba. Koncentracija leptina u serumu zdravih žena je 12.1 ± 7.6 ng/mL, prema BMI 21.9 ± 0.2 kg/m² i procentu masnog tkiva $41.3 \pm 1.6\%$, a u zdravih muškaraca nivo leptina iznosi 3.6 ± 1.6 ng/mL, BMI 23.0 ± 0.8 kg/m², procenat masnog tkiva $27.5 \pm 1.2\%$. Uočava se da žene imaju više nivoa leptina, kao i procenat masnog tkiva u odnosu na BMI, nego muškarci. Ova razlika proističe iz različite distribucije subkutanog adipoznog tkiva kod žene i muškarca što uslovljava različit stepen sinteze leptina. Osnovna uloga leptina je da informiše CNS o višku ili manjku energetskih depoa i aktivno učestvuje u energetskoj i neuroendokrinološkoj adaptaciji na te promene. Po red uloge u regulisanju telesne težine leptin učestvuje i u regulisanju reproduktivnog sistema. Tako leptin

PLEPTIN: THE ROLE IN HUMAN PHYSIOLOGY AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

B. Brkić, G. Lazović, V. Milošević

KBC »Dr Dragiša Mišović«, Clinical Centre of Serbia,
Institute of Biological Research »Siniša Stanković«,
Belgrade

Leptin is a 16 kDa protein hormone produced predominantly by adipocytes. Leptin, Tertiary structure of leptin, resembles that of cytokines and lactogenic hormones. Leptin circulates in the blood at concentrations paralleling the amount of fat reserves. In biological fluids leptin circulates both as a free protein and in a form that is bound to the soluble isoform of its receptor. Leptin secretion is pulsatile and shows a circadian rhythm, with a nocturnal rise reaching its peak between 01.00h and 02.00h. Leptin and its receptor, are now known to be integral components of a physiological signalling system that regulate fuel stores and energy balance. Constitutive leptin expression has been demonstrated only in adipose tissue, placenta, stomach and skeletal muscle. Leptin has been reported to be a potent regulator of food intake. There is evidence indicating that at least some of the effects of leptin occur through receptor-mediated regulation of the hypothalamic protein neuropeptide Y (NPY). Leptin mRNA expression in the hypothalamus is suppressed by fasting, suggesting a role of brain leptin in the central regulation appetite. Serum leptin concentrations in healthy individuals positively correlate with the body fat content and body mass index. They are higher in obese than in lean subjects. Serum concentration of leptin in healthy non-obese women is 12.1 ± 7.6 ng/mL, in accordance with BMI 21.9 ± 0.2 kg/m² and fat tissue percent $41.3 \pm 1.6\%$, while in healthy man leptin level is 3.6 ± 1.6 ng/mL, BMI 23.0 ± 0.8 and fat tissue percent $27.5 \pm 1.2\%$. It is noticeable that the women have higher leptin level as well as fat tissue percent in accordance BMI than the man. The distinction is result of different subcutane adipose tissue distribution in women and men causing different leptin synthesis level. Beside its role in body weight regulation, leptin also stimulates the reproductive axis and takes an active role in enters puberty. In adult patients, homozygous missense mutations of the gene encod-

aktivno učestvuje i u započinjanju puberteta. U odrašlih osoba, homozigota nastanak mutacija na genu koji kodira leptinski receptor dovodi do izraženog ranog nastanka gojaznosti, smetnje u razvoju puberteta, primarne amenoreje kod žena i kliničkih karakteristika hipogonadizma u muškarca. Neki radovi ukazuju da leptin učestvuje kao metabolički kofaktor u patogenezi hiperandrogenizma u bolesnika sa policističnim jajnicima. Veza leptina i trudnoće je naročito značajna. Leptin ima tendenciju porasta u trećem trimestru trudnoće, što korelira sa ukupnim porastom masnog tkiva kod trudnice. Takođe utiče na veličinu CNS, na hematopoetske ćelije, kao i na funkciju bubrega.

ing the leptin receptor determine severe early-onset obesity, failure to enter puberty, primary amenorrhoea in female and clinical features of hypogonadism in males. Some articles suggest that leptin takes part in hyperandrogenism pathogenesis as a metabolic co-factor in female patients with polycystic ovaries. A relation between leptin and pregnancy is of great significance. Leptin has increasing tendency in the third month of pregnancy that correlates with total increase of the fat tissue in pregnant women. Leptin also exerts influence on CNS value, on hematopoietic cells and on the kidney function.

ENZIMI METABOLIZMA PURINA U SERUMU BOLESNIKA SA HIPERLIPIDEIJAMA

S. Kundalić, G. Kocić, V. Čosić,
T. Jevtović-Stoimenov, V. B. Đorđević

*Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar Niš;
Biohemski institut, Medicinski fakultet, Niš*

Metabolizam purina značajan je za normalno funkcionisanje endotelnih ćelija, a enzimi katabolizma purina zauzimaju posebno mesto u oštećenom endotelu aterosklerotičnih sudova hiperlipidemija. Katalitička aktivnost 5'-nukleotidaze (5'-NT), adenozin deaminaze (ADA), ksantin dehidrogenaze (XD) i ksantin oksidaze (XO) ispitivana je kod tri grupe bolesnika sa hiperlipidemijama: grupa bolesnika sa hiperlipoproteinemijom, grupa bolesnika sa dijabetom i grupa sa hipertenzijom. Prema vrednostima lipidnih parametara: holesterol (HOL), triacylglyceroli (TG), HDL-holesterol (HDL-c) i LDL-holesterol (LDL-c), bolesniči su svrstavani u tipove hiperlipoproteinemija po Fredrikson, a podgrupe tipova formirane su na osnovu vrednosti hiperholesterolemije i hipertrigliceridemije. Najčešće zastupljeni tipovi hiperlipoproteinemija u sve tri grupe bili su IIa, IIb i tip IV. Enzimi metabolizma purina bili su statistički značajno izmenjeni u serumu bolesnika sve tri grupe. Aktivnost 5'-NT statistički je značajno rasla u serumu bolesnika sa hipertenzijom ($p < 0,001$), kao i u podgrupi 2b tipa IIb HLP-a i tipu IV HLP-a ($p < 0,001$ i $p < 0,01$). Registrovana je statistički značajna pozitivna korelacija između aktivnosti 5'-NT i aterogenih lipidnih parametara ($p < 0,001$), a negativna korelacija sa HDL-c ($p < 0,05$). Zabeležen je statistički značajan porast aktivnosti ADA u grupi bolesnika sa dijabetom, kao i tipovima IIa, IIb i IV HLP-a ($p < 0,001$). Postoji statistički značajna pozitivna korelacija između aktivnosti ADA i glukoze ($p < 0,001$), kao i između ADA i aterogenih lipidnih parametara. Značajna negativna korelacija je zabeležena između aktivnosti ADA i protektivnog HDL-c ($p < 0,001$). Aktivnost XO je pokazivala zna-

PURINE METABOLISM ENZYMES IN HYPERLIPIDEMIC PATIENTS

S. Kundalić, G. Kocić, V. Čosić,
T. Jevtović-Stoimenov, V. B. Đorđević

*Centre of Medical Biochemistry, Clinical Centre, Niš
Institute of Biochemistry,
University School of Medicine, Niš*

Since purine metabolism is important for endothelial cells normal function, purine catabolism enzymes have a special place in damaged endothelium of atherosclerotic blood vessels in hyperlipidemias. The activities of 5-nucleotidase (5'-NT), adenosine deaminase (ADA), xanthine dehydrogenase (XD) and xanthine oxidase (XO) were investigated in three groups of hyperlipidemic patients: patients with hyperlipoproteinemia, diabetic patients and hypertension group. According to the values of lipid parameters: cholesterol (CHOL), triacylglycerols (TG), HDL-cholesterol (HDL-c) and LDL-cholesterol (LDL-c), the patients were allocated into hyperlipoproteinemic types by Fredrikson, while type subgroups were formed based on the values of hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia. The most frequent types of hyperlipoproteinemas in all three groups were IIa, IIb and type IV. The enzymes of purine metabolism showed statistically significant changes in serum of all three groups patients. 5'-NT activity was significantly increased in serum of patients with hypertension ($p < 0,001$), as well as in subgroup 2b (HLP type IIb) and HLP type IV ($p < 0,001$; $p < 0,01$, respectively). We found statistically significant positive correlation between 5'-NT activity and atherogenic lipid parameters ($p < 0,001$) and negative correlation with HDL-c ($p < 0,05$). Statistically significant increase of ADA activity was noted in diabetic patients, as well as in HLP types IIa, IIb and IV ($p < 0,001$). There is statistically significant positive correlation between ADA activity and glucose value ($p < 0,001$), as well as ADA and atherogenic lipid parameters. Significant negative correlation was found between ADA activity and

čajan porast u serumu sve tri grupe pacijenata ($p < 0,001$) u odnosu na kontrolnu grupu, kao i u svim tipovima HLP-a, a zabeležena je i značajna pozitivna korelacija između XO i aterogenih lipida, a značajna negativna korelacija između XO i HDL-c. Statistički značajno sniženje aktivnosti XD registrovano je u hiperlipidemijama sve tri grupe bolesnika ($p < 0,001$), kao i u svim tipovima HLP-a. Zapažena je značajna negativna korelacija između aktivnosti XD i aterogenih lipida, a značajna pozitivna korelacija sa protektivnim HDL-om. Krajnji produkt metabolizma purina i »scavanger« slobodnih kiseoničnih radikala, mokraćna kiselina, bila je statistički značajno povećana u hiperlipidemijama. Dobijeni rezultati sugerisu mogućnost određivanja enzima metabolizma purina kao markera oštećenja endotela i eventualne terapijske korekcije u praktičnom radu.

protective HDL-c ($p < 0,001$). XO activity showed significant increase in serum of all three groups patients ($p < 0,001$) compared to control group and all HLP types. There is also a significant positive correlation between XO and atherogenic lipids and significant negative correlation between XO and HDL-c. Statistically significant decrease of XD activity was registered in hyperlipidemias in all three examined groups ($p < 0,001$), as well as in all HLP types. Significant negative correlation between XD activity and atherogenic lipids and significant positive correlation with protective HDL were also found. The end product of purine metabolism and scavenger of free radicals, acidum uricum, was significantly increased in hyperlipidemias. The obtained results suggest a possibility of purine metabolism enzymes estimation, using them as markers of endothelial damage, but also a potential of therapeutic correction in practice.

PATOFIJOLOGIJA I KLINIČKI ZNAČAJ ATEROGENOG LIPOPROTEINSKOG FENOTIPA I MALIH GUSTIH LDL ČESTICA

M. Đerić

Zavod za laboratorijsku medicinu,
Klinički centar, Novi Sad

Brojne epidemiološke studije potvrdile su povezanost između serumskih triglicerida i prevremene ateroskleroze, ali metabolička osnova ove udruženosti nije dobila zadovoljavajuće objašnjenje. Uspostavljena je »vladavina« holesterolske hipoteze, da bi, nedavno, bio definisan holesterolski paradox: serumskna koncentracija holesterola nije dobar diskriminacioni parametar za procenu rizika koronarne srčane bolesti. Postalo je očigledno da aterogenost LDL lipoproteina kod većine osoba proizilazi iz njihove male veličine, veće gustine i povećanog broja čestica, a ne iz njihovog doprinosa serumskom holesterolu. Subfrakcije malih gustih LDL (LDL-III) imaju niži afinitet za LDL receptore, duže se zadržavaju u cirkulaciji, imaju viši afinitet za oksidaciju i vezivanje za proteoglikane arterijskog zida. Predominacija LDL-III (fenotip B) potiče od defekta u metabolizmu triglyceridima bogatih lipoproteina i posledica je pojave recipročnog prenosa lipida tokom delipidacione kaskade, uz učešće holesterol estar transfer proteina, lipoproteinske i hepaticne lipaze, i, uz centralnu ulogu HDL čestica. Karakteristično premošćavanje između klase lipoproteina predodređenih da na periferiju dopremaju triglyceride i čestica koje prenose holesterol, dovodi do uspostavljanja tzv. aterogenog lipoprotein-skog fenotipa (hipertriglyceridemija, povećanje LDL-III, apolipoproteina B i VLDL-triglycerida, a sniženje HDL-holesterola i apolipoproteina A).

PATOPHYSIOLOGY AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF ATHEROGENIC LIPOPROTEIN PHENOTYPE AND SMALL DENSE LDL PARTICLES

M. Đerić

Department of Laboratory Medicine,
Clinical Center, Novi Sad

Many epidemiological studies have confirmed the association of the serum triglyceride level and premature atherosclerosis, but the metabolic basis of this association has not been so far fully explained. The cholesterol hypothesis has prevailed, and recently the cholesterol paradox has been defined: the serum cholesterol level is not a reliable discriminatory parameter for the risk evaluation of coronary heart disease. It is obvious that LDL lipoprotein atherogenicity in most patients occurs due to their small size, higher density and enlarged number of particles, but not due to their contribution to total cholesterol. The subfractions of small dense LDL (LDL-III) have lower affinity for the LDL receptors, persist longer in the circulation, have higher affinity for oxidation and arterial wall proteoglycans binding. The predominance of LDL-III (phenotype B) results from the defect in the metabolism of triglyceride rich lipoproteins and is a consequence of the reciprocal lipid transfer throughout the delipidation cascade, with the action of cholesterol ester transfer proteins, lipoprotein and hepatic lipase, and with the dominant role of HDL particles. The characteristic connection between the lipoprotein classes predisposed to carry triglycerides to the periphery and the particles which transfer cholesterol, induces the establishment of the so-called atherogenic lipoprotein phenotype (hypertriglyceridemia, increase in LDL-III level, apolipoproteins B and VLDL-triglyceride, and decrease in HDL-cholesterol and apolipoprotein A).

**UTICAJ AZOT MONOKSIDA
I PEROKSINITRITA NA METABOLIZAM
NUKLEOTIDA: PRO ILI ANTIAPOPTOTIČNI
EFEKTI?**

G. Kocić, T. Jevtović, D. Pavlović,
R. Kocić, V. Đorđević, G. Bjelaković

Institut za biohemiju i Klinika za endokrinologiju,
Medicinski fakultet, Niš

Apoptoza je forma ćelijske smrti čiji je fiziološki značaj održavanje homeostaze tkiva u uslovima delovanja različitih toksičnih, inflamatornih stimulusa, kao i hemoterapeutika u terapiji kancera. S obzirom na to da apoptotične ćelije podležu fagocitozi unutar tkiva, razgradnja DNK na niskomolekularne fragmente ima zaštitnu ulogu u sprečavanju eventualnog ulaska većih fragmenata u obližnje ćelije i poremećaja njihovog genoma. Do sada je skrenuta pažnja na više tipova različitih endonukleaza koje bi bile značajne u internukleozomalnoj degradaciji genomske DNK u toku apoptoze, premda je najveći značaj pridavan Mg^{2+} -zavisnoj alkalnoj DNazi. Drugi rezultati ukazuju na značaj i kisele DNaze II, koja je aktivna usled acidifikacije i lisozomalne aktivacije. Više tipova kaspaza je uključeno u apoptizu ali je nedavno pokazano da kodirajući deo i DNaze I i DNaze II sadrži mesto koje je prepoznatljivo za razgradnju od strane kaspaza, što ne isključuje učešće i drugih takozvanih »fragmentacionih faktora« koji bi ubrzali digestiju DNK. Azot monoksid (NO) je višestruko aktivan molekul koji ima dihotomnu regulatornu ulogu. Kompleksnost njegovih bioloških efekata proističe iz inreakcije s različitim biomolekulima, kao što su reaktivni kiseonikovi radikali, metalni joni i proteini. Čini se da redoks sistem ćelije ima odlučujući značaj u formiranju peroksinitrita i mogućeg delovanja NO u pravcu multiplicacije ćelije i njenog preživljavanja. Pored ovih direktnih i indirektnih inreakcija, efekat NO i peroksinitrita može biti moduliran i dozno-zavisan, a izgleda da značajno utiče i tip ćelija. Visoke koncentracije sigurno dovode do apoptoze ili nekroze. Dugotrajno izlaganje, u toku hronične inflamacije može biti predisponirajući faktor u pravcu tumorogeneze kao posledice oštećenja DNK, poremećaja programa ćelijske smrti i signalne aktivacije proliferacije. Cilj ove studije bio je praćenje uloge enzima koji učestvuju u razgradnji nukleotida u recipročnoj kontroli apoptoze i

**THE INFLUENCE OF NITRIC OXIDE
AND PEROXYNITRITE ON NUCLEOTIDE
METABOLISM: PRO OR ANTIAPOPTOTIC
EFFECTS?**

G. Kocić, T. Jevtović, D. Pavlović,
R. Kocić, V. Đorđević, G. Bjelaković

Institute of Biochemistry and Clinic for Endocrinology,
Faculty of Medicine, Niš

Apoptosis is a form of cell death utilized physiologically to maintain tissue homeostasis, as well as in response to various toxic, inflammatory stimuli and cancer chemotherapeutic agents. Because apoptotic cells usually undergo phagocytosis by their neighbours within tissues, the cleavage of DNA to low-molecular weight material may serve as a protective function limiting the probability of transfer of genes in a potentially active site from dying cells to the nuclei of their viable neighbors. Many different endonucleases have been proposed as candidates responsible for the internucleosomal cleavage of the genomic DNA observed during apoptosis, but it was mainly attributed to Mg^{2+} -dependent alkaline DNase I. Other reports have also implicated the importance of acid DNase II as a result of intracellular acidification and lysosomal enzyme activation. Several caspases are included in apoptosis and it was recently demonstrated that coding sequence of both DNase I and DNase II contains a potential caspase-cleavage site, but the presence of other »fragmentation factors« capable of triggering DNA digestion is also observed. Nitric oxide (NO) represents a multi faceted molecule with a dichotomous regulatory role. The complexity of its biological effects is a consequence of its numerous potential interactions with other molecules, such as reactive oxygen species, metal ions and proteins. The redox state of the cells appears to be a crucial parameter for the formation of peroxynitrite and action of NO on cell multiplication and survival. Beside direct or indirect interactions, the effect of NO and peroxynitrite can be also modulated in a dose-dependent manner and seems to be cell-specific. Higher concentration can induce apoptosis or necrosis. But long-term exposure in certain conditions like chronic inflammatory states may predispose cells to tumorigenesis through DNA damage, alteration of programmed cell death or activation of pro-

proliferacije u normalnoj i regenerišućoj jetri pacova u toku simultanog davanja NO ili peroksinitrita. *In vivo* i *in vitro* efekat evaluiran je merenjem aktivnosti DNaze I, DNaze II, alkalne RNaze, 5'-nukleotidaze, adenozin dezaminaze i ksantin oksidaze. Dobijeni rezultati ukazuju na doznu zavisnost efekata, pri čemu je velika raznolikost rezultata dobijena u *in vitro* studijama, premda svi ispitivani enzimi imaju tendenciju snižavanja aktivnosti. Suprotno tome, *in vivo* rezultati pokazuju značajan porast aktivnosti, dok su veće doze ispoljavale letalni efekat.

proliferative signaling pathway. The aim of this study was to evaluate the possible role of nucleotide-metabolizing enzymes in reciprocal control of apoptosis and proliferation in normal and regenerating rat liver during simultaneous exposure to either NO or peroxynitrite. *In vivo* and *in vitro* effect was evaluated by measuring the activity of DNase I, DNase II, alkaline RNase, 5-nucleotidase, adenosine deaminase and xanthine oxidase. Observed effect point out the importance of proposed doses in evaluating the effects, where a broad difference in enzyme activity was observed during *in vitro* experimental study, but all investigated enzymes tended to show significant decrease of the activity. *In vivo* results, contrary showed significant increase, while higher doses of peroxynitrite were lethal.

HORMONSKI ZAVISNI TUMORI

M. Medić-Stojanoska

Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Institut za interne bolesti, Klinički centar, Novi Sad

Steroidni i polipeptidni hormoni stimulišu rast većeg broja različitih tkiva delujući direktno ili indirektno, preko faktora rasta. Ovi hormoni utiču na ekspresiju i aktivnost nekih gena koji kontrolisu programiranu ćelijsku smrt ili apoptozu. U karcinogenezi, ako su celularni mehanizmi postojećeg autonomnog tkivnog rasta posledica uticaja hormona, nastaju hormonski zavisni tumori. Poznato je da su hormonski zavisni tumori: karcinomi dojke, endometrijuma i prostate, kao i dobro diferentovani karcinomi štitaste žlezde (papilarni, folikularni i mešoviti, papilarno-folikularni). Estrogen i progesteron imaju ulogu u razvoju karcinoma dojke i endometrijuma, androgeni u karcinomu prostate, a TSH u karcinomu štitaste žlezde. Dva su glavna, ali ne i isključiva, mehanizma za objašnjenje estrogenom-indukovane neoplazme. Prvi uključuje receptorom posredovane aktivnosti, a drugi se odnosi na direktna genotoksična dejstva. Uloga progesterona u nastanku karcinoma dojke i dalje je kontroverzna, nasuprot njegovoј protektivnoј ulozi u nastanku karcinoma dojke. Androgeni, slično estrogenima, stimulišu razvoj karcinoma prostate. Međutim, i estrogeni i androgeni mogu delovati indirektno preko faktora rasta na autokrini ili parakrini način. U nastanku ovih karcinoma značajnu ulogu ima i interakcija epitelnih struktura s okolnom stromom. Karcinom nastaje kao rezultat akumulacije mutacija gena koji regulišu ćelijsku proliferaciju. Geni značajni za razvoj karcinoma regulišu različite faze ćelijskog ciklusa, rezistenciju na apoptozu i odgovor na signale koji diktiraju ćelijsku diferencijaciju. U naslednom

HORMONE RESPONSIVE TUMORS

M. Medić-Stojanoska

Clinic of Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases, Institute of Internal Medicine, Clinical Centre, Novi Sad, Yugoslavia

Steroid and polypeptide hormones stimulate the growth of a large variety tissues acting either directly or indirectly, through growth factors. These hormones have impact on the expression and activity of several genes controlling programmed cell death or apoptosis. In carcinogenesis, if the cellular mechanisms underlying autonomous tissue growth are linked to the promoting effects of hormones, the result may be hormone-responsive tumors. It is known that breast, endometrial and prostate cancer, well-differentiated thyroid cancers (i.e. papillary, follicular and mixed papillary-follicular tumors) are hormone-responsive neoplasms. Estrogen and progesterone have the role in development of breast and endometrial carcinoma, androgens in prostatic cancer and TSH in thyroid cancers. There are two general but not exclusive possible mechanisms for estrogen-induced neoplasia. The first one involves receptor-mediated promoting effects and the second a direct genotoxic action. The role of progesterone in development of breast cancer still remains controversial, opposite to his protective role in development of endometrial carcinoma. Androgenes similar to estrogens stimulate development of prostatic cancer. But estrogens and androgens may act indirectly through growth factors in autocrine or paracrine fashion. The interaction between surrounding extracellular matrix and epithelial structure may have important role in the development of these tumors. Cancer results from the accumulation of mutation in genes that regulate cellular proliferation. Genes important for the

obliku karcinoma dojke odgovorne su mutacije na tumorskim supresorskim genima BRCA1 i BRCA2. Mutacije na BRCA1 genu nalaze se i kod porodičnog oblika karcinoma prostate. Mutacije TSH receptora, kao i mutacije na sva tri Ras gena dokazane su kod dobro diferentovanog karcinoma štitaste žlezde. Inaktivacija tumorskog supresorskog gena p53 odgovorna je za nastanak brojnih humanih karcinoma, pa i hormonski zavisnih. U sporadičnom obliku karcinoma, pored navedenih mutacija, mogu biti prisutne i mnoge druge mutacije. Brojni su faktori rizika za razvoj hormonski zavisnih tumora uključujući životnu dob, način života, dijetske navike i drugi. U radu će biti prikazana klinička slika, dijagnostika i savremeni terapijski stavovi hormonski zavisnih tumora.

development of cancer regulate diverse phase of the cell cycle, resistance to apoptosis and the response to signals that direct cellular differentiation. Mutations in one germ-line allele of tumor-suppressor genes BRCA1 and BRCA2 are responsible for cases of familial breast cancer. Mutations on BRCA1 gen are present in familial prostatic cancer also. TSH receptor mutations, as mutation of all of three Ras genes have been shown in well-differentiated thyroid carcinoma. Inactivation of tumor-suppressor gen p53 is responsible for development of many kinds of human cancers and hormone-responsive tumors too. Besides these mutations, in the case of sporadic tumor, many others mutations may be present. Numerous of risk factors are responsible for development of hormone-responsive tumors including age, lifestyle, diet and others. Clinical features, diagnosis and current therapeutic approach of hormone-responsive tumors have been shown in this lecture.

MOLEKULARNE I BIOHEMIJSKE KARAKTERISTIKE APOPTOZE U TOKU KARCINOGENEZE

V. V. Baltić

Institut za onkologiju, Sremska Kamenica

Apoptoza je evolutivno konzerviran i genetski određen visoko regulisan, složen aktivni i energetski zavistan mehanizam ćelijske samodestrukcije koji služi za održavanje homeostaze u višećelijskim organizmima. Mnogobrojni fiziološki i patološki signali (faktori rasta, hipoksija, toplosta, radiacija, hemoterapija, gubitak atezije i dr.), imaju sposobnost da pokrenu apoptotički program i da moduliraju signale u različitim i kontinuiranim putevima. Neki signali smrti u ćeliji deluju preko mehanizama (Fos, TNFR), drugi promovišu smrt (BAX) a treći blokiraju promociju ćelijske smrti (BCL-2). Posle stimulacije za ćelijsku smrt, signal se prenose i amplificuje, preko proteolitičkog cepanja caspaza kroz: mitohondrijalni/citohrom C-put (BCL-2→Afp-1→caspaza-9→caspaza 3), nemitohondrijalni put preko vezivanja za TNFR (Fas, TRAIL receptor) →caspaza 8→caspaza 3 kao i preko direktnog cepanja, i aktivacije caspaza preko citolitičkih T-ćelijskih produkata. Familija BCL-2 proteina posle signala smrti u apoptotičkoj kaskadi može da doprinese inhibiranju apoptoze. U apoptozi proapoptotički molekuli BID, BAD i BAX se modifikuju i translociraju. Na primer, BAD molekuli reaguju na metabolički stres, BID mogu da aktiviraju caspazu 8. Apoptotički put biohemijski komunicira sa ćelijskom proliferacijom. Onkoproteini c-myc, i adenovirus E1A indukuju proliferaciju i apoptozu preko Rb proteina, transkripcionog korepresora p300 i dr. Takođe, i gu-

MOLECULAR AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF APOPTOSIS DURING CARCINOGENESIS

V. V. Baltić

Institute of Oncology, Sremska Kamenica

Apoptosis is evolutionary conserved, genetically defined, highly regulated, complex, active and energy dependent mechanism of cell self-destruction that serves to maintain homeostasis in multicellular organisms. Numerous physiological and pathologic signals (growth factors, hypoxia, heat, radiation, chemotherapy, loss of adhesion and others) are capable to trigger the program of apoptosis and to modulate the signals in different and continuous pathways. Some cell death signals act through mechanisms (Fas, TNFR), other promote cell death (BAX), while there are those, such as BCL-2, that block cell death promotion. After stimulation, death-inducing signals are transmitted and amplified by means of proteolytic cleavage of caspase through mitochondrial/cytochrome c-pathway (BCL-2→Afp-1→caspase-9→caspase 3), nonmitochondrial pathway by binding to TNFR (Fas, TRAIL receptors) caspase 8→caspase 3, and also through direct cleavage and caspase activation via cytolytic T cell products. The family of BCL-2 proteins, after death-inducing signal in apoptotic cascade can contribute to the inhibition of apoptosis. Pro-apoptotic molecules BID, BAD and BAX are modified and translocated. For example, BAD molecules respond to metabolic stress, while BID molecules may activate caspase 8. Apoptotic pathway communicates biochemically with cell proliferation. Oncoproteins c-myc and adenovirus E1A induce prolifera-

bitak funkcije p53 supresornog gena tumora, zbog DNK oštećenja, hipoksijom kao i aktivacija onkogena, dovodi do zaustavljanja ćelijskog ciklusa ili apoptoze. Mutacije protoonkogena i gena supresora tumora odgovorne su za narušavanje homeostaze između proliferacije i apoptoze. Mutacije p53 gena uslovljavaju pozitivnu regulaciju apoptoze što prouzrokuje kontinuiranu prekomernu proliferaciju. Takođe i ekspresija supresornih gena tumora, uslovljava preko različitih mehanizama signalnih sistema proces apoptoze. U različitim fazama karcinogeneze preko različitih mehanizama ostvaruje se program apoptotičke smrти. Multicentrična klinička ispitivanja sa antisens oligonukleotid BCL-2 (G3139) i u kombinaciji sa konvencionalnom hemioterapijom u Non-Hodgkin B-ćelijskim limfomima ili u kombinaciji sa paclitaxelom u karcinomu prostate, pokazuju da postoji mogućnost za lečenje ovih tumora.

tion and apoptosis via Rb proteins, transcriptive corepressor, etc. The loss of the function of p53 tumor suppressor gene due to DNA damage by hypoxia or oncogene activation, lead to the cessation of cell cycle or to apoptosis. Mutations of protooncogene and tumor suppressor gene are responsible for the disruption of homeostasis between proliferation and apoptosis. Mutations of p53 gene induce the positive regulation of apoptosis thus causing continuous and excessive proliferation. Apoptosis may also be induced by the expression of tumor suppressor gene via different mechanisms of signal network. In different phases of carcinogenesis and by means of different mechanisms the program of apoptotic death is performed. Multicenter clinical trials using antisense oligonucleotide BCL-2 (G3139) or in the combination with conventional chemotherapy in case of non-Hodgkin's lymphomas, or in combination with paclitaxel in case of prostatic carcinoma show that there is a possible way for the treatment of these tumors.

EVIDENCE® – PRVI U SVETU TEHNOLOŠKI SISTEM PROTEINSKOG BIOČIPA

*L. M. Lorens, R. I. Mekonel,
J. V. Lamont, S. P. Ficdžerald*

*Kompanija Randox Laboratories,
Crumlin, Antrim, Severna Irska*

Jedan od osnovnih problema sa sadašnjim dijagnostičkim testovima je nemogućnost da se izmeri opseg analita u jednom jedinom testu i nepreciznost dijagnoze, u smislu ograničenih informacija. Da bi se prevazišao ovaj problem, kompanija Randox Laboratories Ltd. prva je ušla u razvoj tehnološkog dijagnostičkog sistema proteinskog biočipa. On je zasnovan na nizu testova koji će iz jednog uzorka istovremeno meriti nekoliko najvažnijih biohemičkih markera. Paneli testova su na jednom mestu, tako da mere ključne markere za određeno stanje bolesti. Trenutno su dostupni paneli koji uključuju lekove koji se zloupotrebljavaju, parametre za bolesti srca, hormone fertiliteta, tiroidne hormone, alergense i antibiotike, a u razvoju su i ostali paneli. Da bi omogućio automatsko testiranje, Randox je nedavno prvi u svetu izbacio na tržiste analizator biočipa Evidence®. Ovaj sistem može da analizira 80 uzoraka na sat, s 20 testova u određenom nizu, što daje broj od 3 600 testova na sat. Zbog toga Evidence® imunoanalizator ima najuspešniji učinak od svih imunoanalizatora tog tipa u svetu. Druge prednosti su još multianalit format koji omogućava istovremeno praćenje više parametara. Odnosi između pojedinačnih markera koji se mere omogućuju proteinskom biočipu da pokazuje visoku prediktivnu vrednost s obzirom na stanje bolesti. Količina uzorka po testu takođe je smanjena kada se upoređi sa pojedinačnim testovima. Na primer 10 µL uzorka na biočipu koji sadrži 10 testova ekvivalentno je 1 µL uzorka po testu. Ovo je posebno važno kod uzoraka čija je količina ograničena, tj. vrlo mala. Današnji dijagnostički testovi zahtevaju 5-100 µL uzorka za svaki test. Tehnologija proteinskog biočipa biće važna osnova za buduća dijagnostička testiranja. Ne samo da se danas koristi za uobičajene dijagnostičke testove, već se lako može prilagoditi novim testovima pošto su identifikovani novi markeri. U tom smislu, novi testovi se stalno dodaju postojećim dijagnostičkim panelima, a veliki broj novih dijagnostičkih panela se trenutno razvija. Detaljnija analiza tehnologije proteinskog biočipa i Evidence® sledi na workshop-u.

EVIDENCE® THE WORLD'S FIRST PROTEIN BIOCHIP ARRAY TECHNOLOGY SYSTEM

*L. M. Lawrence, R. I. McConnell,
J. V. Lamont, S. P. FitzGerald*

*Randox Laboratories Ltd., 55 Diamond Road,
Crumlin, Co Antrim BT20 4QY, Northern Ireland*

One of the main problems with current diagnostic tests is the inability to measure a range of analyses in a single test and the inaccuracy of diagnosis that is inherent with such limited information. To overcome this problem Randox Laboratories Ltd. has pioneered the development of the world's first protein biochip array diagnostic system. This is based on an array of tests that will measure a number of key biochemical markers simultaneously from a single patient sample. Panels of tests (arrays) are compiled so that they measure the key markers for a particular disease state, panels that are currently available include drugs of abuse, cardiac disease, fertility hormones, thyroid hormones, allergens and antibiotic drug residues with a number of other panels in the development stage. To enable automated testing Randox has recently launched the world's first biochip array (analyzer Evidence®). This system has the capability to analyse 80 patient samples per hour. With 20 tests on a particular array this gives a throughput of 3,600 tests per hour making Evidence® the world's highest throughput immunoassay analyzer. Other advantages of the system include the multi-analyte format enabling the clinician to monitor many parameters at once. Relationships between the individual markers can be measured giving the potential for protein biochip arrays to have a high predictive value with respect to disease state. The sample volume per test is also dramatically reduced when compared to carrying out individual tests. For example 10 µL sample on a biochip containing 10 tests is the equivalent of 1 µL sample per test. This is particularly important in samples where the volume can be very small. Current diagnostic tests require 5-100 µL sample for each test. Protein biochip technology will be an important platform for future diagnostic testing. Not only is it currently being used for the more conventional diagnostic tests but it can easily accommodate new and innovative tests as new markers are identified. In this respect new tests are continually being added to existing diagnostic panels and a number of new diagnostic panels are currently under development. Full details of protein biochip array technology and Evidence® will be presented at this workshop.

VISOK NIVO TEHNOLOGIJE NEOPHODNOST U 21. VEKU

**Dimension® RXL nova tehnologija
omogućava jednostavan, brz i ekonomičan
proces rada u kliničkoj laboratoriji**

O. Janković

Interlabexim, Beograd

Aparat Dimension® RxL je jedan sistem sa mnogo mogućnosti. Zahvaljujući jedinstvenoj modularnoj tehnologiji, multi senzor modulu (IMT Quik LYTE), heterogenom modulu za imuno analize (HM) i posebnom sistemu rukovanja reagensima (RMS), konfiguracija modula na aparatu Dimension® RxL može da se prilagodi potrebama svake laboratorije. Dimension® RxL je više nego rutinski analizator za kliničku hemiju, jer se sa HM modulom mogu raditi visoko osetljivi testovi za TSH, FT4, srčani troponin I, mioglobin, HCG, PSA i praćenje terapije određenih lekova. Modul IMT Quik LYTE omogućava određivanje Na⁺, K⁺, Cl⁻ za samo 48 sekundi, a moguće je ugraditi i elektrodu za TCO₂. Poseban sistem za reagense RMS omogućava skladištenje i programiranje pripreme radnog reagensa unapred za nekoliko dana. Kasete sa reagensima (Flex™) automatski se ubacuju i uklanjaju bez prekida procesa rada. Reagens u aparatu je stabilan do 30 dana. Stabilnost kalibracije iznosi između dva i tri meseca. U zavisnosti od izabranih modula, moguće je uraditi i do 750 testova za jedan sat. Aparat je jednostavan za rukovanje, pre početka rada automatski proverava nivo reagenasa i uzorka i signalizira na monitoru ako nešto nije u redu. Sistem je bezbedan jer se kivete proizvode u samom aparatu i nakon završene analize automatski zatvaraju. Ovim procesom zaštićen je kadar koji radi u laboratoriji, a takođe izoluje se i potencijalno opasni biološki otpad. Potrošnja vode za jedan sat rada aparata iznosi svega 3,5 litara. Dnevno održavanje aparata je minimalno. Sve prethodno nabrojane karakteristike omogućavaju jednostavan, brz, pouzdan i ekonomičan proces rada, ali ono što je najvažnije tačne i precizne rezultate.

HIGH LEVEL OF TECHNOLOGY A MUST FOR 21ST CENTURY

**Dimension® RXL new technology enables
simple, quick economical and reliable
workflow in clinical laboratory**

O. Janković

Interlabexim, Belgrade

The instrument Dimension® RxL is one system with many capabilities. The unique modular technology, multi sensor module (IMT Quik LYTE), heterogeneous immunoassay module (HM) and specially designed Reagent Inventory Management System (RMS), makes Dimension® RxL easy to configure, according to your laboratory needs. Dimension® RxL is more than a routine analyzer for clinical chemistry, since HM comprises high sensitive tests for TSH, FT4, CK-MB mass, cardiac Troponin I, MYO, HCG, PSA and therapeutic drug monitoring. IMT Quik LYTE™ module ensures that Na⁺, K⁺ and Cl⁻ results are available within 48 seconds. An optional TCO₂-electrode is available. System for reagents RMS module enables storage, programming of the preparation of the reagent a few days in advance. Reagent Cassettes Flex™ are automatically loaded and unloaded without routine run interruption. Reagent on-board stability is 30 days. Calibration stability is between 2 and 3 months. The performed throughput is up to 750 tests per hour, dependant on the modules chosen. The instrument is simple to handle and before the operation it checks sample and reagents levels, signalizing eventual inefficiency on the monitor. The system is safe since the cuvettes are made on board and are automatically sealed. This guarantees biohazardous waste is isolated for safe disposal, protecting laboratory staff and saving time. Water consumption for one hour of routine workflow is only 3,5 liters. Daily maintenance of the instrument is minimal. All the above-mentioned characteristics enable simple, quick, reliable and economical workflow, and the most important, the accurate and precise results.

F
SLOBODNE TEME
FREE COMMUNICATIONS

F65

**PROMENE PRIRODNIH
 ANTIKOAGULANASA KOD BOLESNIKA
 SA AKUTNIM INFARKTOM MIOKARDA
 LEČENIH TKIVNIM PLAZMINOGEN
 AKTIVATOROM**

*S. Mandić-Radić, S. Obradović,
 V. Subota, R. Nikolajević, B. Gligić*

*Institut za medicinsku biohemiju,
 Klinika za urgentnu internu medicinu,
 Vojnomedicinska akademija, Beograd*

Akutni infarkt miokarda (AMI) je najteža manifestacija ishemiske bolesti srca, a najčešće je posledica rupture plaka i intrakoronarne tromboze. Ove procese prati aktivacija koagulacionog sistema i trombocita. Na bazi toga je razvijena odgovarajuća antitrombotična terapija, čiji je cilj blokada aktivnosti trombocita, zaustavljanje hiperkoagulabilnosti krvi i razgradnja nastalog tromba. Cilj ovog rada bio je da se procene promene aktivnosti prirodnih antikoagulanasa kod bolesnika sa AIM koji su lečeni fibrinoličkom (tkivni plazminogen aktivator, tPA) uz antikoagulantnu terapiju (heparin). Određivani su protein C (PC) i antitrombin III (ATIII) kod 10 zdravih osoba (kontrola) i kod 30 bolesnika sa AIM, potvrđenim po kriterijumima WHO. Krv je uzimana po prijemu bolesnika, (najviše 12 sati od pojave bola), a zatim 90 minuta, 24 i 72 sata posle terapije. Primenjeni su standardni funkcionalni testovi firme Dade Behring. Aktivacija koagulacionog sistema i trombogeneza su potvrđene povišenim vrednostima fibrin monomera ($p < 0,001$) i D-dimera ($p < 0,01$). Nije nađena statistički značajna razlika između aktivnosti PC i ATIII kontrolne grupe i početnih vrednosti kod bolesnika. Snažan skok aktivnosti PC ($p < 0,001$) nadjen je u 90 minutu po davanju fibrinolitika. Aktivnost PC posle 24 sata se izrazito smanjila, tako da je bila značajno niža i od početne ($p < 0,01$), dok se dalje održavala bez promena. Vrednosti ATIII su se smanjivale tokom terapije, i značajno se razlikuju u svim tačkama od polazne vrednosti ($p < 0,01$). Visoke vrednosti PC posle

F65

**CHANGES OF NATURAL
 ANTIKOAGULANTS IN PATIENTS
 WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION
 RECEIVING TISSUE PLASMINOGEN
 ACTIVATOR**

*S. Mandić-Radić, S. Obradović,
 V. Subota, R. Nikolajević, B. Gligić*

*Institute of Medical Biochemistry,
 Department of Urgent Medicine,
 Military Medical Academy, Belgrade*

Acute myocardial infarction (AMI) is the most severe manifestation of an ischaemic heart disease, and it is predominantly due to plaque rupture and intracoronary thrombosis. Those processes are followed by the activation of a coagulation system and platelets. The blockade of platelet activation, stoppage of blood hypercoagulability and destruction of present thrombus are the goals of the corresponding antithrombotic therapy. The aim of the study was to evaluate the importance of natural anticoagulant changes in patients with AMI who were treated with both the fibrinolytic (tissue plasminogen activator, tPA) and anticoagulant therapies (heparin). Protein C (PC) and antithrombin III (ATIII) were determined in 10 healthy individuals (control) and 30 patients with AMI, confirmed by WHO criteria. Blood was taken after patients' admission to hospital (no longer than 12 hours from initial feeling the pain), and than 90 minutes, 24 hours and 72 hours after the therapy. The standard functional Dade Behring assays were used. The activation of the coagulation system and the thrombogenesis were confirmed by the increasing fibrin monomer ($p < 0,001$) and D-dimer values ($p < 0,01$). No statistically significant changes in PC and ATIII activities were found between the control group and the baseline values in patients. The intensive rise in PC activities ($p < 0,001$) was found in 90th minutes after receiving tPA. After 24 hours PC activity was remarkably decreased, moreover, it was lower than the baseline values ($p < 0,01$). Thereafter, its activity remained unchanged. The values of ATIII we-

tPA potiču od uticaja fibrinolitika. Skok je značajan za inaktivaciju prokoagulanata, aktiviranih faktora V i VIII, kao i inhibiciju PAI-1, koja označava profibrinolitičko dejstvo PC. Sniženje vrednosti ATIII potiče od njegove potrošnje u reakciji sa heparinom. Dobijeni rezultati ukazuju na značajnu ulogu antikoagulantnih činilaca tokom terapije t-PA u bolesnika sa AIM.

re decreased during the therapy and significant differences from baseline values there existed in each observed period ($p < 0,01$). The high PC values after tPA are due to the fibrinolytic process influence. The rise is important for both procoagulants inactivation, such as the activated factors V and VIII, and for PAI-1 inhibition, which means the profibrinolytic PC action. Decreasing of ATIII values is due to their consumption in reaction with heparin. The obtained results indicate the important role of anticoagulant factors during tPA therapy in AMI patients.

F66

UTICAJ ALUMINOSILIKATA KAO DODATKA HRANI NA DELOVANJE CIJANOBakterijskih Toksina

G. Grubor-Lajšić, R. Kovačević, Z. Svirćev,
N. Andrić, B. Stanić, S. Zorić, B. Stančević

*Institut za biologiju, PMF,
Novi Sad*

Cijanobakterije (modrozelene alge) proizvode širok spektar sekundarnih metabolita, koji mogu biti vrlo toksični, kao što su mikrocistini i nodularini. Karakteristični za određene rodove cijanobakterija, mikrocistini dospevaju u vodenu sredinu (»cvetanje« vode). Prisustvo ovih toksina u životnoj sredini je tako potencijalna opasnost ne samo za akvatične organizme, već za ekosistem u celini. Mikrocistini su hepatotoksini. Poznato je da inhibiraju protein fosfatazu 1 (PP1) i protein fosfatazu 2A (PP2A). Brojni radovi ukazuju i na ulogu ovih cikličnih heptapeptida kao promotora kancera. U ovom radu ispitivan je uticaj prirodnih zeolita i glina (preparat ATN), koji se dodaju hrani, na delovanje mikrocistina. Pacovi hranjeni hranom sa ovim dodacima bili su izloženi delovanju mikrocistina iz prirodnog izvora (jezerska voda u vreme »cvetanja«) i ekstrakta laboratorijske kulture *Microcystis* (PCC7806). Praćena je aktivnost glutation S-transferaze (GST) u homogenatu jetre pacova, jer je poznato da aktivnošću ovog enzima mikrocistini formiraju konjugat sa glutationom, što vodi do pada u aktivnosti samog GST. Toksičnost mikrocistina kao hepatotoksina potvrđena je i histološkom analizom jetre pacova. Pokazalo se da prisustvo ATN-a u hrani za pacove kod eksperimentalne grupe, u odnosu na kontrolnu, eliminiše štetno delovanje mikrocistina.

F66

IMPACT OF ALUMOSILICATES AS ADDITIVES UPON CYANOBACTERIAL TOXIN EFFECTS

G. Grubor-Lajšić, R. Kovačević, Z. Svirćev,
N. Andrić, B. Stanić, S. Zorić, B. Stančević

Institute for Biology, Faculty of Science and Mathematics, Novi Sad

Cyanobacteria (blue-green algae) produces a wide spectrum of secondary heavily toxic metabolites such as microcystins and nodularins. The former, being a characteristic of certain cyanobacterial genera, contaminate water during cyanobacterial »bloom« therefore threatening not only the aquatic fauna, but also an ecosystem in general. Microcystins are potent and highly specific hepatotoxins whose toxicity is based on inhibition of type-1 (PP1) and type-2A (PP2A) protein phosphatase. A great number of papers point out the role of this cyclic heptapeptides as potent tumor promoter. The purpose of this study was to investigate the impact of natural zeolites and clay (ATN) upon microcystins. Natural microcystins (lake water at blooming) and extract of laboratory *Microcystis* culture (PCC7806) effects were tested with rats fed with ATN enriched food. Glutathione S-transferase (GST) activity in rat liver homogenate was followed to show the correspondence between our results and those telling us that the activity of this enzyme affects the microcystin-glutathione conjugation therefore causing GST activity drop. Microcystin toxicity was confirmed also by the histological survey of rat liver. ATN-enriched rat food in the experimental group eliminated toxic microcystin effect when compared with the control.

F67
**EOZINOFILJA
KOD OBOLELIH OD TRIHINELOZE**
Lj. Vorgić, Lj. Bačvanski, M. Frenc, Z. Papić
*Kliničko biohemijska laboratorija,
Opšta bolnica »Đorđe Joanović«, Zrenjanin*

Trihinelzoa (trihinoza) je bolest izazvana nematom *Trichinella spiralis*. Dijagnoza se postavlja na osnovu tipične kliničke slike, izražene eozinofilije i epidemioloških podataka. Tok bolesti prolazi kroz 3 faze i to intestinalnu, generalizovanu i rekonvalescentnu. Intestinalna faza je kratka, nastaje posle inkubacije od 2-3 dana, nakon konzumiranja zaraženog mesa. Ispoljava se mučninom, povraćanjem, grčevima i bolom u trbuhu. Drugu generalizovanu fazu, karakterišu povišena temperatura, edemi lica, naročito periorbitalnog dela i gornjih kapaka, bolovi u mišićima i izrazita eozinofilija. U ovom radu prikazane su vrednosti eozinofilnih granulocita i ukupnih leukocita kod pacijenata koji su imali izražene simptome generalizovane faze, a lečeni su na infektivnom odeljenju ili ambulantno, tokom epidemije trihinelze. Od 150 pacijenata, 94% imalo je eozinofiliju u prvoj nedelji od pojave simptoma. U drugoj nedelji od pojave simptoma eozinofilija je bila još izraženija, i javljala se kod 98% pacijenata. Prosečan apsolutni broj eozinofila u prvoj nedelji iznosio je 2 764 u mm³, a u drugoj nedelji 4 834 u mm³. Kod 8 pacijenata broj eozinofila bio je iznad 10 000 u mm³. Relativni broj eozinofila kretao se od 10-70%. Broj štapićastih granulocita, bio je značajno povećan, a broj eozinofilnih granulocita određivan je i u rekonvalescentnoj fazi. Dobijeni podaci odgovaraju onima koji se mogu naći i u literaturi. Leukociti su određivani na brojaču krvnih elemenata Coulter MD II serija, a eozinofilni granulociti analizom krvnog razmaza, obojenog po Pappenheim-u.

F67
**EOSINOPHILIA
IN TRICHINELLOSIS PATIENTS**
Lj. Vorgić, Lj. Bačvanski, M. Frenc, Z. Papić
*Laboratory of Clinical Biochemistry,
General Hospital »Đorđe Joanović«, Zrenjanin*

Trichinellosis (trichinella) is a disease caused by nematode *Trichinella spiralis*. Diagnosis is made according to typical clinical picture of impressive eosinophilia and epidemiology datas. There are 3 phases in the course of disease: intestinal, generalized and convalescent. Intestinal phase is short, it starts after short incubation of 2-3 days after consumption of contagious meat. Typical symptoms are characterised by nausea, vomit, convulsions and abdominal pain. The second, generalized, phase is characterized by high temperature, facial edema, especially periorbital part and upper eyelid, muscle pain and an impressive eosinophilia. In this work we showed eosinophile granulocytes and total leukocytes in patients with emphasized symptoms of generalized phase who were treated at the Infective department of the hospital or outpatiently, during trichinellosis epidemic. From the total of 150 patients, 94% had eosinophilia at the first week after symptoms appeared. During the second week of getting symptoms eosinophilia was even more emphasized at even 98% of patients. The average absolute number of eosinophile at the first week was 2 746 in mm³, at the second week it was 4 834 in mm³. In 8 patients the number of eosinophile was more than 10 000 in mm³. Relative number of eosinophile was between 10-70%. The number of bands is significantly increased. Number of eosinophile granulocytes was also determinated in convalescent phase too. The obtained results correlate with datas in literature. Leukocytes were determinated by using the counter of blood elements Coulter MD II serie, and eosinophile granulocytes by analyzing peripheral blood smear, colored according to Pappenheim.

F68
**PROTEKTIVNI EFEKTI METIONINA
I VITAMINA B₁₂ NA FUNKCIJU JETRE
U HOLESTAZI**
*T. Jevtović, G. Bjelaković, G. Kocić,
G. Bjelaković, D. Sokolović, T. Cvetković*
Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Niš

Ekstrahepatična holestaza izazvana opstruktivom žučnih kanala dovodi do ozbiljnih oštećenja jetre. U osnovi ovih oštećenja su struktturne i funkcionalne promene membrane hepatocita. Posledica toga je razvoj niza biohemijskih i funkcionalnih poremećaja:

F68
**PROTECTIVE EFFECTS OF METHIONINE
AND VITAMIN B₁₂ ON LIVER FUNCTION
IN CHOLESTASIS**
*T. Jevtović, G. Bjelaković, G. Kocić,
G. Bjelaković, D. Sokolović, T. Cvetković*
*Institute of Biochemistry, School of Medicine,
Niš, Yugoslavia*

Serum proteins and uric acid measurements are useful parameters in assessing hepatic function in liver diseases. In cholestatic liver diseases, liver tissue is hypoxic and anaerobic metabolism predominates.

hipoksija, smanjena sinteza ATP i razvoj energetske krize u ćelijama sa pojavom sekundarne hiperurikemije kao i poremećaj sintetske funkcije jetre i pojave disproteinemije. Dosadašnja istraživanja su pokazala da S-adenozil-metionin (SAM) ima značajnu ulogu u reakcijama transmetilacije i transulfuracije koje su važne u održavanju stabilnosti i fluiditeta membrane hepatocita. S obzirom na to da vitamin B₁₂ učestvuje kao koenzim u resintezi metionina iz homocisteina, cilj ovog rada bio je da se ispitaju efekti metionina i vitamina B₁₂ na nivo serumskih proteina i mokraćne kiseline kod holestatskih pacova. U eksperimentu su korišćeni Wister pacovi muškog pola. Životinje su podeljene u 6 grupa. I-kontrola; II-»sham« operisani; III-pacovi s podvezanim žučnim kanalom; IV operisani pacovi tretirani vitaminom B₁₂ (100 µg/kg t.m. i.p. dnevno tokom 7 dana); V-operisani pacovi tretirani sa obe supstance i VI-operisani pacovi tretirani metioninom (50 mg/kg t.m.i.p. dnevno tokom 7 dana). Životinje su žrtvovane dekapitacijom nakon 7 dana tretiranja. Serumski proteini (TP) i mokraćna kiselina (MK) bili su statistički značajno povećani kod pacova sa holestazom ($71,2 \pm 8,3$ vs. kontrola $43,22 \pm 3,07$ g/L; $65,92 \pm 8,6$ vs. kontrola $17,85 \pm 8,6$ µmol/L, $p < 0,001$). Kod operisanih životinja tretiranih metioninom koncentracije ukupnih proteina i mokraćne kiseline bile su značajno smanjene u odnosu na ne tretirane životinje (69,74% za TP i 54,45% za MK); sa vitaminom B₁₂ (64,04 % TP; 53,32% MK) i kod pacova tretiranih sa oba agensa (58,5% TP; 48,1% MK).

Decreased availability of oxygen is accompanied with decreased ability to synthetise ATP and accumulation of ADP and AMP in cells. This accumulated adenine nucleotide is degraded at more rapid rate to several purine metabolites, including uric acid. Recent studies have established the clinical efficacy of S-adenosyl-L-methionine in the treatment of cholestasis associated with hepatic diseases. SAM has fundamental role in transmethylation and transsulphuration reactions that are necessary for the maintenance of membrane fluidity. Since vitamin B₁₂ is important as coenzyme in methionine synthesis from homocysteine, the aim of this study was to investigate the effects of vitamin B₁₂ and methionine on total protein and uric acid level in sera of cholestatic rats. Male Wistar rats were allocated to six groups: I-control; II-sham operated; III-rats with common bile duct ligation; IV-cholestatic rats treated with vitamin B₁₂ (100 µg/kg b.w.i.p. daily during 7 days); V-cholestatic rats treated with both agents and VI cholestatic rats treated with methionine (50 mg/kg b.w.i.p. daily during 7 days). The animals were killed after seven days treatment. Serum protein (TP) and uric acid (UA) level were significantly increased in cholestatic rats (71.2 ± 8.3 vs. control 43.22 ± 3.07 g/L; 65.92 ± 8.6 vs. control 17.85 ± 8.6 µmol/L, $p < 0.001$). In cholestatic animals treated with methionine level of proteins and uric acid showed significant depletion (69.74% for TP and 54.45% for UA); with vitamin B₁₂ (64.04 % TP; 53.32% UA) and in animals treated with both agents (58.5% TP; 48.1% UA). Since methionine and vitamin B₁₂ together have better influence on liver function in cholestatic rats than agents given alone, combination of these agents must be investigated in the future and applied in human cholestasis therapy.

F69

HEPATO-PROTEKTIVNI EFEKAT METIONINA I VITAMINA B₁₂ U EKSPERIMENTALNOJ HOLESTAZI

D. Sokolović, G. Bjelaković, G. Kocić,
T. Jevtović, D. Pavlović, B. Đindjić

Institut za biohemiju,
Medicinski fakultet, Niš

S-adenozil metionin (SAM) nosilac je tiol grupe sa dokazanim terapijskim efektima u holestazi i toksičnom oštećenju hepatocita. Protektivni efekat SAM-a ogleda se u sprečavanju oštećenja mitohondrija, što se postiže zahvaljujući smanjenju oksidativnog stresa u mitohondrijama i popravljanjem ishemijom izazvanih poremećaja enargetskog metabolizma hepatocita. Cilj rada bio je da se ispita hepatoprotektivna vrednost vitamina B₁₂ i metionina u eksperimentalnom modelu holestaze kod miševa. U eksperimentu

F69

PROTECTIVE EFFECT OF METHIONINE AND VITAMIN B₁₂ ON HEPATOCITES IN EXPERIMENTAL CHOLESTASIS

D. Sokolović, G. Bjelaković, G. Kocić,
T. Jevtović, D. Pavlović, B. Đindjić

Institute of Biochemistry,
Medical Faculty in Niš, Yugoslavia

S-adenosylmethionine (SAM) is a thiol-containing compound with known therapeutic effects on cholestasis and hepatotoxicity. SAM protects against mitochondrial injury, which prevents mitochondrial oxidant stress and improves ischemia-induced hepatic energy metabolism. The aim of this study was to investigate the protective capacity of vitamin B₁₂ and methionine on hepatocytes in experimental cholestasis in rats. Wistar rats were divided into six equal experimental groups: I control (sham operated); II animals

su korišćeni miševi Wistar soja, podeljeni u šest eksperimentalnih grupa: I kontrola (lažno operisani); II grupa tretirana metioninom ili vitaminom B₁₂; III miševi sa podvezanim *d. choledocusum*; IV miševi sa holestazom dnevno tretirani vitaminom B₁₂ (100 µ/kg telesne mase. *i.p.* tokom 7 dana); V miševi sa holestazom tretirani sa oba agensa; VI miševi sa holestazom dnevno tretirani metioninom (50 mg/kg telesne mase *i.p.* tokom 7 dana). Životinje su žrtvovane nakon 7 dana od otpočinjanja tretmana. Srednje vrednosti ukupnog i direktnog bilirubina u serumu bile su značajno povećane u grupama sa indukovanim holestazom u odnosu na kontrolu (0,24 0,064 vs. 0,004 0,0001 µmol/L, za ukupni i 0,167 0,047 vs. 0,01 0,002 µmol/L, za direktni; $p < 0,01$). Nije nađena značajnija razlika u vrednostima ukupnog i direktnog bilirubina kod miševa iz III grupe u poređenju sa IV, V i VI grupom. Jedino je direktni bilirubin pokazao blago sniženje vrednosti kod životinja sa holestazom tretiranim vitaminom B₁₂ u poređenju sa onima bez protektivnog tretmana a prisutnom holestazom (0,167 0,047 vs. 0,132 0,022 µmol/L; $p < 0,1$). Serumski nivoi alanin aminotransferaze-ALT značajno su niži u grupi bez holestaze tretiranoj vitaminom B₁₂ u poređenju sa kontrolnom grupom (28,9 3,35 vs. 36,32 2,19 U/L, $p < 0,01$). Slično sniženje nije nađeno u grupi bez holestaze tretiranoj metioninom (32,56 3,38 vs. 36,32 2,19 U/L). Sve grupe sa holestazom imale su više vrednosti ALT-a (III 150,8 45,3; IV 72,48 34,65; V 84,2 21,14 i VI 78,3 13,2 U/L) u poređenju sa kontrolom ($p < 0,01$). Protektivni tretman vitaminom B₁₂, metioninom i njihovom kombinacijom (IV, V i VI grupa) značajno snižava vrednosti ALT-a u odnosu na životinje sa holestazom bez protektivnog tretmana III grupa ($p < 0,01$). Metionin i vitamin B₁₂ mogu sprečiti oštećenje mitohondrija hepatocita uzrokovano eksperimentalnom holestazom i biti značajno sredstvo u terapiji holestaze.

treated with methionin or B₁₂; III rats with common bile duct ligation; IV cholestatic rats treated with vitamin B₁₂ (100 µ/kg b.w. *i.p.* daily during 7 days); V cholestatic rats treated with both agents and VI cholestatic rats treated with methionine (50 mg/kg b.w. *i.p.* daily during 7 days). The animals were killed after seven days of initial treatment. Average levels of total and direct bilirubin were significantly higher in cholestatic rats compared with control (0.24 0.064 vs. 0.004 0.0001 µmol/L, for total and 0.167 0.047 vs. 0.01 0.002 µmol/L, for direct; $p < 0,01$). There was non-significant difference of average levels of total and direct bilirubin in rats from III group compared with IV, V and VI group. Only direct bilirubin showed slightly decreasing in cholestatic rats treated with vitamin B₁₂ compared to cholestatic rats without protective treatment (0.167 0.047 vs. 0.132 0.022 µmol/L; $p < 0,1$). Serum levels of alanine aminotransferase-ALT showed significant decrease in non-cholestatic group treated with B₁₂ compared to control (28.9 3.35 vs. 36.32 2.19 U/L, $p < 0,01$). Similar decreasing was not observed in non-cholestatic rats treated with methionin (32.56 3.38 vs. 36.32 2.19 U/L). All cholestatic rats had higher ALT (III 150.8 45.3; IV 72.48 34.65; V 84.2 21.14 and VI 78.3 13.2 U/L) compared with control ($p < 0,01$). Protective treatment with B₁₂, methionin and both agents (IV, V and VI group) significantly decrease ALT in cholestatic rats compared with rats in III group ($p < 0,01$). Methionine and vitamin B₁₂ could prevent hepatocyte mitochondrial injury induced by experimental cholestasis, and could be important in cholestatic therapy.

F70

UTICAJ INTRAVENSKOG DAVANJA GVOŽĐA NA ANTIOKSIDANTNI STATUS PLAZME I ERITROCITA

M. Plješa¹, K. Ille¹, A. Radojević-Savić¹,
N. Dimković², T. Simić¹, Ž. Davičević¹,
J. Mimić-Oka¹

¹Institut za biohemiju
²Institut za bubrežne bolesti Zvezdara,
Medicinski fakultet, Beograd

Eritropoetin i odgovarajuća primena gvožđa važni su vidovi lečenja anemije kod bolesnika s hroničnom insuficijencijom bubrega. Međutim, postavlja se pitanje da li intravenska nadoknada gvožđa vodi prezašćenju transferina i veoma visokim vrednostima gvo-

F70

EFFECT OF INTRAVENOUS IRON THERAPY ON PLASMA AND RED BLOOD CELLS ANTIOXIDANT STATUS

M. Plješa¹, K. Ille¹, A. Radojević-Savić¹,
N. Dimković², T. Simić¹, Ž. Davičević¹,
J. Mimić-Oka¹

¹Institute of Biochemistry
²Institute for Renal Diseases Zvezdara,
School of Medicine Belgrade, Yugoslavia

Erythropoietin and appropriate iron administration are important aspects of managing the anaemia in end-stage renal disease (ESRD) patients. However, concerns have been raised about parenteral iron supplementation leading to an »over saturation« of

žda, što može da pogorša već postojeći oksidativni stres kod ovih pacijenata. Poznato je da intravenska primena gvožđa u pojedinačnim dozama pogorjava oksidativni stres kod pacijenata na hemodijalizi (HD). S druge strane, uticaj ponavljanje intravenske prime- ne gvožđa je manje proučen. Zbog toga su u ovoj studiji markeri oksidativnog stresa (reaktivni karbonilni derivati-CRD, tiol grupe-SH) i aktivnosti antioksi- dantnih enzima superoksid dizmutaze, (SOD), glutation peroksidaze, (GPX) i katalaze, (CAT) određivani u plazmi i eritrocitima kod 10 pacijenata kojima je da- vano gvožđe u dozi od 625 mg (feroglukonat, Fer- rlecit 62,5 mg) u toku 10 uzastopnih hemodijaliza. Krv je uzimana pre prve i poslednje doze gvožđa. Re- zultati (srednja vrednost \pm SD) dobijeni u plazmi su sledeći:

Markeri oksidativnog stresa

	pre Fe	posle Fe
CRD, $\mu\text{mol/g prot}$	$1,05 \pm 0,22$	$1,14 \pm 0,15$
SH, mmol/L	$0,58 \pm 0,21$	$0,48 \pm 0,20$

Aktivnosti antioksidantnih enzima

	pre Fe	posle Fe
SOD, U/L	96 ± 28	91 ± 17
GPX, U/L	190 ± 31	211 ± 37
CAT, kU/L	36 ± 14	43 ± 16

Slični rezultati dobijeni su i u eritrocitima (rezultati nisu prikazani). Nadoknada gvožđa popravlja hematološke parametre kod bolesnika na hemodijalizi. Korekcija anemije nije praćena značajnom razlikom u procenjivanim markerima oksidativnog stresa. Na osnovu ovih podataka može se zaključiti da terapija gvožđem u ukupnoj dozi od 625 mg ne pogoršava oksidativni stres kod pacijenata na HD.

transferrin and excessively high iron levels, which may aggravate oxidative stress already present in these patients. It is known that *i.v.* iron application in a single dose increases oxidative stress in haemodialysis (HD) patients. However, the effects of repeated *i.v.* iron supplementation are less studied. Therefore, in the present study, markers of oxidative stress (carbonyl reactive derivatives, CRD, thiol groups, SH), and antioxidant enzyme activities superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) and cata- lase (CAT) were determined in plasma and red blood cells (RBC) of ten pts given a total iron dose of 625 mg (ferrogluconat, Ferrlecit, 62.5 mg) during 10 consecutive HD. Blood samples were taken before the first and the last dose of iron. The results (mean \pm SD) obtained in plasma were:

Markers of oxidative stress

	before Fe	after Fe
CRD, $\mu\text{mol/g prot}$	1.05 ± 0.22	1.14 ± 0.15
SH, mmol/L	0.58 ± 0.21	0.48 ± 0.20

Antioxidant enzyme activities

	before Fe	after Fe
SOD, U/L	96 ± 28	91 ± 17
GPX, U/L	190 ± 31	211 ± 37
CAT, kU/L	36 ± 14	43 ± 16

The similar results have also been found in RBC (data not shown). Iron supplementation improves haematological parameters in HD pts. The correction of anaemia was not followed by significant differences in evaluated markers of oxidative stress. Based on this data it can be concluded that iron therapy in total dose of 625 mg does not aggravate oxidative stress in HD pts.

F71

ODREĐIVANJE INTERAKCIJA IZMEĐU DOPAMINSKOG D1 RECEPTORA I G-PROTEINA

S. Đuranović^{1,2}, V. Šoškić¹, J. Predić¹

¹Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu
²Institut za bolesti djece KC Crne Gore

Dopaminski receptori pripadaju velikoj familiji re- ceptora, sa sedam transmembranskih domena, koji interaguju sa G proteinima (7TM receptori). Mjesta na

F71

DETERMINATION OF INTERACTIONS BETWEEN DOPAMINE D1 RECEPTOR AND G-PROTEINS

S. Đuranović^{1,2}, V. Šoškić¹, J. Predić¹

¹Faculty of Chemistry, University of Belgrade
²The Institute for Children's Diseases in Podgorica,
KC Crna Gora, Yugoslavia

Dopamine receptors belong to the large family of se- ven-transmembrane domain G-protein-coupled re- ceptors (7TM receptors). Regions of human dopa-

dopaminskim receptorima koja učestvuju u interakcijama sa G proteinima nisu u potpunosti definisana. Smatra se da su poremećaji u dopaminskim receptorima kao i u mehanizmu prenosa signala preko ovih receptora odgovorni za nastanak određenih bolesti nervnog sistema. U ovoj studiji opisana je upotreba jednostavne *in vitro* metode za određivanje interakcija fragmenata CPL4 hD1 receptora sa različitim Ga subjedinicama. U ovu svrhu su fragmenti CPL4 hD1 klonirani u pGEX-2T plazmid i eksprimirani u *E. coli* BL21 kao fuzioni proteini sa glutation S-transferazom (MF CPL4-GST i VF CPL4-GST). Fuzioni proteini prečišćeni su afinitetnom hromatografijom na Glutathion Sepharose-i CL4B. Ga subjedinice eksprimirane su u *E. coli* JM109 ($\text{G}\alpha_s$) i *E. coli* BL21 DE3 ($\text{G}\alpha_o$ i $\text{G}\alpha_{i1}$), i prečišćene kao »Histag« proteini na afinitetnom matriksu Ni-NTA Sepharose-i. Postojanje interakcija detektovano je na 12% PAA gelu SDS-PAGE elektroforezom, i kolorimetrijski određivanjem aktivnosti glutation S-transferaze. Ova kolorimetrijska metoda omogućava kvantifikaciju interakcija. Utvrđeno je da je CPL4 D1 receptora čovjeka odgovorna za interakcije ovog receptora sa $\text{G}\alpha_s$ i $\text{G}\alpha_o$ subjedinicama. Takođe je utvrđeno da su strukturalni motivi iz MF CPL4 hD1 receptora odgovorni za interakciju sa $\text{G}\alpha_s$ subjedinicom, a strukturalni motivi iz VF CPL4 hD1 receptora za interakciju sa $\text{G}\alpha_o$ subjedinicom.

mine receptor of D1 subtype that are involved in G protein-coupling are not well known. It is considered that disorders in dopamine receptors as well as in mechanisms of transduction of signals through these receptors are responsible for developing of particular diseases of nerve system. A simple *in vitro* method has been used for estimating the interactions between various Ga subunits and fragments of CPL4 hD1 receptor. For this purpose, fragments of CPL4 hD1 were cloned in pGEX-2T vector and expressed in *E. coli* BL21 as a fusion proteins with glutathion S-transferase (MF CPL4-GST and VF CPL4-GST). Fusion proteins were purified by affinity chromatography on Glutathione-Sepharose CL4B. Ga subunits were expressed ($\text{G}\alpha_s$ in *E. coli* JM109; $\text{G}\alpha_o$ and $\text{G}\alpha_{i1}$ in *E. coli* BL21 DE3), and purified on affinity matrix Ni-NTA Sepharose. Interactions were detected on 12% polyacrylamide gels by SDS PAGE electrophoresis and by a colorimetric assay for glutathione S-transferase. Colorimetric assay can be used for quantification of the interactions. It was shown that CPL4 of human D1 receptor is involved in the coupling of this receptor to $\text{G}\alpha_s$ and $\text{G}\alpha_o$ subunits. It was also shown that structural motives from MF CPL4 hD1 receptor are needed for interaction with $\text{G}\alpha_s$ subunit, and structural motives from VF CPL4 hD1 receptor are needed for interaction with $\text{G}\alpha_o$ subunit.

F72

UČESTALOST POJAVE HIPOSURFAKTOZE KOD PRIJEVREMENO ROĐENE DJECE

P. Radović¹, M. Batrićević²

¹Institut za bolesti djece KC Crne Gore, Podgorica

²Privatna biohemijska laboratorija »Dr Tomanović«, Podgorica

Hiposurfaktoza pluća novorođančeta je nedostatak plućnog surfaktanta zbog nezrelosti pluća novorođančeta. Glavni uzrok nedostatka surfaktanta je nezrelost pluća zbog skraćene gestacije novorođančeta. Bolest se karakteriše tahipnejom, dispnejom i cijanozom sa početkom u prvim satima do najkasnije 24 sata života, a završava se ili letalno ili potpunim izlječenjem u toku nekoliko dana. Metabolic acidosis je jedna od ključnih karika u patogenetskom lancu hiposurfaktoze pluća kod novorođančeta. Shodno tome u praćenju acido-baznog statusa očekuje se pozitivan bilans H^+ jona u ekstracelularnim prostorima, smanjenje koncentracije bikarbonata u plazmi, smanjenje pCO_2 , smanjenje pH. U Institutu za dječije bolesti KBC Podgorica, na Odeljenju za neonatologiju liječeno je u periodu između 1. 1. 1998. i

F72

INCIDENCE OF HYPOSURFACTOSA WITH PREMATURE BABIES

P. Radović¹, M. Batrićević²

¹The Institute for Children's Diseases in Podgorica, KC Crna Gora, Yugoslavia

²Private Biochemistry Laboratory »Dr Tomanović«, Podgorica, Crna Gora, Yugoslavia

Hiposurfaktoza of an infant lung is caused by lack of lung surfactant due to immaturity of a newborn infant lung. The main cause of lack of surfactant is immaturity of lungs due to shortened gestation of a newborn infant. The disease is characterised by tachypnoea, dyspnoea, cyanosis, that starts in the first hours until at least 24 hours of life and finishes either lethally or is completely cured in the course of several days. Metabolic acidosis is one of key links in pathogenic chain of hyposurfactosa of lungs with newborn infants. Following acid-base status, positive balance of H^+ extra cellular areas, decrease of: concentration of bicarbonate in plasma, pCO_2 , and pH are expected. At the Institute for Children's Diseases in Podgorica (KBC Podgorica), at the Department of

1. 01. 1999. godine 63 djece rođenih prije vremena. Od tog vremena 54. djece (85,7%) liječeno je od hiposurfaktoze pluća. Za potpunost dijagnoze korišćen je acidobazni status, pri čemu se iz kapilarne krvi, uzmajem uobičajenim postupkom i mjeranjem na gasnom analizatoru AVL 990 elektrohemiskom metodom upotpunila dijagnostika datog oboljenja i potvrdi zaključak koji slijedi: ispitivanja ukazuju da se incidenca hiposurfaktoze kod prijevremeno rođene djece ne razlikuje od literarnih podataka.

Neonatology, 63 premature babies were treated in the period from Jan. 1 1998 to Jan. 1 1999. Since that time 54 infants suffering from hyposurfactosa have been treated (85.7%). To make diagnosis precise, acid-base status was used, taking capillary blood in usual way and measuring it on the gas analyzer AVL 990 by electrochemical method confirming the diagnosis of hyposurfactosa of lungs. The conclusion is: our research indicates that incidence of hyposurfactosa with premature babies does not differ from data found in medical literature.

F73

UTICAJ NATRIJUMOVE SOLI MONOKETOHOLNE KISELINE NA VREDNOSTI GLUKOZE U KRVI ZDRAVIH I DIJABETIČNIH PACOVA

S. Kojić¹, M. Đerić¹, M. Mikov²,
A. Rašković³, K. Kuhajda⁴, S. Kevrešan⁵

¹Zavod za laboratorijsku medicinu,

Klinički centar Novi Sad,

²Zavod za farmakologiju, toksikologiju i kliničku
farmakologiju, Medicinski fakultet, Novi Sad,

³Zavod za farmakologiju, Medicinski fakultet, Podgorica

⁴Institut za hemiju, PMF Novi Sad

⁵Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Dok su prve hemijske transformacije žučnih kiselina izvođene da bi se odredila njihova struktura, danas se posebna pažnja poklanja izučavanju farmakoloških efekata sintetisanih derivata žučnih kiselina. Dokazan je njihov uticaj na poboljšanje farmakokinetskih i farmakodinamskih osobina pojedinih lekova (pre svega insulina i oralnih hipoglikemika), a sve je više interesovanja i za njihova direktna farmakološka delovanja. Ovo ispitivanje izvedeno je da bi se ustanovili direktni efekti natrijumove soli monoketoholne kiseline na vrednosti glukoze u krvi zdravih i dijabetičnih pacova. Ispitan je uticaj jednokratne i sedmodnevne peroralne, supkutane i intravenske primene kiseline (2 mg/kg TT) na vrednosti glukoze u krvi, kod zdravih (n=50) i dijabetičnih (n=50) pacova muškog pola, soja »Wistar«, hranjenih standardizovanom ishranom za laboratorijske životinje. *Diabetes mellitus* indukovani je hemijskim putem, intraperitonealnom aplikacijom aloksana (100 mg/kg TT), a vrednosti glukoze u krvi određivane su u uzorku krvi iz repne vene, pomoću test traka, na aparatu Accutrend Glucose mini, Boehringer Mannheim. Poređene su vrednosti glukoze u krvi nakon 3 sata (akutni tretman) i 7 dana (hronični tretman) od aplikacije ispitivane žučne soli, u odnosu na vrednosti pre aplikacije. Najveći hipoglikemijski efekat u grupi dijabetičnih pacova, i akutnim

F73

THE INFLUENCE OF SODIUM MONOKETOCHOLATE ON LEVEL OF BLOOD GLUCOSE IN HEALTHY AND DIABETIC RATS

S. Kojić¹, M. Đerić¹, M. Mikov²,
A. Rašković³, K. Kuhajda⁴, S. Kevrešan⁵

¹Institute for Laboratory Medicine,
Clinical Center Novi Sad

²Institute for Pharmacology, Toxicology and Clinical
Pharmacology, Medical School Novi Sad

³Institute for Pharmacology, Medical School Podgorica

⁴Institute for Chemistry, PMF Novi Sad

⁵Agricultural Faculty, Novi Sad

In the past, chemical transformations of bile acids were done to determine their structure. Nowadays, particular attention is paid to pharmacological effects of the synthetic derivatives of bile acids. It has been proven that they improve pharmacokinetic and pharmacodynamic features of certain medications (insulin and anti-diabetic agents, above all) and there is increasing interest concerning their direct pharmacological effects. The aim of this investigation was to determine the direct effects of sodium monoketocholate on blood glucose levels in healthy and diabetic rats. We investigated the impact of application of the salt on blood glucose levels of healthy (n=50) and diabetic (n=50) male »Wistar« rats fed with standardized laboratory animal food. We compared the effects of one dose and a seven day peroral, subcutaneous and intravenous treatment (2 mg/kg body weight). *Diabetes mellitus* was induced chemically, by intraperitoneal application of Aloxane (100 mg/kg body weight), and blood glucose levels were determined from the blood of the tail vein using the test strips (Accutrend Glucose Mini, Boehringer Mannheim). We compared the blood glucose levels after three hours (acute treatment) and seven days (chronic treatment) after application of the salt, with the levels before the treatment. The largest hypoglycemic

i hroničnim tretmanom, ostvaren je intravenskom (16,46% i 18,83%), a zatim supkutanom (11,98% i 12,37%) i peroralnom (5,41% i 6,82%) primenom, iako ni jedno sniženje nije dostiglo statističku značajnost. U grupi zdravih pacova, suprotno očekivanjima, ustanovljen je porast vrednosti glukoze u krvi nakon svih načina aplikacije žućne soli, bez obzira na dužinu trajanja tretmana, ali ovaj porast nije bio statistički značajan. Prisutan hipoglikemijski efekat u grupi dijabetičnih pacova, iako bez statističke značajnosti, mogao bi biti od značaja, te rezultati zahtevaju kritičku proveru na većem uzorku radi ispitivanja mogućnosti šire terapijske primene.

effect in the group of diabetic rats was achieved by intravenous (16.46% and 18.83%), then subcutaneous (11.98% and 12.37%) and peroral (5.41% and 6.82%) therapy even though none of these effects were statistically significant. In the group of healthy rats, unexpectedly, we established the increase in blood glucose levels after all three kinds of application of bile salt, regardless of the length of the treatment, but this increase was not statistically significant. The hypoglycemic effect that was observed in diabetic rats, even though not statistically significant, could be important, therefore the results require critical verification using a larger sample to investigate a possibility of therapeutic application.

F74

INSULINU SЛИЧНИ FAKTORI RASTA KOD OSOBA INFICIRANIH BAKTERIJAMA *HELICOBACTER PYLORI* ILI *FRANCISELLA TULARENSIS*

I. Baričević¹, O. Nedić¹, J. A. Nikolić¹,
S. Marjanović¹, E. Ristanović², B. Lako²

¹Institut za primenu nuklearne energije-INEP, Zemun
²Vojnomedicinska akademija,
Institut za mikrobiologiju, Beograd

Insulinu slični faktori rasta I i II (IGF-I i -II), njihovi vezujući proteini (IGFBP) i IGFBP-proteaze (BP-Pr) imaju značajnu ulogu u ćelijskom rastu i metabolizmu. Bakterijske infekcije, pored primarnog imunog odgovora, često izazivaju sekundarne posledice na nivou drugih fizioloških sistema u organizmu. Cilj ovog rada bio je da se ispitaju promene IGF/IGFBP sistema kod osoba inficiranih bakterijama *Helicobacter pylori* ili *Francisella tularensis*, koje su izabrane kao model sistemi. *Helicobacter pylori* kolonizuje epitelni sloj zida želuca i proksimalni duodenum, a može izazvati gastritis, stvaranje želudačnog i duodenalnog čira, kao i adenokarcinom. *Francisella tularensis* je uzročnik tularemije, u organizam prodire kroz (ne)oštećenu kožu, disajne i gastrointestinalne organe, a najčešći simptomi su lokalna infekcija i limfoadenopatija sa groznicom. Koncentracije IGF-I i IGF-II u serumu određivane su radioimmunoškim testovima (RIA, INEP-Zemun) uz ¹²⁵I obeležene ligande. IGFBP u serumu okarakterisani su autoradiografski, nakon SDS-PAGE i elektrotransfera. Referentne vrednosti za IGF-I su 9–45 nmol/L, a za IGF-II 50–90 nmol/L. Rezultati su pokazali da su koncentracije IGF-I i IGF-II u cirkulaciji uglavnom bliske donjoj granici referentnog opsega kod inficiranih pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu. Prosečne vred-

F74

INSULIN-LIKE GROWTH FACTORS IN SUBJECTS INFECTED WITH THE BACTERIA *HELICOBACTER PYLORI* OR *FRANCISELLA TULARENSIS*

I. Baričević¹, O. Nedić¹, J. A. Nikolić¹,
S. Marjanović¹, E. Ristanović², B. Lako²

¹Institute for the Application of Nuclear Energy-INEP,
Belgrade-Zemun
²Military Medical Academy,
Institute of Microbiology, Belgrade

Insulin-like growth factors I and II (IGF-I and -II), their binding proteins (IGFBP) and IGFBP proteases (BP-Pr) have important roles in cell growth and metabolism. Besides the primary immune response, bacterial infections frequently cause secondary reactions in other physiological systems in the organism. The main purpose of this work was to examine changes in the IGF/IGFBP system in subject infected with the bacteria *Helicobacter pylori* or *Francisella tularensis*, chosen as models. *Helicobacter pylori* colonizes the epithelial layer of the gastric mucosa and proximal duodenum and is a predominant cause of chronic gastritis, gastric and duodenal ulcers and gastric adenocarcinoma. *Francisella tularensis* is the main agent in tularemia, passing through (non)damaged skin, respiratory and gastrointestinal organs into the organism, causing local infection and lymphadenopathy with fever. The concentrations of IGF-I and IGF-II in serum were determined by radioimmunoassay (RIA, INEP-Zemun) with ligands labeled with ¹²⁵I. IGFBP in serum were determined by autoradiography, after SDS-PAGE and electro-transfer. Reference values were 9–45 nmol/L for IGF-I and 50–90 nmol/L for IGF-II. The results showed that IGF-I and IGF-II concentrations were generally in the lower reference range in the circulation of infect-

nosti za IGF-I ($x \pm SD$) kod osoba inficiranih sa *H. pylori* i *F. tularensis* bile su: $10,9 \pm 3,05$, odnosno $16,5 \pm 9,25$ nmol/L. Za IGF-II dobijene su vrednosti: $55,0 \pm 15,94$, odnosno $61,5 \pm 15,86$ nmol/L. Autoradiografska ispitivanja pokazala su povećanje prisustva IGFBP mase 34 kDa (IGFBP-2) kod 60% ispitanih sa *H. pylori* i 30% sa *F. tularensis* uz smanjeno prisustvo proteinske trake IGFBP-3 (45/40 kDa) kod većine inficiranih. Dobijeni rezultati ukazuju da je infekcija sa *H. pylori* u većoj meri uticala na IGF/IGFBP sistem u serumu nego infekcija sa *F. tularensis*.

ed subjects compared with those in a control group of healthy individuals. The mean values for IGF-I ($x \pm SD$) in subjects infected with *H. pylori* and *F. tularensis* were 10.9 ± 3.05 and 16.5 ± 9.25 nmol/L, respectively. The values obtained for IGF-II were 55.0 ± 15.94 and 61.5 ± 15.86 nmol/L, respectively. Autoradiography showed increased intensity of the 34 kDa IGFBP band (IGFBP-2) in 60% of the examined cases of *H. pylori* and in 30% with *F. tularensis*, while the IGFBP-3 protein bands were fainter (45/40 kDa) in most examined persons. The obtained results showed that *H. pylori* infection had a greater influence on the IGF/IGFBP system in serum than infection with *F. tularensis*.

F75

PROBLEM INTERFERENCIJE SALICILNE KISELINE SA NEKIM PARAMETRIMA U SVEŽEM URINU KOD ZDRAVIH OSOBA

S. D. Jovanović¹, D. Pap²

¹Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine,
Novi Sad

Medicinski fakultet, Novi Sad

²Zdravstveni centar, Sremska Mitrovica

Problem interferencije salicilne kiseline u svežem urinu praćen je kod 20 zdravih osoba pri jednokratnoj oralnoj dozi od 0,5 g. Ispitivani su sledeći parametri: natrijum (metoda ISE), kalijum (metoda ISE), hloridi (titraciona metoda sa živinim nitratom), fosfati (metoda sa amonijum-molibdatom), ukupni kalcijum (kompleksometrijska metoda), urea (sa ureazom po Bertholetu) i kreatinin (Jaffeeova metoda sa alkalnim pikratom) kao najčešće ispitivani parametri bubrežne funkcije. Salicilati su određeni metodom po Trinderu. Određene su koncentracije gore navedenih parametara u momentu peroralnog davanja salicilata i posle 1, 2, 3 i 4 sata od aplikacije. Vrednosti natrijuma, hlorida, ukupnog kalcijuma i fosfata pokazuju skoro ravnomerni pad u odnosu na početnu vrednost sve do poslednjeg (četvrtog) sata kada dolazi do manjeg porasta. Kalijum i urea rastu u prvom satu posle čega se snižavaju u drugom i trećem satu i ponovo raste u četvrtom. Kreatinin neravnomerno raste (sa snižanjem u drugom satu). Promene kod natrijuma ($t=3,36$), hlorida ($t=2,03$), ukupnog kalcijuma ($t=5,12$) i fosfata ($t=10,29$) za $t > 1,99$ i $p > 0,05$ statistički su značajne dok kod uree i kreatinina (t od 0,57 i 0,45) nema statističke značajnosti. Ispitivanja *in vitro* direktnim delovanjem salicilne kiseline u koncentracijama od 10, 50, 100 i 300 mmol/L nisu potvrdila značajnije promene ispitivanih parametara. Evidentno je da kod ispitivanih elektrolita postoji uti-

F75

THE PROBLEM OF INTERFERENCE OF SALICYLIC ACID IN DETERMINATION OF SOME PARAMETERS IN FRESH URINE SAMPLES IN ADULT INDIVIDUALS

S. D. Jovanović¹, D. Pap²

¹Department of Laboratory, Clinic od Pediatrics,
Faculty of Medicine, Novi Sad

²Medical Center, Sremska Mitrovica, Yugoslavia

The problem of interference of salicylic acid is followed in fresh urine samples of 20 adult persons after oral application of 0.5 g of the drug. The following parameters were investigated: sodium and potassium (method of ISE), chloride (method of titrimetric titration with Hg-nitrate), phosphate (method with ammonium-molybdate), total calcium (complexometric method) followed by BUN (urease by Bertholet) and creatinine (Jaffee method with alkaline picrate) as the most frequent parameters of kidney function. Salicylates were determined according to Trinder. The concentrations were determined in the moment of per oral application of salicylic acid and 1, 2, 3 and 4 hours after. The values of sodium, chloride, total calcium and phosphate show nearly linear decrease compared to the initial value up to the last (forth) hour when an increase was measured. In potassium and similar in BUN there is an increase in the first hour followed by the decrease in 2nd, 3rd and 4th hour. Creatinine demonstrates irregular decrease. The changes of sodium ($t=3.36$), chloride ($t=2.03$), total calcium ($t=5.12$) and phosphate ($t=10.29$) for $t > 1.99$ and $p > 0.05$ are statistically significant while BUN ($t=0.57$) and creatinine ($t=0.45$) did not present significant changes. Investigations *in vitro* by direct adding of salicylic acid in concentration of 10, 50, 100 and 300 mmol/L did not produce significant changes in concentrations of investigated parame-

caj salicilne kiseline i u malim dozama ovog leka te da o ovome treba da se vodi računa pri interpretaciji rezultata. Efekat nastaje najverovatnije usled direktnog dejstva na proksimalne ćelije tubula bubrega.

ters. It could be concluded the investigated electrolytes are influenced by salicylic acid even in slight doses, thus one should pay close attention when interpreting results. The effect is most probable the consequence of direct influence of salicylic acid on proximal tubular cells in kidney.

F76

NIVO UKUPNOG MAGNEZIJUMA I KALCIJUMA U SERUMU BOLESNIKA SA DIJABETES MELLITUSOM

D. Miljković¹, N. Kostić²

¹Dom zdravlja Varvarin

²Zdravstveni centar Kruševac

Različite studije su ukazale na povećanu učestalost nedostatka magnezijuma kod bolesnika s dijabetes mellitusom i postojanje veze između hipomagnezemije i hiperglikemije. Magnezijum ima antagonističko svojstvo u odnosu na kalcijum i može se označiti kao fiziološki antagonist kalcijuma. Cilj rada je bio da se odrede koncentracije ukupnog serumskog magnezijuma i kalcijuma kod bolesnika s dijabetes mellitusom i uporede sa nivoom ukupnog serumskog magnezijuma i kalcijuma kontrolne grupe zdravih osoba. Ispitivanje je obuhvatilo 166 dijabetičara, oba pola, 97 (58,4%) žena i 69 (41,6%) muškaraca, starosne dobi od 18 do 71 godine. Kontrolnu grupu je činilo 30 zdravih odraslih osoba, oba pola. Ulzorci krvi uzimani su nakon dvanaestočasovnog gladovanja a posle izdvajanja seruma, serum je čuvan na 20 °C do trenutka rada. Analize su rađene na višekanalnom selektivnom autoanalizatoru Targa 3000, primenom gotovih komercijalnih testova. Magnezijum je određivan kolorimetrijski sa ksilidil plavim, firme Dialab, sa referentnim vrednostima 0,8 1,1 mmol/L. Određivanje kalcijuma zasniva se na kolorimetrijskoj metodi firme Dialab, sa referentnim vrednostima 2,24 2,74 mmol/L. Prosečna vrednost ukupnog serumskog magnezijuma kod bolesnika sa dijabetes mellitusom iznosila je $\bar{x} = 0,848 \pm 0,17$ mmol/L, a prosečna vrednost ukupnog serumskog kalcijuma $\bar{x} = 2,61 \pm 0,18$ mmol/L. Prosečna vrednost ukupnog serumskog magnezijuma kod ispitanika kontrolne grupe iznosila je $\bar{x} = 0,83 \pm 0,11$ mmol/L, a kalcijuma $\bar{x} = 2,58 \pm 0,17$ mmol/L. Nije bilo statistički značajne razlike u koncentracijama serumskog magnezijuma između dijabetičara i kontrolne grupe ($t = 1,25$ $p > 0,05$) i koncentracijama serumskog kalcijuma dijabetičara i kontrolne grupe ($t = 0,86 > p 0,05$). Hipomagnezemija je nađena kod 63 (46,6%) bolesnika sa dijabetes mellitusom, a u kontrolnoj grupi kod

F76

THE LEVEL OF TOTAL SERUM MAGNESIUM AND CALCIUM IN THE SERUM OF PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS

D. Miljković¹, N. Kostić²

¹Health Center Varvarin

²Health Center Kruševac

Various studies have shown that there is a magnesium deficit in patients with diabetes mellitus and the correlation between hypomagnesia and hyperglycemia. The characteristic of magnesium is that it is physiological antagonist with calcium. The aim of the presented study was to determine concentrations of the total serum magnesium and calcium in patients with diabetes mellitus and to compare it with the level of total serum magnesium and calcium in healthy persons' control group. The research involved 166 diabetes patients of both sexes, 97 (58.4 %) of them were female and 69 (41.6 %) were male. The age was between 18 71 years. The control group was consisted of 30 healthy adults of both sexes. Blood samples were taken upon the 12-hour-starvation and separation of serum. Serum was stored at 20 °C. Analysis were performed on multi-channel selective auto-analyzer Targa 3000. Ready-to-use commercial tests were used. The method used to determine magnesium was colorimetric Xylidyl Blue, Dialab Company, with referent values 0.8 1.1 mmol/L. Calcium was determined on colorimetric method, Dialab Company, with referent values 2.24 2.74 mmol/L. Mean value of total serum magnesium in patients with diabetes mellitus was $\bar{x}=0.848 \pm 0.17$ mmol/L. Mean value of total serum calcium was $\bar{x}=2.61 \pm 0.18$ mmol/L. Mean value of total serum magnesium in those from control group was $\bar{x}=0.83 \pm 0.11$ mmol/L, and of total serum calcium was $\bar{x}=2.58 \pm 0.17$ mmol/L. Statistically significant differences in serum magnesium concentrations between patients with diabetes and control group ($t = 1.25$ $p > 0.05$) and serum calcium concentrations between patients with diabetes and control group ($t = 0.86$ $p > 0.05$) were not observed. Hypomagnesia was found in 63 (46.6 %) patients with diabetes mellitus, and in control group in 14 (46.6 %) persons. In statistical terms

14 (46,6%) osoba što statistički ne predstavlja značajnu razliku ($p > 0,05$). Postoji visoka negativna korelacija između nivoa serumskog magnezijuma i kalcijuma kod bolesnika sa dijabetes melitusom ($r = 0,526$, $p > 0,01$). Prosečne vrednosti serumskog magnezijuma i kalcijuma kod bolesnika sa dijabetes melitusom nisu izlazile izvan okvira normalnih vrednosti. Visoka negativna korelacija nađena je između nivoa serumskog magnezijuma i kalcijuma koja potvrđuje očuvanost fiziološkog antagonizma ovih elemenata i kod dijabetičara.

this is not a significant difference ($p > 0,05$). There is a high negative correlation between levels of serum magnesium and calcium in patients with diabetes mellitus ($r = 0,526$ $p > 0,01$). Mean values of serum magnesium and calcium in patients with diabetes mellitus were not out of normal values' ranges. High negative correlation between levels of serum magnesium and calcium was found. It confirms the fact that the physiological antagonism of these elements is preserved even in patients with diabetes.

F77

PARAMETRI INTRAAMNIONSKE INFKECIJE KOD TRUDNICA U TERMINU

B. Jovović¹, B. Natić¹, N. Lečić²,
D. Janošević², J. Jovanović¹

¹Kliničko-biohemijска laboratorija,
Vojna bolnica, Niš

²Klinika za akušerstvo i ginekologiju,
Klinički centar, Niš

Amnionska tečnost često se koristi za procenu biohemijskog statusa amnionske šupljine. Koncentracija glukoze određene u amnionskoj tečnosti može da posluži za brzu dijagnostiku intraamnionske infekcije jer je katabolizam glukoze, aktiviran neutrofilima, primarni mehanizam ovog procesa. Neutrofili inficirane amnionske tečnosti koriste glukozu dva do tri puta više nego neutrofili amnionske tečnosti neinficiranih porodilja. U trudnoći sa intraamnionskom infekcijom smanjeno je oslobođanje transferina iz specifičnih granula leukocita uz zaključak da u ovom slučaju transferin ne ispoljava snažnu antibakterijsku aktivnost. Cilj je bio da se proceni koncentracija transferina određenog u amnionskoj tečnosti 26 porodilja. Porodilje su podeljene u dve grupe računajući koncentraciju glukoze od 0,077 mmol/L kao granicnu vrednost intraamnionske infekcije. Vrednosti glukoze određene su na automatskom analizatoru Axon, a koncentracija transferina sa Dipro-ovim testom imunoturbidometrijskom metodom. Rezultati pokazuju da je koncentracija transferina značajno niža ($p < 0,001$) u ne inficiranoj u odnosu na vrednost transferina u inficiranoj amnionskoj tečnosti. Niži nivo glukoze i povećan nivo transferina u amnionskoj tečnosti dokaz je prisustva intraamnionske infekcije kod porodilja.

F77

THE PARAMETERS OF INTRAAMNIOTIC INFECTION AT DELIVERY

B. Jovović¹, B. Natić¹, N. Lečić²,
D. Janošević², J. Jovanović¹

¹Clinical-Biochemical Laboratory,
Military Hospital, Niš, Yugoslavia

²Clinic for Obstetric and Gynecology,
Clinical Center, Niš, Yugoslavia

Amniotic fluid is very often used to assess the microbiological state of the amniotic cavity. The glucose concentration of amniotic fluid has predictive value for the rapid diagnosis of intraamniotic infection. Evidence has been reported suggesting that glucose catabolism by activated neutrophils is the primary mechanism involved in these processes. Neutrophils obtained from infected amniotic fluid consume glucose at a rate two or three times higher than neutrophils from non-infected patients. The transferrin is reduced from specific granular leukocytes in infected amniotic fluid at delivery. Then, transferin does not show strong anti-bacterium activity. The main topic of this study was to evaluate the concentration of transferin in amniotic fluid obtained from 26 patients at delivery. The patients were divided into two groups considering the concentration of glucose of 0,077 mmol/L. Glucose was estimated routinely on standard Axon analyser. The transferrin concentration was determined by immunoturbidimetric assay Dipro diagnostic. The significantly higher transferrin level ($p < 0,001$) was detected in amniotic fluid of infected in comparison to non-infected patients. Lower glucose level and increase transferrin level is evidence of presence of intraamniotic infection at delivery.

F78

**ZNAČAJ DIFERENCIJALNE
DIJAGNOSTIKE U ODREĐIVANJU
KONCENTRACIJE LAKTATA U LIKVORU
KOD PACIJENATA S BAKTERIJSKIM
I VIRUSNIM MENINGITISOM**

N. Maksić¹, S. Nikolić²

¹*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

²*Institut za infektive i tropске bolesti,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Koncentracija laktata u likvoru određivana je kod pacijenata sa purulentnim (15), tuberkuloznim (6) i virusnim meningitisom (25). Kontrolnu grupu činilo je deset pacijenata sa meningealnim sindromom čiji je citobiohemski nalaz likvora bio normalan. Kod svih pacijenata sa purulentnim meningitisom vrednosti koncentracije laktata u likvoru bile su povišene ($>6,2$ mmol/L). Najviše vrednosti laktata (>15 mmol/L) određene su kod pacijenata sa razvojem respiratorne insuficijencije. Poređenjem vrednosti koncentracija laktata dobijenih kod pacijenata sa purulentnim meningitisom i ostalih grupa dobijena je statistički značajna razlika ($p < 0,01$). Koncentracije laktata bile su u korelaciji sa vrednostima broja leukocita ($r = 0,78$, $p < 0,01$) i stepenu zastupljenosti polimorfonukleara u likvoru ($r = 0,80$, $p < 0,01$). Povećane koncentracije laktata ($> 2,95$ mmol/L) dobijene su kod svih pacijenta sa tuberkuloznim meningitism, a i razlika između ovih vrednosti i vrednosti dobijenih kod pacijenata sa virusnim meningitisom i meningealnim sindromom bila je statistički značajna ($p < 0,01$). Koncentracija laktata u likvoru pacijenata sa virusnim meningitisom i meningealnim sindromom nije se statistički značajno razlikovala ($p > 0,05$).

F78

**DIFFERENTIAL DIAGNOSTIC
SIGNIFICANCE IN DETERMINATION
LIQUOR LACTATE IN PATIENTS WITH
BACTERIAL AND VIRAL MENINGITIS**

N. Maksić¹, S. Nikolić²

¹*Institut of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

²*Institut of infective and tropic diseases,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

Liquor lactate concentration was determined in patients with purulent (15), tuberculous (6) and viral meningitis (25). Ten patients with meningeal syndrome with normal cytobiochemical liquor analysis comprised the control group. In all patients with purulent meningitis lactate values were increased ($>6,2$ mmol/L) and the highest values (>15 mmol/L) were determined in patients with concurrent development of respiratory insufficiency. Statistically analysed liquor lactates values in patient with purulent meningitis were significantly higher when compared to other examined groups of patients ($p < 0,01$). The lactate values correlated with total leukocyte count ($r = 0,78$, $p < 0,01$) and liquor polymorphonuclears rate ($r = 0,80$, $p < 0,01$). Increased lactate values ($> 2,95$ mmol/L) were also found in all patients with tuberculous meningitis and the difference between these values and values obtained in patients with viral meningitis and meningeal syndrome were statistically significant ($p < 0,01$). There was no difference between liquor lactate of patients with viral meningitis and those with meningeal syndrome ($p > 0,05$).

F79

**KORELACIJA DVOVALENTNIH JONA
SA KREATININOM U SERUMU
BOLESNIKA NA DIJALIZI**

N. Kostić¹, B. Gagić², S. Đorđević-Cvetković¹

¹*Biohemidska laboratorija,
Zdravstveni centar, Kruševac*

²*Apotekarska ustanova, Krusevac*

S napredovanjem hronične bubrežne insuficijencije (HBI) nastaju ireverzibilna oštećenja funkcionalnih jedinica nefrona i definitivni gubitak određenih funkcija bubrega, na primer ekskretorne. Uslед toga

F79

**CORRELATION BETWEEN TWO-VALENCE
IONS AND CREATININ IN SERUM
OF HAEMODIALYZED PATIENTS**

N. Kostić¹, B. Gagić², S. Đorđević-Cvetković¹

¹*Biochemistry Laboratory,
Health Center, Kruševac*

²*Pharmaceutical Institution, Kruševac*

Kidney loses some functions: for example excretion, when chronic kidney insufficient (CKI) progression. Disordered metabolism of two-valence ions, calcium and phosphate, in serum is consequence of

nastaje poremećaj metabolizma dvovalentnih jona u serumu, kalcijuma i fosfora. Ispitivano je 95 osoba oba pola. Osobe s normalnom funkcijom bubrega predstavljale su kontrolnu grupu ($N=20$), korelativne po polu i starosti s grupom bolesnika ($N=75$) sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom u terminalnoj fazi koji se leče ponovljenim hemodializama na Internom odeljenju bolnice u Kruševcu. Ispitanici su prema vrednostima kreatinina u serumu, razvrstani u tri grupe (grupa D1 kreatinin $<1000 \mu\text{mol/L}$; D2 od 1001 do 1500 $\mu\text{mol/L}$; D3 $>1501 \mu\text{mol/L}$). Cilj je bio da se ispita da li se sa porastom vrednosti kreatinina menjaju koncentracije dvovalentnih jona (kalcijuma i fosfora) u serumu bolesnika na dijalizi. Određivana je i aktivnost alkalne fosfataze koja zajedno sa ovim jonom odražava stanje koštanog metabolizma. Svi parametri ispitivani su gotovim komercijalnim testovima firmi: Bio Systems (urea kinetički), Elitech (kreatinin po Jaffe-u i kalcijum kolorimetrijski), Dialab (aktivnost alkaline fosfataze, IFCC), a fosfor vlastitim reagensima na biohemijskom analizatoru Targa 3000. Statističkom obradom uočava se značajno viši t za sve ispitivane parametre na nivou $p<0,01$. S porastom kreatinina fosfor pokazuje trend porasta ali upoređujući vrednosti između grupa bolesnika statistička značajnost postoji između grupe D1 i D3 ($t=3,2$; $p<0,01$), D2 i D3 ($t=3,08$; $p<0,01$). Hipokalcemija je, u odnosu na KG, prisutna u svim grupama na nivou značajnosti $p<0,01$, uravnotežena je sa tendencijom pada kod bolesnika sa HBI ($D1=2,07 \text{ mmol/L}$; $D2=2,03 \text{ mmol/L}$, $D3=1,99 \text{ mmol/L}$), a u negativnoj korelaciji je sa kreatininom u serumu. Alkalna fosfataza pokazuje statisticku značajnost u odnosu na KG ($t=0,01$; $p<0,01$). Između grupe značajna je samo kod D1 i D2 pa se zaključuje da ne prati porast kreatinina. Hipokalcemija, a posebno hiperfosfatemija, znak su definitivnog iscrpljenja nefrona i smatruju se jednim od osnovnih patofizioloških mehanizama.

that. Thus, we have examined 95 persons, both sexes. Control group ($N=20$) was compared with group patients ($N=75$) with CKI in terminal phase who were on therapy. There were three groups of patients compared by creatinin in serum (group D1 $<1000 \mu\text{mol/L}$; D2 1001–1500 $\mu\text{mol/L}$, D3 $>1501 \mu\text{mol/L}$). The aim of the study was to find if increase of creatinin affects concentration of Ca and PO_4 ions in serum of patients with CKI. Activity of AP was determinated, which with Ca and PO_4 reflected bone metabolism. All parameters were determinated by finished factory tests: Bio Systems (urea), Elitech (creatinin, Ca), Dialab (AP). Statistical analyses show higher t for all parameters for $p<0,01$. Creatinine tends to increase when phosphate increases. There were statistically significant differences between D1 and D3 group ($t=3,2$; $p<0,01$), D2 and D3 ($t=3,03$, $P<0,01$). Hypocalcemia was present in all groups in comparison to control group, it had tendency to decrease in patients with CKI ($D1=2,07 \text{ mmol/L}$; $D2=2,03 \text{ mmol/L}$ and $D3=1,99 \text{ mmol/L}$) and it was in negative correlation with creatinine in serum. AP show statistical significance in comparison to control group ($t=0,01$; $P<0,01$). It was statistically significant correlation between D1 and D2 group which means that activity of AP did not follow increase of creatinine. Hypocalcemia and hiperphosphatemia were sign of fatigue of nephrene. They are one of the basic patophysiological mechanism.

F80

UTICAJ INTRAVENTRIKULARNO INJEKTOVANOG KOLHICINA NA APTOZOZU ĆELIJA U HIPOKAMPALNOM GIRUSU PACOVA

B. Milojković¹, M. Rajković¹, A. Isaković²,
T. Kravić², V. Bumbasirević¹, B. Đuričić¹

¹Institut za biohemiju

²Institut za histologiju i embriologiju, Medicinski fakultet, Beograd

Kolhicin je agens koji se vezuje za tubulin i inhibira agregaciju mikrotubula. Direktna aplikacija ovog agensa u različite regije mozga izaziva neurotoksične efekte. U ovoj studiji je ispitivan efekat intra-

F80

THE EFFECT OF INTRAVENTRICULAR INJECTED COLCHICINE ON APOPTOSIS OF CELLS IN THE HYPOCAMPAL GYRUS OF RATS

B. Milojković¹, M. Rajković¹, A. Isaković²,
T. Kravić², V. Bumbasirević¹, B. Đuričić¹

¹Institute of Biochemistry

²Institute for Histology and Embryology,
University School of Medicine, Belgrade

Colchicine, a chemical that binds to tubulin and inhibits microtubule assembly, directly applied into various brain regions has neurotoxic effect. In this study we have investigated the effect of intraven-

ventrikulamo injektovanog kolhicina na ćelije hipokampalnog girusa. Wistar pacovi su anestezirani hloral hidratom. Kolhicin je injektovan uz pomoć stereotakščkog rama u levu bočnu komoru (2 mmol/L). Kontrolnim životnjama je injektovana identična zapremina veštačke cerebrospinalne tečnosti. Životinje su posle 48h anestezirane hloral hidratom, perfundovane kroz ascedentnu aortu 0.5% NaNO₂ a zatim je tkivo fiksirano 4% paraformaldehidom ili 2,5% glutaraldehidom. Mozak je brzo izdvajan iz lobanjske duplje i suspendovan u fiksativ (paraformaldehid ili glutaraldehid). Tkivo je zatim obradivano i kalupljeno u parafin (za svetlosnu mikroskopiju) ili EPON (za elektronsku mikroskopiju). Tip ćelijske smrti indukovane kolhicinom definisane detektovanjem jednolančanih prekida DNK, korišćenjem TUNEL tehnike. Veliki broj ćelija hipokampa pokazao je je TUNEL pozitivnu reakciju 48h nakon jednokratnog intraventrikularnog injektovanja kolhicina. Bojenjem hipokampalnih isečaka hematoksilin-eozinom pokazane su morfološke promene karakteristične za apoptozu. Elektronsko-mikroskopska analiza ultratankih isečaka takođe je detektovala promene tipične za apoptozu u ćelijama hipokampa i u ćelijama epidermala komora. Apoptoza nije započeta u isečcima mozga životinja iz kontrolne grupe, osim u zoni oko injekcione povrede. Ova studija je pokazala da intraventrikulamo injektovan kolhicin indukuje apoptozu u ćelijama hipokampa.

tricular colchicine on cells of hippocampal gyrus. Wistar rats were anaesthetised with Chloral hydrate and stereotactically injected with colchicine into the left lateral ventricle (2 mmol/L) 48h before sacrifice. Control animals were injected with the same volume of ACSF. For histochemistry, rats were anaesthetised with chloral hydrate, perfused through the ascending aorta with 0.5% NaNO₂, followed by fixation with 4% paraformaldehyde or 2.5% glutaraldehyde. The brains were rapidly dissected and immersed in the same fixative. The tissue was later processed and embedded in paraffin for light microscopy and EPON for electron microscopy. We have also characterized the mode of neuronal cell death, induced by colchicine by detecting single DNA strand breaks using the TUNEL technique. Many hippocampal cells, 48h after a single intraventricular injection of colchicine exhibited a positive TUNEL reaction. Hematoxylin-eosin staining of hippocampal sections reveals features fitting morphological criteria for apoptosis. Electron microscopy analysis of ultra thin sections also reveals features of apoptosis in these cells. Apoptotic morphology was also observed in the ependymal cells. No apoptotic cells were observed in brain sections obtained from control rats, except in the area around the place of injection. Our study shows that intraventricularly injected colchicine induced apoptosis of cells in hippocampus.

F81

DIJAGNOSTIČKA VREDNOST SRČANIH MARKERA U AKUTNOM KORONARNOM SINDROMU

R. Kovačević¹, N. Majkić-Singh², S. Ignjatović², R. Obrenović², M. Golubović², I. Obradović², V. Đurđević-Obradović², M. Dajak², G. Kartaljević², B. Žugić²

¹Dedinje Institut za kardiovaskularne bolesti, Beograd

²Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd

Biohemski markeri oštećenja miokarda imaju značajnu ulogu u dijagnostikovanju akutnog koronarnog sindroma, posebno kod bolesnika sa nespecifičnim kliničkim i EKG nalazom. U uzorcima krvi uzetih kod 20 bolesnika sa akutnim infarktom miokarda (AIM) i 6 bolesnika sa nestabilnom anginom pectoris na prijemu i 4, 8, 16, 24, 48 i 72 sata posle prijema u koronarnu jedinicu određivani su troponin T (cTnT) na ES300 analizatoru (Boehringer Mannheim), mioglobin (Mi) na Behring Elisa-Procesor II, ukupna CK i CKMB na Synchronu CX 5 analizatoru (Backman) i masena koncentracija CKMB (CKMBm) na IMX anal-

F81

DIAGNOSTIC ACCURACY OF CARDIAC MARKERS IN ACUTE CORONARY SYNDROME

R. Kovačević¹, N. Majkić-Singh², S. Ignjatović², R. Obrenović², M. Golubović², I. Obradović², V. Đurđević-Obradović², M. Dajak², G. Kartaljević², B. Žugić²

¹Dedinje Institute of Cardiovascular Diseases, Belgrade

²Institute of Medical Biochemistry, Clinical Centre of Serbia, Belgrade

Biochemical markers of myocardial injury have an important role in the diagnosis of acute coronary syndrome particular in patients with unspecific clinical symptoms and ECG findings. Serum samples from 20 patients with acute myocardial infarction (AMI) and 6 patients with unstable angina were obtained on admission and 4, 8, 16, 24, 48 and 72 hours after admission to the coronary care unit. We determined troponin T (cTnT) on ES300 analyzer (Boehringer Mannheim), myoglobin (My) on Behring Elisa-Procesor II, total CK and CKMB on Synchronu CX 5 analyzer (Backman) and CKMB mass (CKMBm) on IMX

izatoru (Abbott). U istraživanje su uključeni samo oni bolesnici koji su se javili u bolnicu 1-6 sati od pojave bola u grudima. Uzimani su uzorci krvi i u kontrolnoj grupi od 12 bolesnika sa ortopedskim operacijama. Za procenu dijagnostičke vrednosti ispitivanih parametara primenjena je ROC analiza. Bolesnici sa AIM: Izračunate površine ispod krivih ROC AUC za vremenski interval 4 sata posle prijema iznose: za cTnT = 0,9879; CKMBm = 0,9111; CKMB = 0,9278; za Mi = 0,8139; za CK = 0,6333. Za isti vremenski interval, pri »cutoff« vrednostima od 0,05 ng/mL za cTnT, 16,3 ng/mL za CKMBm i 16 U/L za CKMB nađene su odlične dijagnostičke efikasnosti (0,96 za cTnT, 0,93 za CKMBm i 0,89 za CKMB), osetljivosti (0,93 za cTnT, 0,93 za CKMBm i 0,93 CKMB), specifičnosti (1,00 za cTnT, 0,92 za CKMBm i 0,83 za CKMB), pozitivne i negativne prediktivne vrednosti koje se nalaze između 0,87 i 1,00 pri dijagnostikovanju AIM. Bolesnici sa anginom pectoris: na prijemu su bile normalne vrednosti za cTnT i CKMBm da bi porasle posle 16 sati od prijema. Srčani markeri cTnT, CKMBm i CKMB sa visokom dijagnostičkom tačnošću obezbeđuju ranu identifikaciju i potvrdu AIM. cTnT potvrđuje ili isključuje dijagnozu akutnog koronarnog sindroma 16 sati posle prijema.

analyzer (Abbott). This study included only patients who arrived in hospital within 1-6 hours after the onset of chest pain. Serum samples were obtained in control group of 12 patients who underwent orthopedic surgery. To access diagnostic accuracy of studied markers we used ROC analysis. Patients with AIM: calculated areas under curves ROC AUC 4 hours after admission were: for cTnT=0.9879; for CKMBm=0.9111; for CKMB=0.9278; for Mi=0.8139; for CK=0.6333. For the same time interval at cutoff values of 0.05 ng/mL for cTnT, 16.3 ng/mL for CKMBm and 16 U/L for CKMB we found excellent diagnostic efficacy (0.96 for cTnT, 0.93 for CKMBm, 0.89 for CKMB), sensitivity (0.93 for cTnT, 0.93 for CKMBm, 0.93 for CKMB), specificity (1.00 for cTnT, 0.92 for CKMBm, 0.83 for CKMB), positive predictive and negative predictive values ranged from 0.87 and 1.00 in diagnosis of AIM. Patients with unstable angina: on admission there were normal values also for CKMBm and cTnT but their values raised after 16 hours. Cardiac markers cTnT, CKMBm and CKMB with high diagnostic accuracy confirm early identification of AIM. cTnT confirm or exclude the diagnosis of acute coronary syndrome 16 hours after admission.

F82

REFERENTNI INTERVALI ZA JONIZOVANI MAGNEZIJUM I DRUGE SERUMSKE KATJONE MERENI SA AVL988-4 JONOANALIZATOROM

B. Radosavljević¹, N. Majkić-Singh²

¹Institut hemije u medicini, Medicinski fakultet,
Univerzitet u Beogradu,

²Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički Centar Srbije, Beograd

Sve veći klinički značaj određivanja koncentracije ionizovanog magnezijuma (iMg), jedine fiziološki aktivne forme, u širokom spektru patofizioloških stanja, nalaže da referentne vrednosti budu dobro definisane. Primena komercijalnih analizatora zasnovanih na jon-selektivnim elektrodama je jedina pouzdana metoda za rutinsko kliničko određivanje iMg u krvi. Prikazano istraživanje je realizovano sa jonoanalizatorom AVL988-4 (AVL List GmbH) koji koristi visoko precišćenu jonoforom ETH 7025 selektivnu za iMg. U serumu se koncentracije iMg i ionizovanog kalcijuma smanjuju sa povećanjem pH zbog njihove konkurenkcije sa vodoničnim jonima za vezivna mesta na albuminu i drugim proteinima. Ispitivanje je izvedeno sa 163 zdrava dobrovoljaca (113 muškaraca, 50 žena) starosti od 18 do 77 godina. Krv je sakupljena anaer-

F82

REFERENCE INTERVALS FOR IONIZED MAGNESIUM AND OTHER SERUM CATIONS MEASURED WITH AVL988-4 IONANALYZER

B. Radosavljević¹, N. Majkić-Singh²

¹Institute of Chemistry in Medicine, School of Medicine, University of Belgrade,

Institute of Medical Biochemistry,

²Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Yugoslavia

Growing clinical importance of determination of concentration of ionized magnesium (iMg), the only physiologically active form, in a broad spectrum of pathophysiological conditions, prescribes for the reference values to be well defined. The application of commercial analyzers based on ion-selective electrodes is the only reliable method for routine clinical determination of iMg in blood. The presented study was realised with the ionanalyzer AVL988-4 (AVL List GmbH) which used a highly purified ETH 7025 ionophore that is selective for iMg. In serum iMg and ionized calcium concentrations decrease with increased pH because of their competition with hydrogen ions for binding sites on albumin and other proteins. The examination was performed on 163 healthy volunteers (113 males, 50 females) aged ranging from 18

obno u plastične »Terumo« vakutejnere sa koagulacionim aktivatorom za serum. što pre su određivane koncentracije iMg kao i koncentracije kalcijumovih (iCa), natrijumovih (iNa) i vodoničnih jona (pH vrednost). Dobijene veličine za referentne intervale određene neparametarskom statističkom metodom kao i za srednje vrednosti su sledeće (izraženo u mmol/L): iMg (0,67 0,87, 0,76), iCa (1,10 1,36, 1,25), iCa (korigovano na pH 7,4) (1,15 1,35, 1,26), iNa (136,40 145,28, 141,28) i pH (7,34 7,59, 7,41). Korišćeni analizator se pokazao kao pouzdani uređaj za praćenje raznih fizioloških stanja. Ne postoji još nijedna preporučena standardizovana procedura određivanja iMg kao ni precizno definisana povezanost koncentracije iMg i koncentracija jona vodonika i proteina. Takođe, nije dovoljno ispitano postojanje interferencija. Svaki od tri danas postojeća tipa analizatora kao i brojni tipovi vakutejnera daju različite vrednosti za iMg ispitivanog uzorka. Literaturni izvori o iMg iznenađuju raznolikošću citiranih srednjih vrednosti, referentnih intervala i njihovih širina. Zbog svega iznesenog prikazani rezultati predstavljaju samo prvi pokušaj u ustanovljenju referentnih vrednosti naše populacije. Međutim, izvesni publikovani podaci, zatim činjenica da uočene niske koncentracije iMg u serumima sa visokim pH vrednostima nisu matematički korigovane i najposle neadekvatna ishrana našeg stanovništva, uzeto sve zajedno, sugerisu uži referentni opseg i nešto više koncentracije referentnih granica za iMg u odnosu na predstavljene vrednosti.

to 77 years old. Blood was collected anaerobically by plastic »Terumo« vacutainer blood collection tubes with clot activator for serum. As soon as possible iMg concentrations as well as concentrations of calcium (iCa), sodium (iNa) and hydrogen ions (pH value) were determined in serum. The obtained values for the reference intervals determined by nonparametric statistic method and for mean values were as follows (expressed in mmol/L): iMg (0.67-0.87, 0.76), iCa (1.10 1.36, 1.25), iCa (corrected at pH 7.4) (1.15 1.35, 1.26), iNa (136.40 145.28, 141.28) and pH (7.34 7.59, 7.41). The utilised analyzer proved to be a reliably device in monitoring of various physiological states. There is still no any recommended standardized procedure for iMg determination as well as accurately defined relationship between iMg concentration and concentrations of hydrogen ions and proteins. Also, the existence of interferences is insufficiently investigated. Each of three today existing types of analyzers, like numerous types of vacutainers, gives dissimilar values for iMg of the examined sample. Finally, literature sources about iMg surprise with diversity of cited mean values, reference intervals and their broadnesses. These results therefore present only the first attempt to establish the reference values of our population. However, some published data, secondly, the fact that noticed low iMg concentrations in serums of high pH values were not mathematically corrected and, in the end, nonadequate diet of our inhabitants, taken together, suggest the narrower reference range and some higher concentrations of reference limits for iMg than those presented here.

F83

UKUPNI ANTIOKSIDANTNI KAPACITET PRE I POSLE HEMODIJALIZE U ODNOSU NA KRVNU SLIKU

S. Pančevska¹, B. Dejanova²,
P. Dejanov³, V. Maleska²

¹Klinička biohemija

²Institut za fiziologiju

³Klinička nefrologija, Medicinski fakultet,
Skopje, Makedonija

Cilj ove studije bio je određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta (TAC) u plazmi u odnosu na hemokoncentraciju pacijenata posle hemodijalize (HD). Ispitano je 36 pacijenata podvrgnutih regularnoj HD. Oni nisu bili pušači i niko nije primao antioksidanse. Pacijenti su bili dijalizovani 3 puta nedeljno, 4 5 časova. Uzimani su uzorci krvi pre i po HD. Nivo TAC-a je određivan testom firme RANDOX (Krumlin, Vel. Britanija), a broj eritrocita, nivo hemoglobina i hematokrita uobičajenim metodama. Pre HD, nivo TAC-a je imao značajno višu vrednost,

F83

TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY BEFORE AND AFTER HEMODIALYSIS RELATED TO BLOOD COUNT

S. Panchevska¹, B. Dejanova²,
P. Dejanov³, V. Maleska²

¹Clinical Biochemistry Unit,

²Institute of Physiology,

³Clinic of Nephrology, Medical Faculty,
Skopje, Macedonia

The aim of the study was to determine whether the hemoconcentration in patients after hemodialysis (HD) session influence on plasma total antioxidative capacity (TAC) level. A number of 36 patients undergoing regular HD were examined. None of them smoked or received any antioxidants. The patients were dialyzed 3 times per week for 4 5 hours. The blood samples were withdrawn before and after HD. TAC level was determined by using the combination assay kit from RANDOX (Crumlin, Great Britain) and the ordinary tests were performed for red blood cell

$1,49 \pm 0,1$ mmol/L u poređenju sa vrednostima posle HD, $1,29 \pm 0,1$ mmol/L ($p < 0,001$). Pre HD dobijen je niži broj eritrocita, $3,2 \pm 0,6 \times 10^{12}/L$ u odnosu na njihov broj po HD, $3,88 \pm 0,9 \times 10^{12}/L$ kao i nivo hemoglobina, $10,0 \pm 1,9$ g/L v.s. $11,8 \pm 2,7$ g/L i hematokrita, $27,95 \pm 5,8$ % v.s. $33,0 \pm 8,1$ %. Zbog hemokoncentracije, očekivani nivo TAC-a bio je 1,49 mmol/L (u odnosu broja eritrocita po HD); očekivani nivo TAC-a bio je 1,75 mmol/l (u odnosu nivoa hemoglobina po HD); očekivani nivo TAC-a bio je 1,76 mmol/l (u odnosu hematokritske vrednosti po HD). Dobijeni rezultati pokazuju da postoji značajno niža TAS vrednost po HD koja je izraženija u poređenju sa brojem eritrocita, nivoom hemoglobina i hematokrita određivanih po HD. Ova ispitivanja mogu doprineti, osim za nivo TAC-a, i za korekciju drugih parametara, dobivenih posle HD, zbog postojeće hemokoncentracije.

count, hemoglobin and hematocrit level. Before the HD session TAC showed significantly higher level 1.49 ± 0.1 mmol/L compared to the level after the HD, 1.29 ± 0.1 mmol/L ($p < 0.001$). Lower red blood cell count was found before the HD, $3.2 \pm 0.6 \times 10^{12}/L$ compared to the count $3.88 \pm 0.9 \times 10^{12}/L$ and so were the level of hemoglobine, 10.0 ± 1.9 g/L v.s. 11.8 ± 2.7 g/L and hematocrit, 27.95 ± 5.8 % v.s. 33.0 ± 8.1 %. Due to hemoconcentration, expected TAC level was 1.49 mmol/L (related to red blood cell count after HD); expected TAC level was 1.75 mmol/L (related to hemoglobin level after HD); expected TAC level was 1.76 mmol/L (related to hematocrit level after HD). The obtained results show that significantly decreased TAC level after HD session was more expressed when compared with red blood cell count, hemoglobin and hematocrit level determined after HD. These findings may contribute, beside TAC level, also for other parameters correction, obtained after HD session, due to existing hemoconcentration.

F84

ODREĐIVANJE URINARNOG METANEFRINA, VANILMANDELIČNE KISELINE I 5-HIDROksi-INDOL SIRĆETNE KISELINE (5-HIAA) U ISKLJUČIVANU FEOHROMACITOMA

S. Pančevska, S. Šubeska-Stratova,
V. Arsova, T. Gruev

Institut za kliničku biohemiju,
Kliniku za endokrinologiju i bolesti metabolizma,
Medicinski fakultet, Skopje, Makedonija

Potvrđivanje ili isključivanje feohromacitoma kod suspektnih hipertenzivnih pacijenata može biti teško. Cilj ove studije bio je da se utvrdi koji je test bolji za isključivanje feohromacitoma. Vrednosti 24-časovnog urinarnog metanefrina i vanilmandelične kiseline bili su određeni pri ispitivanju grupa od 68 žena i 28 muškaraca sa klinički isključenim feohromacitom i normalnim vrednostima urinarnih kateholamina. Specifičnost oba testa bila je određena. Specifičnost urinarnog metanefrina iznosila je 97% kod žena i 90% kod muškaraca, što predstavlja 3% lažno pozitivnih rezultata kod žene i 10% kod muškaraca. Specifičnost vanilmandelične kiseline bio je 91% kod žena i 85% kod muškaraca, što čini 9% lažno pozitivnih rezultata kod žene i 15% kod muškaraca. Veći procenat lažno pozitivnih rezultata bio je utvrđen kod muškaraca, verovatno kao rezultat više izloženosti stresnim situacijama. Ovi rezultati potvrđuju da je urinarni metanefrin sigurniji test za aktivnost simpatikusa i može da bude korisnije sredstvo u isključivanju feohromacitoma od vanilmandelične kiseline. Pri određivanju

F84

DETERMINATION OF URINARY METANEPHRIN, VANILLYMANDELIC ACID AND 5-HIAA IN EXCLUDING PHEOCHROMOCYTOMA

S. Pančevska, S. Šubeska-Stratova,
V. Arsova, T. Gruev

Institute of Biochemistry, Clinic of Endocrinology
and Metabolic Disorders Medical Faculty,
Skopje, Macedonia

Confirming or excluding pheochromocytoma in suspected hypertensive patients may be difficult. The purpose of this study was to identify a test, for better excluding of pheochromocytoma. The 24-hour urinary metanephrine and vanillylmandelic acid values were determined in a group of 68 women and 28 men with clinically excluded pheochromocytoma and normal urinary catecholamine values. The specificity of both tests was determined. The specificity of the urinary metanephrine was 97 % with women and 90 % with men that means 3 % false positive results with women and 10 % in men. The specificity of vanillylmandelic acid was 91 % with women and 85 % with men that means 9 % false positive test results with women and 15 % with men. Higher percentage of false positive results in men was discovered probably as a result of a higher exposition to stressful events. These results suggest that urinary metanephrine is an accurate test of the peripheral sympathetic activity and could be a useful tool in excluding pheochromocytoma better than vanillylmandelic acid. Deter-

metanefrina nije potrebno određivati vanilmandeličnu kiselinu, zbog njegove niže specifičnosti u isključivanju feohromacitoma. Vrednosti 5-hidroksi-indol sirćetne kiseline, bili su određeni kod 68 žena i 28 muškaraca sa klinički isključenim feohromacitom. Vrednosti ispitanih parametra, 5-HIAA, nije pokazao značajnu korelaciju i povezanost.

mination of vanillylmandelic acid is not necessary when performing urinary metanephrine because of its lower specificity in exclusion of pheochromocytoma. 5-hydroxyindolacetic acid (5-HIAA) levels were determined with 68 women and 28 men with clinically excluded pheochromocytoma. The levels of examined parameter 5-hydroxyindolacetic acid (5-HIAA) didn't show significant correlation.

F85

TISSUE TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR AND PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR TYPE1 IN WOMEN DURING MENOPAUSE

P. Kandikjan, S. Petrowska,
B. Dejanova, D. Kocmanovski

*Institute of Physiology, Medical Faculty,
Skopje, R. Macedonia*

Cardiovascular diseases, especially coronary heart disease and cerebrovascular disease, are the leading causes of death, as well as morbidity and disability in middle-aged and older women. Hemostatic factors, such as high levels of plasma fibrinogen, plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) and tissue type plasminogen activator (t-PA) are associated with thromboembolic complications in menopausal women. The aim of this study was to determine the plasma levels of t-PA and PAI-1, and the concentration of follicle-stimulating hormone (FSH) and estradiol (E2) in the different phases of the reproductive life of women. We examined 58 women divided in 3 groups according some criteria (regularity of menstrual cycle and FSH serum concentration): control group ($n=22$) of women with regular menstrual cycle; premenopausal women ($n=15$) with irregular menstrual cycle and serum concentration of $FSH < 25 \text{ mIU/mL}$; menopausal women ($n=21$) at least 12 months after amenorrhoea, with serum concentration of $FSH > 25 \text{ mIU/mL}$. It was determined the FSH and E2 serum concentration as well as the t-PA and PAI-1 in 3 groups of women. Our results show statistical significant difference ($p < 0.01$) in t-PA and PAI-1 plasma level ($p < 0.001$), between control group and the group of premenopausal and menopausal women. There is no statistical significance in the t-PA and PAI-1 plasma level between premenopausal and menopausal women. These data suggest the significant increase of fibrinolytic inhibitors (PAI-1) in premenopausal and menopausal women, that could be an important risk factor of thromboembolic complications (deep venous thrombosis, cerebrovascular events, etc.) in this most vulnerable period of women's life.

E

**DIJAGNOSTIKOVANJE MALIGNIH STANJA
DIAGNOSTICS OF MALIGNANT DISORDERS**

E57

**UOČAVANJE GENOMSKE NESTABILNOSTI
U ORALNIM LEUKOPLAKIJAMA AP-PCR-om**

*N. Dedović¹, D. Trifunović¹, N. Tanić²,
T. Dramićanin¹, B. Dimitrijević¹*

¹*Institut za nuklearne nauke »Vinča«, Beograd*
²*Institut za biološka istraživanja »Siniša Stanković«,
Beograd*

Po definiciji Svetske zdravstvene organizacije (SZO), leukoplakija (LP) je beličasta lezija na sluzokoži usne duplje koja se po kliničkim i histopatološkim kriterijumima ne može svrstati ni u jednu drugu bolest. LP se dele u tri kategorije koje se razlikuju po stepenu maligne alteracije. Stepen njihove maligne alteracije je relativno nizak i kreće se od 0,2 - 17%, pri čemu najčešće transformišu u planocelularni karcinom koji čini 90% ukupnog broja oralnih karcinoma. Činjenica da LP mogu maligno da alteriraju navela je mnoge istraživače da ih svrstaju u prekancerozne lezije. Zbog toga je analizirana genomska nestabilnost DNK izolovane iz LP kao i prisustvo onkogenih mutacija u dva najčešće izmenjena gena u humanim tumorima p53 antionkogena i H-ras onkogena. Genomska nestabilnost analizirana je DNK profilisanjem (DNA fingerprint) normalnog i promjenjenog tkiva metodom AP-PCR. DNA fingerprint je sofisticirana metoda koja omogućava otkrivanje kvantitativnih (amplifikacija ili delecija DNA sekvenci) i kvalitativnih (mutacije) razlika između vrlo srodnih genoma (normalno izmenjeno tkivo). Poređenjem DNA profila analiziranih uzoraka, genomska nestabilnost otkrivena je kod 8 od 9 ispitanika (89%). S obzirom da više od 50% oralnih karcinoma ima razvijene lokalne ili udaljene metastaze u trenutku dijagnostikovanja, uočavanje promena na molekularnom nivou (utvrđivanje stepena genomske nestabilnosti), posebno u prekancerozama, bitan je faktor u prognozi ovih glaveno-vratnih tumora.

E57

**DETECTION OF GENOMIC INSTABILITY
IN ORAL LEUKOPLAKIA BY AP-PCR**

*N. Dedović¹, D. Trifunović¹, N. Tanić²,
T. Dramićanin¹, B. Dimitrijević¹*

¹*Institute of Nuclear Sciences »Vinča«, Belgrade*
²*Institute for Biological Research »Siniša Stanković«,
Belgrade*

Leukoplakia (LP), as defined by the WHO, is white lesion of oral mucosa which can not be clinically and pathologically classified as any other disease. LP could be divided into three categories that differ by propensity for malignant alteration. Frequency of malignant alteration is relatively low in the range of 0.2 - 17%. The most frequent being squamous cell carcinoma comprising 90% of oral malignancies. The fact LP have the propensity for malignant alteration inspired research to classify them as premalignant lesion. Along this line, we initiated genomic instability in DNA from LP and two most frequently mutated cancer genes p53 and RAS. Genomic instability (GI) was determined by DNA profiling (fingerprinting) of normal and paired tumor tissue by the AP-PCR approach. This method is known to be superior to conventional microsatellite mapping since it provides scanning of anonymous regions of the genome providing both qualitative and semi-quantitative data about chromosomal gains, losses and point mutations. Such DNA profiling revealed GI in 89% of the cases. Having in mind that more than 50% of oral carcinomas display metastatic disease upon identifying, detection of changes on molecular level (detection of genome instability level) especially in premalignant period, is important issue when prognosing oral carcinomas.

E58

**INAKTIVACIJA P16 I P53
ANTIONKOGENA U PLANOCELULARNIM
KARCINOMIMA USNE**

T. Dramičanin¹, N. Dedović¹, M. Dragić¹,
D. Trifunović¹, N. Tanić², B. Dimitrijević¹,
K. Krtolica¹

¹Institut za nuklearne nauke »Vinča«, Beograd
²Institut za biološka istraživanja »Siniša Stanković«,
Beograd

Osnovna epigenetska modifikacija kod sisara jeste metilacija citozina u promotorskom regionu koja vodi transkripcionoj inaktivaciji datog gena. Inaktivacija određenih gena hipermetilacijom, smatra se jednim od mehanizama vezanih za nastanak kancera. Hipermetilacija promotora na p16 genu dovodi do promena u ćelijskom ciklusu i do nekontrolisanog ćelijskog rasta. Podaci koji se mogu naći u literaturi ukazuju da veliki broj (oko 30%) tumora glavno-vratne regije ima metilovana CpG ostrva u promotoru p16 antionkogena. Metilacioni status ovog gena kod planocelularnih tumora usne duplje utvrđen je metodom metilaciono-specifičnog PCR-a (MSP). MSP se zasniva na amplifikaciji natrijum-bisulfitom modifikovane DNK specijalno kreiranim parovima prajmera. Jedan par prajmera komplementaran je targetu na kojem su nemetilovani citozini modifikovani u uracil, dok je drugi par specifičan za isti segment DNK sa citozinima koji ukoliko su metilovani ne podležu hemijskoj modifikaciji. MSP analizom modifikovane DNK, koja je izolovana iz 12 tumorskih uzoraka, u tri slučaja (25%) nađena je metilacija promotorskog regiona p16 gena. Istovremeno, za iste uzorce urađena je i PCR-SSCP analiza »vrućih« egzona (E5, E7, E8) p53 tumor supresor gena. Tačkaste mutacije detektovane su kod 3 analizirana uzorka (25%). U radu će biti diskutovana uloga ovih gena (p16, p53) u regulaciji ćelijskog ciklusa.

E59

**INACTIVATION OF p16 AND p53 TUMOR
SUPPRESSOR GENES IN ORAL
SQUAMOUS CELL CARCINOMA**

T. Dramičanin¹, N. Dedović¹, M. Dragić¹,
D. Trifunović¹, N. Tanić², B. Dimitrijević¹,
K. Krtolica¹

¹Institute of Nuclear Sciences »Vinča«, Belgrade
²Institute for Biological Research »Siniša Stanković«,
Belgrade

The main epigenetic modification in mammals is the methylation of cytosine nucleotide residue in promoter region which causes gene inactivation. Gene inactivation by hypermethylation is considered to be one of the mechanisms in cancerogenesis. Hypermethylation of p16 promoter causes abnormal cell cycling and uncontrolled cell growth. According to the literature, about 30% of head and neck cancers have methylated CpG islands in promoter region of p16 tumor suppressor gene. We determined methylation status of p16 in oral squamous cell carcinoma by methylation specific PCR (MSP). MSP is based on amplification of bisulfite modified DNA by specially created pairs of primers. One pair of primers is specific for unmethylated DNA where cytosines are converted to uracil, while the other pair of primers is complementary to the same target DNA with methylated cytosines which do not undergo chemical modification. We analyzed modified DNA of 12 samples by MSP. p16 promoter was methylated in three cases (25%). At the same time, PCR-SSCP of »hot exons« (E5, E7, E8) for p53 tumor suppressor gene were analyzed. Four, out of 12 analyzed samples (30%) had point mutations. We will discuss the role of p16 and p53 in regulation of cell cycle.

E59

**PCR-SSCP U OTKRIVANJU NASLEDNIH
OBЛИKA KANCERA: LI-FRAUMENI SINDROM
PRIKAZ SLUČAJA**

D. Trifunović¹, N. Tanić², N. Dedović¹,
T. Dramičanin¹, B. Dimitrijević¹

¹Institut za nuklearne nauke »Vinča«, Beograd
²Institut za biološka istraživanja »Siniša Stanković«,
Beograd

Kancer je stečeno genetičko oboljenje somatske ćelije. Mutacije u germinalnim ćelijama javljaju se u retkim slučajevima naslednih sindroma kao što su:

E59

**PCR-SSCP IN DETECTION OF INHERITED
FORMS OF CANCER: LI-FRAUMENI
SYNDROME CASE REPORT**

D. Trifunović¹, N. Tanić², N. Dedović¹,
T. Dramičanin¹, B. Dimitrijević¹

¹Institute of Nuclear Sciences »Vinča«, Belgrade
²Institute for Biological Research »Siniša Stanković«,
Belgrade

Cancer is acquired genetic disorder of somatic cell. Mutations in germ cell lines occurs only in rare cases of inherited syndromes such as: retinoblas-

retinoblastom, medularni tiroidni karcinom, Li-Fraumeni sindrom, itd. PCR-SSCP (polimorfizam konformacije jednolančanih fragmenata) tehnikom analiziran je p53 tumorski supresor gen u tkivu pacijenta sa prethodno dijagnostikovanim primarnim tumorom butne kosti i sekundarnim tumorom na plućima. U oba slučaja histopatološka analiza je ukazala na sarkom (*haemangiopericytoma malignum*). Kao negativnu kontrolu u PCR-SSCP analizi korišćena je DNK izolovana iz krvi pacijenta i DNK izolovana iz krvi zdrave osobe. Testom je dokazano prisustvo mutacija u 7. egzonu p53 gena u DNK izolovanoj iz isečka primarnog tumora. Mutaciju u istom egzonu p53 gena detektovali smo i u DNK iz krvi pacijenta, što dokazuje da je reč o naslednom sindromu. U analizu je naknadno uvrštena i DNK iz krvi oba roditelja. Rezultati su pokazali mutaciju u 7. egzonu i kod majke pacijenta. Iako vrlo jednostavna, PCR-SSCP metoda omogućuje otkrivanje retkih naslednih oblika kancera, kao što je u ovom slučaju Li-Fraumeni sindrom. Prednost ove metode ogleda se i u otkrivanju tačkastih mutacija koje se često javljaju kod naslednih sindroma, a koje se ne mogu otkriti klasičnim histopatološkim niti citogenetičkim analizama.

toma, medullary thyroid cancer, Li-Fraumeni syndrome, etc. We used PCR-SSCP to analyze p53 tumor suppressor gene in tissue of a patient previously diagnosed with primary sarcoma and secondary lung carcinoma. Negative control was blood of the patient and of healthy person. Our analysis showed mutation in exon 7 of p53 gene in primary tumor and the blood of the patient. The same mutation was found in the blood of a parent (mother). This results suggested that this was the case of inherited syndrome (Li-Fraumeni syndrome). PCR-SSCP, although very simple method, gives us the possibility to detect even rare cases of inherited cancers such as Li-Fraumeni. The main advantage of this method is detection of point mutations which are common for inherited syndromes and could not be detected by histopathologic or cytogenetic analyses.

E60

ULOGA γ -GLUTAMIL TRANSPEPTIDAZE I ALKALNE FOSFATAZE U PREOPERATIVNOJ PROCENI POSTOJANJA METASTAZA KARCINOMA BUBREŽNOG PARENHIMA

S. Cimbaljević¹, D. Dragičević²,
T. Simić¹, J. Mimić-Oka¹

¹Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Beograd

²Institut za urologiju i nefrologiju,
Klinički centar Srbije, Beograd

U ovom radu je ispitivan značaj određivanja aktivnosti γ -glutamil transpeptidaze (GGT) i alkalne fosfataze (AF) u preoperativnoj proceni postojanja metastaza kod bolesnika sa karcinomom bubrežnog parenhima. Aktivnost GGT i AF je određivana u serumu 22 bolesnika sa klinički dijagnostikovanim metastazama karcinoma bubrežnog parenhima (grupa I). Rezultati koji su dobijeni u ovoj grupi analizirani su prema mestu postojanja metastaza. Rezultati određivanja aktivnosti GGT i AF kod bolesnika sa metastazama upoređeni su sa enzimskim aktivnostima u grupi 23 bolesnika sa klinički lokalizovanim karcinomom bubrežnog parenhima (grupa II). U grupi bolesnika sa metastazama (grupa I), povećanje aktivnosti oba enzima zapaženo je kod 7 bolesnika. Sedam pacijenata sa metastazama imalo je samo povećanu aktivnost AF. Izolovano povećanje aktivnosti GGT zabeleženo je kod 2 bolesnika sa metastazama. Dva bolesnika sa

E60

THE ROLE OF γ -GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE AND ALKALINE PHOSPHATASE IN THE PREOPERATIVE METASTATIC EVALUATION OF RENAL CELL CARCINOMA

S. Cimbaljević¹, D. Dragičević²,
T. Simić¹, J. Mimić-Oka¹

¹Institute of Biochemistry, School of Medicine

²Institute of Urology, Clinical Centre of Serbia,
Belgrade, Yugoslavia

We evaluated γ -glutamyl transpeptidase (GGT) and alkaline phosphatase (AP) activities as indicators of metastatic disease in patients with renal cell carcinoma. The activities of GGT and AP in sera of 22 patients with clinically diagnosed metastatic renal cell carcinoma (Group I) were determined and analysed with respect to the site of metastases. These results were then compared to GGT and AP activities in 23 patients with clinically localized renal cell carcinoma (Group II). Among patients with metastases (Group I), an increase in both GGT and AP activities was observed in 7 patients. Seven patients with metastases had increased AP activity, only. Increased GGT activity only, was found in 2 patients. Two of the patients with clinically suspected metastases in lymphatic nodes and 4 patients with clinically proven metastases did not exhibit an increase in either GGT nor

klinički suspektnim metastazama u limfnim žlezdama i 4 bolesnika sa klinički dokazanim metastazama nisu imali povećanu aktivnost ni GGT niti AP. Kod bolesnika sa klinički lokalizovanim karcinomom parenhima bubrega (grupa II) istovremeno povećanje aktivnosti GGT i AF uočeno je kod 4 bolesnika, dok je jedan pacijent imao samo povećanu aktivnost AF. Za dva od ovih bolesnika kasnije je potvrđeno da imaju metastaze karcinoma bubrežnog parenhima, a preostala tri su imala tumore izuzetno velike mase. Aktivnost GGT povećana je u visokom procentu bolesnika sa karcinomom bubrežnog parenhima sa metastazama. Aktivnost GGT i AP je u opsegu normalnih vrednosti kod većine bolesnika sa lokalizovanim karcinomom bubrega. Određivanje aktivnosti GGT treba, zajedno sa određivanjem aktivnosti AF, uključiti u protokol za preoperativnu procenu postojanja metastaza kod bolesnika sa karcinomima bubrežnog parenhima.

AP enzyme activities. In patients with clinically documented localized renal cell carcinoma (Group II) the activities of both GGT and AP were increased in 4 patients, while AP activity only, was elevated in one patient. Two of these patients were later confirmed to have metastatic tumor, while other three had extreme tumor masses. GGT was increased in a large percent of patients with metastatic renal cell carcinoma, and it was normal in the majority of patients with localized renal cell carcinoma. We conclude that GGT as well as the AP should be included in the preoperative evaluation of patients with renal cell carcinoma.

E61

TIROKALCITONIN I KONCENTRACIJE UKUPNOG KALCIJUMA I FOSFATA U JEDNOM SLUČAJU MEDULARNOG TIROIDNOG KARCINOMA

V. Radonjić¹, R. Milunović², P. Radović²

¹Dom zdravlja Kotor

²Klinički centar Podgorica

Tirokalcitonin je hormon sintetisan u parafolikularnim ćelijama u tiroidnoj žlezdi (C ćelijama). Njegova aktivnost se zasniva na redukciji serumskog kalciijuma preko bubrega i koštanog mineralnog metabolizma. Kod medularnog karcinoma tiroidee postoji hiperplazija C ćelija i porast koncentracija ovog hormona. U ovom radu ispitana je uticaj visokih koncentracija tirokalcitonina na koncentracije ukupnog kalciijuma (Ca^{2+}) i fosfata (PO_4^{3-}) u serumu i urinu kod pacijentkinje obolele od medularnog karcinoma tiroidee. Pacijentkinji je dijagnostikovan medularni karcinom tiroidee u 29. godini života i ona je praćena tokom 5 godina. Urađena je totalna tireotomija i 4 operacije u recedivima, a sada je na supstitucionoj terapiji sa LT-4. Koncentracija tirokalcitonina određena je dvopolozajnim radioimunotestom (CIS-bio international), ukupni kalciijum kolorimetrijskom metodom, fosfati UV metodom i alkalna fosfataza (AP, EC 3.1.3.1.) kinetički na 30 °C (DEA-puffer) RANDOX reagensima. Koncentracije tirokalcitonina su varirale; posle hiruške operacije bile su niže, a pre operacije veoma visoke (od 219 do 2800 pg/mL). Koncentracija ukupnog kalciijuma bila je konstantno niža, prosečno 1,86 mmol/L i izlučivanje je sniženo prosečno

E61

THYROCALCITONIN AND CONCENTRATIONS OF TOTAL CALCIUM AND PHOSPHATE IN ONE CASE OF MEDULLARY THYROID CARCINOMA

V. Radonjić¹, R. Milunović², P. Radović²

¹Health Centre of Kotor

²Clinical Centre of Podgorica

Thyroc calcitonin (TC) is hormone synthesized by the parafollicular cells of the thyroid gland (C cells). Its activity is based on reduction of the plasma calcium by the kidneys and by bone turnover. The medullary thyroid carcinoma is characterized by hyperplasia of C cells and rise of basal concentrations of this hormone. We investigated the influence of high concentrations TC on the total calcium (Ca^{2+}) and inorganic phosphorous (PO_4^{3-}) value in plasma and urine at the patient that had become ill of medullary thyroid carcinoma. Patient was diagnosed medullary thyroid carcinoma at 29 years of age, and she has been followed for the period of 5 years. She was done total thyroidectomy and four surgeries after recidives. She was undergone replacement therapy with LT-4. Thyroc calcitonin concentrations were determined using two sites immunoradiometric assay (CIS bio international). Calcium was assayed by colorimetric method, inorganic phosphorous UV method and activities of total alkaline phosphatase (AP, EC 3.1.3.1) by kinetic method at 30 °C (DEA-buffer) by RANDOX reagent. TC concentrations varies, they are lower after surgery and they are very high before surgery (of 219 to 2800 pg/mL).

2,96 mmol u dnevnom urinu. Ukupna koncentracija fosfata u serumu bila je prosečno 1,41 mmol/L, izlučivanje u urinu 35,72 mmol u dnevnom urinu. Aktivnost ukupne AP bila je veoma snažena (51,33 U/L). Bolja korelacija je pronađena između koncentracija tirokalcitonina i koncentracija izlučenog kalcijuma ($r=0,79$), kao i izlučenih fosfata ($r=0,92$). Serumske koncentracije Ca^{2+} i PO_4^{3-} su konstantne, verovatno zahvaljujući homeostatskim mehanizmima u organizmu. Snažena aktivnost AP ide u prilog hipotezi da CT direktno inhibira osteoklaste i koštani promet.

Concentrations of total Ca^{2+} were constant by lower, median 1.86 mmol/L and secreting was reduced, median 2.96 mmol per day. Concentrations of PO_4^{3-} in plasma are median 1.41 mmol/L, secreted per day median 35.72 mmol in urine. Activities of total AP was very decreased (51.33 U/L). Better correlation was found between TC values and values secreted Ca^{2+} ($r=0.79$) and PO_4^{3-} ($r=0.92$). Values of plasma Ca^{2+} and PO_4^{3-} are kept constant in organism, probably due to the mechanism of homeostasis. The decrease activities of total AP support the hypothesis, that TC direct by reduces the osteoclasts cells and bone turnover.

E62

TUMORSKI MARKERI I ADENOSIN DEAMINAZA U SERUMIMA PACIJENATA SA PLEURALnim IZLJEVIMA MALIGNE I TUBERKULOZNE ETIOLOGIJE

J. Nikolić¹, M. Vučić²

¹Zavod za biohemiju,

Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci

²Klinika za plućne bolesti, Klinički centar, Banja Luka

Nedavno smo pokazali da određivanje karcinoembrionalnog antiga (CEA), karbohidratnog antiga 19-9 (CA 19-9) i aktivnosti adenozin deaminaze (adenozin aminohidrolaza, EC 3.5.4.4; ADA) u pleuralnim izljevima može da doprinese u diferencijalnoj dijagnostici pleuralnih izljeva tuberkulozne i maligne etiologije. Cilj ovog rada je bio da se provjeri da li kod istih pacijenata navedeni biohemski markeri određeni u serumima imaju isti dijagnostički značaj. Ispitivanje je obuhvatilo 30 bolesnika sa izljevom maligne etiologije i 30 bolesnika sa tuberkuloznim izljevom. Tumorski obilježivači (markeri) određivani su imunoradiometrijskim metodama, a katalitička aktivnost ADA-e spektrofotometrijskom metodom. Koncentracija AFP-a u serumima dvije grupe ispitanika nije se značajno razlikovala, dok su koncentracije CEA-a i CA 19-9 statistički značajno bile povišene ($p<0,001$) kod pacijenata s malignim bolestima pluća (kako primarnim, tako i metastatskim tumorima) u odnosu na pacijente s tuberkulozom. Nasuprot tome, katalitička aktivnost serumske ADA-e bila je značajno veća ($p<0,01$) kod pacijenata s tuberkuloznim izljevima. Rezultati ukazuju da se u diferencijalnoj dijagnostici pleuralnih izljeva maligne i tuberkulozne etiologije može koristiti određivanje koncentracije CEA i CA 19-9 u serumu, kao i aktivnosti serumske ADA-e.

E62

TUMOUR MARKERS AND ADENOSINE DEAMINASE IN THE SERA OF PATIENTS WITH HYDROTORAX OF MALIGNANT AND TUBERCULOUS ETIOLOGY

J. Nikolić¹, M. Vučić²

¹Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine,
University of Banja Luka

²Clinic for Lung Diseases, Clinical Centre, Banja Luka

We have shown recently that determination of carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) and adenosine deaminase (adenosine aminohydrolase, EC 3.5.4.4; ADA) activity in pleural effusions can contribute greatly to differential diagnostics of pleural effusions of tuberculous and malignant etiology. The aim of the present study was to find out whether the above listed biochemical parameters of the same patients determined in the blood sera could be of the same diagnostic value. Thirty patients with hydrotorax of malignant etiology and 30 with tuberculous hydrotorax were examined. Tumor markers were determined by immunoradiometric assays and catalytic ADA activity was estimated spectrophotometrically. Concentration of AFP in the sera of these two groups of patients was not significantly different, but the concentrations of both CEA and CA 19-9 were significantly higher ($p<0.001$) in the patients with malignant lung diseases (both in primary tumors and metastases) in comparison with those suffering from tuberculosis. Opposite to that, catalytic activity of serum ADA was significantly higher in the latter group ($p<0.01$). These results suggest that determination of serum concentrations of CEA and CA 19-9, as well as activity of serum ADA can help in differential diagnostics of both pleural effusions of malignant and tuberculous etiology.

E63

**SERUMSKI TUMORSKI MARKERI
CEA I CA 15-3 KOD PACIJENATA
S KARCINOMOM DOJKE**

*G. Prtenjak¹, V. Baltić¹, Lj. Miljković¹,
J. Pešić¹, V. Ristovski²*

¹Institut za onkologiju Sremska Kamenica

²Institut za kardiovaskulare bolesti, Sremska Kamenica

U praćenju toka bolesti kod pacijenata s karcinomom dojke koristi se nekoliko tumorskih markera od kojih su CEA i CA 15-3 verovatno najviše proučavani. Cilj ovoga rada bio je da prikaže ulogu CEA i CA 15-3 u postoperativnom toku pacijenata, odnos dobijenih rezultata u zavisnosti od starosti pacijenata, prisustva metastaza u limfnim žlezdama i stadijuma kliničke progresije bolesti po UICC (TNM klasifikacija). Analizirani rezultati određivani su u serumima 400 žena koje su operisane od karcinoma dojke na Institutu za onkologiju u Sremskoj Kamenici. Kao kontrolna grupa korišćeni su serumi 50 zdravih žena. Analize su urađene pomoću IMx MEIA (Abbott) testova i IMx analizatora. Referentna vrednost za CEA je do 3 ng/mL, a za CA 15-3 do 28 U/mL. Vrednosti oba tumorska markera dobijena u serumima zdravih žena nalaze se u okviru referentnih vrednosti i značajno su niži u odnosu na vrednosti pacijenata s karcinomom dojke ($p < 0.005$). Rezultati pokazuju da su vrednosti CEA i CA 15-3 značajno više u odnosu na stadijume bolesti ($p < 0.005$). Nije nađena statistički značajna korelacija CEA i CA 15-3 u odnosu na grupe žena u pre i postmenopausalnom periodu, kao ni kod grupa pacijenata s pozitivnim i negativnim aksilarnim limfnim žlezdam. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su CEA i CA 15-3 važni indikatori pacijentovog stanja i dobri tumorski markeri u praćenju progresije bolesti kod pacijenata s karcinomom dojke.

E63

**SERUM TUMOUR MARKERS
CEA AND CA 15-3 INPATIENTS
WITH BREAST CANCER**

*G. Prtenjak¹, V. Baltić¹, Lj. Miljković¹,
J. Pešić¹, V. Ristovski²*

¹Institute of Oncology Sremska Kamenica

²Institute of Cardiovascular Diseases, Sremska Kamenica

Several tumour markers are used to monitor breast cancer patients and CEA and CA 15-3 are probably the most studied. The aim of this study was to present the role of CEA and CA 15-3 in postoperative course of our patients and to show correlation of obtained results and patient's age, presence of metastases to the axillary lymph nodes, stage of the clinical progression by UICC (TNM classification). The analyzed results were determined in sera of 400 breast cancer patients, surgically treated at the Institute of Oncology Sremska Kamenica. Sera from 50 healthy women were used as control group. The analyses were done with IMx MEIA tests (Abbott) and IMx analyzer. The CEA limit value of the normal range was 3 ng/mL, and CA 15-3 was 28 U/mL. The values of both tumour markers found in the serum of healthy women remained within normal value and significantly lower comparing to the value at patients with breast cancer ($p < 0.005$). Further analysis of the results showed that the values CEA and CA 15-3 are significantly higher comparing to the stage of clinical progression ($p < 0.005$). No significant correlation was found comparing CEA and CA 15-3 values in women before and postmenopausal, and patients with metastases in lymph nodes and group without metastases. On the basis of the results of this study it may be concluded that CEA and CA 15-3 are important indicators of patients status and good tumour markers in the follow-up of breast cancer progression.

E64

**MOLEKULSKE VARIJANTE
PARAPROTEINA KOD BOLESNIKA
SA MALIGNIM MONOKLONALIM
GAMAPATIJAMA**

*T. Ristić¹, N. Milošević-Jovčić²,
V. Ilić², D. Ćirić², S. Petrović²*

¹Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar, Niš

²Institut za medicinska istraživanja, Beograd

Paraproteini su imunoglobulini koje sintetišu ćelije B ćelijske linije koje su podlegle neoplastičnoj transformaciji. Otkrivanje paraproteina u serumu i/ili

E64

**MOLECULAR VARIANTS
OF PARAPROTEINS IN PATIENTS
WITH MALIGNANT MONOCLONAL
GAMMAPATHIES**

*T. Ristić¹, N. Milošević-Jovčić²,
V. Ilić², D. Ćirić², S. Petrović²*

¹Center of Medical Biochemistry, Clinical Center, Niš

²Institute for Medical Research, Belgrade

Paraproteins are immunoglobulins that are produced by a single neoplastic clone of B cells. Detection, quantitative and qualitative analysis of parapro-

urinu bolesnika sa malignim monoklonskim gammalijama (MMG), njihova kvantifikacija i imunohemiska identifikacija izotipa teških i tipa lakih lanaca u njihovim molekulima važan su korak u postavljanju dijagnoze, praćenju toka bolesti i efekta terapije i prognozi određene MMG. Ovaj rad prikazuje rezultate ispitivanja 52 bolesnika sa MMG i pokazuje kolika je procentualna zastupljenost (najmanje 2,1%, najviše 56,5% od ukupnih serumskih proteina) i koncentracija paraproteina u serumu (opseg: 1,42 g/L 92,7 g/L) i u kojoj meri se ona odražava na koncentraciju ukupnih serumskih proteina, kakva je zastupljenost strukturno kompletnih (80,95%) i nekompletnih (19,05%) imunoglobulinskih molekula među paraproteinima, kao i zastupljenost pojedinih imunoglobulinskih klasa (62,7% IgG, 15,6% IgA, 21,56% IgM), tipova lakih lanaca (60,78% kappa, 39,22% lambda tipa), IgG podklasa (77,7% IgG1) i njihovih alotipova (svi IgG1 su bili G1m(f) alotipa) i bi(tri)klonskih kombinacija (23%), kakva je elektroforetska pokretljivost (90% beta2, gama1, gama2) i rastvorljivost paraproteina (5,78% krio- i 13,4% euglobulini) i kolika je i kakva je paraproteinurija. Rezultati su posebno značajni sa stanovišta molekulskih kurioziteta koji su otkriveni ovim ispitivanjima.

teins in serum and/or urine are essential in making the diagnosis, following the disease progression and monitoring the treatment response in patients with malignant monoclonal gammopathies (MMG). This study deals with the analysis of investigation of 52 patients with MMG. It shows: serum level of paraproteins can be very low as well as extremely high (ranged 1.42 g/L 92.7 g/L); 80.95% of paraproteins were in the form of structurally complete, intact molecules and 19.05% were free light chains; 62.7% of paraproteins with complete structure belonged to IgG, 15.6% to IgA and 21.6% to IgM class and had kappa (60.8%) or lambda (39.22%) light chain types; among IgG paraproteins the most frequent were those of IgG1 subclass with G1m(f) allotype; 23% of paraproteins comprised the bi(tri)clonal combinations; 90% of paraproteins were situated in beta2, gamma1 or gamma2 electrophoretic area; 19.18% of paraproteins had unusual solubility (cryo-, euglobulins); urinary paraproteins were found to be kappa or lambda light chains and in some cases the fragments of heavy chains. A number of molecular curiosities among paraproteins were revealed during the study.

D HORMONI HORMONS

D49

UTICAJ SUPSTITUCIONE TERAPIJE NA KONCENTRACIJE KALCIJUMA, FOSFATA, MAGNEZIJUMA I AKTIVNOST ALKALNE FOSFATAZE KOD DECE SA HIPOTIROIDIZMOM

V. Radonjić¹, Z. Jelić-Ivanović³,
V. Kalimanovska³, P. Radović², R. Milunović²

¹Dom zdravlja Kotor
²Institut za dečije bolesti KC Podgorica
³Farmaceutski fakultet, Beograd

Tiroidni hormoni su veoma važni za razvoj skeletnog sistema. Pretpostavlja se da je njihovo dejstvo posledica stimulacije, sekrecije i dejstva hormona rasta. Koncentracije kalcijuma, fosfata i magnezijuma u tesnoj vezi su sa remodeliranjem kosti, dok aktivnost alkalne fosfataze (AP) može da bude pokazatelj osteoblastične aktivnosti. Cilj ovog rada bio je ispitivanje uticaja supstitucione terapije na koncentracije Ca^{2+} , PO_4^{3-} , Mg^{2+} kao i aktivnost AP i eventualni poremećaj u rastu ove dece tokom detinjstva. Za poređenje je korišćena kontrolna grupa ($n=100$) zdrave dece uzrasta od mesec dana do 18 godina, podeljena u 5 starosnih podgrupa. Grupa dece obolele od hipotiroizma na supstitucionoj terapiji sa LT-4 ($n=56$) bila je iste starosne dobi. Da bi se procenio uticaj supstitucije na vrednosti ispitivanih parametara upoređene su vrednosti srednjih koncentracija, Studentovim t-testom grupe obolele dece sa supsticijom i kontrolne grupe. Neparametarskim χ^2 testom ispitana je mera slaganja između distribucija frekvenci, odnosno nivoa i kvaliteta razlika koncentracija ispitivanih parametara između kontrolne grupe i grupe dece posle dužeg primanja supstitucione terapije. Ca^{2+} i Mg^{2+} određeni su kolorimetrijskim testom, PO_4^{3-} UV metodom, a AP kinetički na 30 °C (DEA-pufer) RANDOX testovima. Aktivnost AP je niža u svim grupama, ali sa statističkom značajnošću u grupama od 1,1–5 god. ($p<0,05$) i 10,1–15 god. ($p<0,05$) u odnosu na kontrolnu grupu. Distribucija

D49

INFLUENCE OF THE REPLACEMENT THERAPY ON CONCENTRATIONS OF CALCIUM, PHOSPHATE, MAGNESIUM AND ACTIVITIES IN CHILDREN WITH HYPOTIROIDISM

V. Radonjić¹, Z. Jelić-Ivanović³,
V. Kalimanovska³, P. Radović², R. Milunović²

¹Health Centre of Kotor
²Institute of Infant's Disease,
Clinical Centre of Podgorica
³Pharmaceutical Faculty, Belgrade

The thyroid hormones are very important for development of skeleton system. Their effect are results of stimulating secretion and influence of growth hormone. Concentration of Ca^{2+} , PO_4^{3-} and Mg^{2+} are closely related with bone turnover, and activities alkaline phosphatase (AP, EC 3.1.3.1) could indicate osteoblastic activity. We have previously aimed the influence of the replacement therapy on concentrations of Ca^{2+} , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , and activities of AP and possible disturbance in growth of these children during chilhood. The control group of healthy infants ($N=100$) within 1 month to 18 years of age was separated in 5 age subgroup of age, and was taken for comparison. The group of ill infants patient with hypothyroidism under the replacement therapy with LT-4, ($N=56$) were classified into the same groups, as the healthy group. In order to evaluate the influence of the replacement therapy on values of investigated parameters, the values of median cocentractions of the parameters were compared between diseased children group and the control group, by use of Student t-test. Using X^2 test the correlation extent between frequency distribution were investigated, distinctions of concentrations evaluated parameters between the control group and the group of infants after longterm replacement therapy. Ca^{2+} and Mg^{2+} were determined by the colorimetric method, PO_4^{3-} UV method, and AP by kinetic method at 30 °C (DEA-buffer) by RANDOX reagent. Activities of AP is

frekvenci nižih, srednjih i viših vrednosti statistički je značajno izmenjena u svim starosnim grupama ($p<0,05$) u poređenju sa distribucijom u kontrolnoj grupi. Koncentracije Ca^{2+} i PO_4^3- posle supsticione terapije nisu statistički izmenjene ($p>0,05$), dok je distribucija frekvenci nižih, srednjih i viših vrednosti izmenjena u dve starije starosne grupe 10,1 15 god. ($p<0,001$) i 15,1 18 god. ($p<0,001$). Za Mg^{2+} statistički značajno više vrednosti nađene su u uzrastu 1,1 5 god. ($p<0,02$) i 10,1 15 god. ($p<0,001$) kada se očekuje najintenzivniji metabolizam kostiju. Distribucija nižih, srednjih i viših vrednosti značajno se razlikuje kod dece na supstituciji u odnosu na distribuciju u kontrolnoj grupi. Može se zaključiti da je kod dece sa hipotiroidizmom na supstituciji sa LT-4 koštani metabolizam i rast vremenski pomeren ka starijem uzrastu.

lower in all groups, but with statistical significance in groups 1.1 5 years ($p<0.05$) and 10.1 15 years ($p<0.05$) compared to the control group. The frequency distribution of lower, middle and higher values is statistically significantly changed in all groups of age ($p<0.05$) in comparison with the control group distribution. Concentrations of Ca^{2+} and PO_4^3- after the replacement therapy weren't statistically significantly changed ($p>0.05$), and the distribution frequency of lower, middle and higher values were changed in two older group of age 10.1 15 years ($p<0.001$) and 15.1 18 years ($p<0.001$) for both electrolytes. We got statistically significant higher values for Mg^{2+} at 1.1 5 years ($p<0.02$) and 10.1 15 years ($p<0.001$) when it is expected the most intensive bone metabolism. Distribution of lower, middle and higher values are significantly different at the children with replacement in comparison with the control group. We conclude that the bone metabolism at the children with hypothyroidism on replacement with LT-4 and their growth is temporally moved to the older age.

D50

KORELACIJA IZMEĐU SLOBODNOG TIROKSINA I ODNOSA T_4/TBG U DECE SA HIPOTIROIDIZMOM: UTICAJ SUPSTITUCIJE

V. Radonjić¹, Z. Jelić-Ivanović³,
V. Kalimanovska³, P. Radović², R. Milunović²

¹Dom zdravlja Kotor
²Institut za dečije bolesti KC Podgorica
³Farmaceutski fakultet, Beograd

Određivanju indeksa tiroksin/tiroksin vezni globulin (T_4/TBG) daje se veliki značaj, a posebno ima prednost u slučaju izmene koncentracija TBG, jer omogućava rasvetljavanje problematičnih slučajeva tireoidne disfunkcije. Ispitanici u ovoj studiji bila su zdrava deca ($n=100$) uzrasta od mesec dana do 18 godina i deca obolela od hipotireoidizma na supsticionej terapiji L-T4 ($n=56$) iste starosne dobi. Ispitan je i poseban serumski uzorak ($n=20$) dobijen iz pupčane vrpce zdravo rođene dece. Koncentracije hormonskih parametara slobodnog tiroksina (fT_4), ukupnog tiroksina (T_4), tiroid veznog globulina (TBG) određene su upotrebo DELFIA fluoroimunotesta. Prosečan odnos T_4/TBG u kontrolnoj grupi je iznosi 0,22, a u grupi dece na supstituciji 0,33 sa značajnom statističkom razlikom ($p<0,001$). Koeficijent korelacije u kontrolnoj grupi između fT_4 i T_4/TBG je $r=0,41$ sa jednačinom zavisnosti $y_x=0,131+$

D50

CORRELATION BETWEEN THE FREE THYROXIN AND THE THYROXIN/ THYROXIN-BINDING GLOBULIN RATIO IN CHILDREN WITH HYPOTHYROIDISM: REPLACEMENT INFLUENCE

V. Radonjić¹, Z. Jelić-Ivanović³,
V. Kalimanovska³, P. Radović², R. Milunović²

¹Health Centre of Kotor
²Institute of Infant's Disease,
Clinical Centre of Podgorica
³Pharmaceutical Faculty

Determination of thyroxin/thyroxin-binding globulin (T_4/TBG) has the great importance, which is priority, especially in the cases of TBG concentrations changes, because it enables elucidation of problematic cases thyroid dysfunction. Serum samples from $N=100$ euthyroid children (1 month to 18 years of age) were examined, and children with hypothyroidism with replacement therapy L-T4, $N=56$ of the same age. The sample taken from the healthy born infants umbilical cord ($N=20$) constitutes special group. Concentrations of hormones parameters, free thyroxin (fT_4), thyroxin (T_4) and thyroxin-binding globulin (TBG) were measured using DELFIA reagents. Average ratio T_4/TBG was 0.22 in the control group, and in the group of children with replacement therapy was 0.33 (p less than 0.001). Coefficient correlation in the control group between fT_4 and T_4/TBG was $r=0.41$ with dependence equation $y_x=0.131+$

0,0075x, što odgovara kriterijumu srednje zavisnosti između ove dve promenljive. Koeficijent korelacije u grupi dece na supstituciji iznosio je $r=0,84$ sa jednačinom zavisnosti $y=0,176+0,01030x$, što odgovara kriterijumu visoke korelacije. Bolji korelacioni odnos u grupi dece na supstituciji u odnosu na kontrolnu grupu verovatno je uzrokovani činjenicom da u kontrolnoj grupi deca u mlađoj starosnoj dobi imaju više koncentracije TBG, a u grupi dece na supstituciji ovo povećanje je suprimirano višim koncentracijama T_4 . Zadovoljavajuća korelacija između ove dve promenljive dokazuje da iz jedne promenljive možemo izračunati drugu s potpunom dijagnostičkom upotrebljivošću, što daleko pojeftinjuje dijagnostički postupak.

0.00075x, which corresponds to the criterion of the middle dependence between of these two variables. Corelation coefficient in the group of children with replacement therapy was $r=0.84$ with dependence equation $y=0.176+0.01030x$, which corresponds to the criterion of very high correlation. Better correlation ratio in the group of children with replacement therapy compared to the control group was probably caused by the fact that children of the younger group have higher concentrations TBG to 5 years, and this group is neutralized by higher concentrations of T_4 in the group of children with replacement therapy. Satisfactory correlation between these two variables proves that we can estimate one variable from the second one with complete diagnostic usage, which means the diagnostic procedure becomes a lot cheaper.

D51

ACTH ĆELIJE HIPOFIZE MUŽJAKA PACOVA POSLE TRETMANA OKTREOTIDOM

V. Milošević¹, B. Brkić², B. Filipović¹,
S. Velkovski³, V. Starčević³

¹Institut za biološka istraživanja

²KBC »Dr Dragiša Mišović«

³Institut za fiziologiju,
Medicinski fakultet, Beograd

Ispitivani su efekti intracerebroventrikularno (*i.c.v.*) ubrizganog analoga somatostatina, oktreetida, na rast adrenokortikalnih (ACTH) ćelija adenohipofize mužjaka Wistar pacova. Sve eksperimentalne životinje primile su tri doze po 1 µg Oktretida rastvorenog u 10 mL fiziološkog rastvora, svaki drugi dan. Kontrole su tretirane na isti način fiziološkim rastvorom. Pacovi su žrtvovani petog dana po poslednjoj primljenoj dozi oktretida. ACTH ćelije bojene su imunocito hemijski PAP metodom. Stereološkom analizom pokazano je da mužjaci pacova *i.c.v.* tretirani oktretidom, pokažu statistički značajno smanjenje ($p<0,05$) svih ispitivanih morfometrijskih parametra u odnosu na odgovarajuću kontrolu. Zapremina ćelija smanjena je ($p<0,05$) za 44%, jedara za 18%, a volumenska gustoća za 31% u poređenju sa odgovarajućom kontrolom. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da centralno aplikovan oktretid deluje inhibitorno na rast ACTH ćelija adenohipofize mužjaka pacova.

D51

ACTH CELLS IN THE PITUITARY OF MALE RATS AFTER TREATMENT WITH OCTREOTIDE

V. Milošević¹, B. Brkić², B. Filipović¹,
S. Velkovski³, V. Starčević³

¹Institute for Biological Research

²Clinical Centre »Dr Dragiša Mišović«

³Institute of Physiology, School of Medicine,
University of Belgrade

The effects of the intracerebroventricular (*i.c.v.*) application of somatostatin analogue, Octreotide, on growth pituitary adrenocorticotropes (ACTH cells) were examined in adult male Wistar rats. The animals were subjected to *i.c.v.* administration of three 1 µg doses Octreotide dissolved in 10 µL saline every second day. Controls were treated in the same way with the same volume of saline only. Five days after the last injection, the animals were sacrificed. ACTH-producing cells were studied using the peroxidase-antiperoxidase (PAP) immunohistochemical procedure. Stereological analyses showed that *i.c.v.* treatment males with Octreotide significantly decreased ($p<0.05$) all morphometric parameters in comparison with corresponding control animals. The volume of ACTH cells and their nuclei were decreased by 44% and by 18% respectively compared to the controls. The volume of density was also significant decreased ($p<0.05$) by 31% in comparison with corresponding controls. These findings suggest that centrally administered somatostatin analogue Octreotide reduced growth of ACTH cells in pituitary of male rats.

D52

**KARAKTERISTIKE
RADIOIMUNOLOŠKOG TESTA ZA
ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE TBG-a
(RIA hTBG, INEP)**

I. Petrović, S. Savin, D. Cvejić

*Institut za primenu nuklearne energije
– INEP, Zemun*

Tiroksin-vezujući globulin (TBG) glavni je transportni protein tireoidnih hormona u cirkulaciji. Direktno određivanje koncentracije ovog proteina je važno jer se ona menja u određenim kliničkim stanjima, što se odražava na nivoj ukupnih a donekle i slobodnih tireoidnih hormona. U INEP-ovojoj laboratoriji formiran je radioimmunoški test za određivanje koncentracije TBG-a i ispitane su njegove karakteristike. Osetljivost testa je veoma visoka i iznosi 2,0 mg TBG/L. Velika reproducibilnost ovog testa ogleda se u niskim koeficijentima varijacije (< 5%) za izračunate preciznosti određivanja koncentracije TBG-a u tri uzorka seruma kako u seriji tako i između serija. Nespecifično vezivanje obeleženog antigena veoma je nisko i ne prelazi 2% ukupnog vezivanja. Linearnost testa pokazana je u opsegu koncentracija standardne krive (0-80 mg/L) poređenjem koncentracija očekivanih i izmerenih vrednosti TBG-a u razblaženjima seruma ($r = 0.999$). Pokazano je da povećano prisustvo lipida u serumu utiče na tačnost merenja koncentracije TBG-a ($r = 0.767$). Ispitivanje stabilnosti RIA hTBG testa u funkciji vremena, određivanjem koncentracije TBG-a u različitim uzorcima seruma, pokazalo je da ovaj test može da se koristi u roku od 32 dana od momenta jodovanja TBG-a ($F < F_{tab}^{0.05}$, $F_{0.05}^{7,32} = 2.31$). Tačnost testa je ispitana korišćenjem međunarodnih kontrola za standardizaciju Lyphochek Immunoassay Controls (Bio-Rad). Poređenjem vrednosti koncentracija TBG-a, koje su određene u nepoznatim uzorcima seruma ($n = 25$) sa RIA hTBG testom i Kodak Amerlite TBG Assay, nađen je značajan stepen korelacije ($r = 0.84$). Dobijeni rezultati ukazuju da je RIA hTBG precizna, osetljiva i pouzdana metoda za određivanje koncentracije TBG-a u humanom serumu.

D52

**THE PROPERTIES
OF A RADIOIMMUNOASSAY
FOR THE QUANTITATION OF TBG
(RIA hTBG, INEP – ZEMUN)**

I. Petrović, S. Savin, D. Cvejić

*Institute for the Application of Nuclear Energy
– INEP, Zemun*

Thyroxine-binding globulin (TBG) is the major transport protein for thyroid hormones in the circulation. Direct determination of its concentration is important because changes occur in certain clinical conditions which affect total and, to some degree, free thyroid hormone concentrations. A radioimmunoassay for the quantitation of TBG was prepared and characterised. The sensitivity is favourable (2.0 mg TBG/L). The highly satisfactory precision of the assay is reflected in the low coefficients of variation (less than 5%) found for both intra- and inter-assay precision at three concentrations. Non-specific binding of the labelled antigen is very low (less than 2% of the total binding). Linearity of the assay within the range of the standard curve (0-80 mg/L) was shown by comparing the expected and measured concentrations of TBG in serial dilutions of sera ($r = 0.999$). TBG could not be measured accurately in lipemic sera ($r = 0.767$). Reproducibility was checked by determining the concentration of TBG in samples of sera over a period of 32 days from the day of antigen iodination and ($F < F_{tab}^{0.05}$, $F_{0.05}^{7,32} = 2.31$). The assay was standardised for accuracy using Lyphochek Immunoassay Controls (Bio-Rad). A significant correlation was obtained between RIA hTBG and the Kodak Amerlite TBG Assay ($r = 0.84$; $n = 25$). These results show that RIA hTBG is a sensitive, precise and reliable method for determination of TBG in human sera.

D53

**VREDNOSTI T₄/TBG INDEKSA U SERUMU
ZDRAVIH I OSOBA SA POREMEĆAJIMA
FUNKCIJE ŠTITASTE ŽLEZDE:
KORELACIJA SA KONCENTRACIJOM FT₄**

I. Petrović¹, S. Savin¹, S. Spasić², D. Cvejić¹,
N. Paunković³, J. Paunković³

¹Institut za primenu nuklearne energije
– INEP, Zemun

²Institut za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu

³Služba za nuklearnu medicinu,
Medicinski centar Zaječar

Za evaluaciju funkcionalnog stanja tireoidee danas se, pored određivanja koncentracija ukupnih tireoidnih hormona (T_4 i T_3), određuje i slobodna, fiziološki aktivna frakcija. Pored direktnog određivanja koncentracije slobodnih hormona (FT_4 i FT_3), za procenu slobodne frakcije koristi se i T_4/TBG indeks, koji se izračunava iz koncentracija ukupnog T_4 i TBG -a. U ovoj studiji određene su koncentracije TBG -a, ukupnog T_4 , FT_4 i izračunat je T_4/TBG indeks kod zdravih, eutireoidnih osoba ($n = 102$; 45 muškaraca i 57 žena) kao i kod pacijenata sa poremećajima funkcije štitaste žlezde: hipotireozom ($n = 33$) i hiper-tireozom ($n = 66$). Određeni su opsezi referentnih vrednosti za svaki parametar. Dobijene vrednosti T_4/TBG indeksa kod zdravih su u opsegu od 2,1 do 4,4. Pokazano je da su koncentracije TBG -a kod žena nešto više, ali da se ne razlikuju značajno ($p > 0,05$) u odnosu na mušku populaciju zdravih. Koncentracije TBG -a u hipotireozi su značajno više ($p < 0,05$) dok su kod hiper-tireoidnih osoba nešto niže, ali se ne razlikuju značajno od eutireoidnih vrednosti ($p > 0,05$). Vrednosti T_4/TBG indeksa snižene su u hipotireozi (0,5 2,2), a povišene u hiper-tireozi (4,7 13,1). Poređenjem vrednosti T_4/TBG indeksa i koncentracije FT_4 kod svih ispitanika dobijen je značajan stepen korelacije ($r = 0,93$). Utvrđene su referentne vrednosti za T_4/TBG indeks kod eutireoidnih osoba i osoba sa hipo i hiperfunkcijom štitaste žlezde. Praktična provera primenljivosti T_4/TBG indeksa u ispitivanju funkcije štitaste žlezde pokazana je korelacijom sa FT_4 .

D53

**THE T₄/TBG RATIO IN HEALTHY SUBJECTS
AND IN PATIENTS WITH DISORDERS
OF THYROID FUNCTION: CORRELATION
WITH FT₄ CONCENTRATIONS**

I. Petrović¹, S. Savin¹, S. Spasić², D. Cvejić¹,
N. Paunković³, J. Paunković³

¹Institute for the Application of Nuclear Energy
– INEP, Zemun

²Institute for Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Belgrade

³Nuclear Medicine,
Medical Center Zaječar

Nowadays, besides the determination of total thyroid hormone (T_4 and T_3) concentrations, it is important to measure the proportion of free, physiologically active, hormone for the proper evaluation of thyroid function. The proportion of free hormone can be estimated by direct measurement of free hormone concentrations (FT_4 and FT_3) and by the T_4/TBG ratio which is calculated from the concentrations of total T_4 and TBG . This study concerns the determination of TBG , total and free T_4 and T_4/TBG ratio in sera from healthy, euthyroid persons ($n = 102$; 45 males and 57 females) as well as sera obtained from patients with thyroid function disorders: hypothyrosis ($n = 33$) and hyperthyrosis ($n = 66$). The reference range for each parameter was determined. The values obtained for T_4/TBG ratio in healthy subjects varied from 2.1 to 4.4. It was shown that TBG concentrations in females were slightly higher than those in males but the elevation was not statistically significant ($p > 0.05$). Significantly higher levels of TBG were found in hypothyrosis ($p < 0.05$), while they were slightly but not significantly lower in hyperthyrosis ($p > 0.05$) compared with euthyroid subjects. The values for T_4/TBG ratio were lower in hypothyrosis (0.5 2.2) and elevated in hyperthyrosis (4.7 13.1). A significant correlation was obtained between the values of T_4/TBG ratio and FT_4 in all examined subjects ($r = 0.93$). The reference ranges of T_4/TBG ratio in euthyroid subjects and in patients with hypothyrosis and hyperthyrosis were determined. The correlation of T_4/TBG ratio with FT_4 showed the practical usefulness of this ratio in assessment of thyroid function.

D54

**DIJAGNOSTIČKA OSETLJIVOST,
SPECIFIČNOST I PREDIKTIVNOST
ODREĐIVANJA UKUPNOG T₄, T₄/TBG
INDEKSA I FT₄ U EVALUACIJI
TIREOIDNOG STATUSA**

I. Petrović¹, S. Spasić², S. Savin¹, D. Cvejić¹,
N. Paunković³, J. Paunković³

¹Institut za primenu nuklearne energije – INEP, Zemun

²Institut za medicinsku biohemiju,

Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu

³Služba za nuklearnu medicinu,

Medicinski centar Zaječar

Određivanje koncentracije ukupnog T₄ u serumu predstavlja jednu od osnovnih laboratorijskih analiza za kliničku dijagnostiku poremećaja funkcije štitaste žlezde. Često se dešava da ova analiza nije dovoljna pa se dopunjuje određivanjem slobodne frakcije tireoidnih hormona: FT₄ i/ili T₄/TBG indeksa. Za kliničku praksu je veoma važno da se utvrdi kakva je osetljivost, specifičnost i prediktivnost određivanja ovih parametara za dijagnozu hipotireoze i hypertireoze. Ukupni T₄, T₄/TBG indeksi i FT₄ određeni su kod pacijentata sa hipotireozom (n = 33), hypertireozom (n = 66) kao i u grupi zdravih, eutireoidnih osoba (n = 102). Pokazano je da za dijagnozu hipotireoze najveću osetljivost ima FT₄ (97%). Osetljivost određivanja T₄/TBG indeksa je visoka (85%) ali ipak značajno niža od FT₄ ($t > t_{tab}$), dok je najmanje osetljiv parametar ukupni T₄ (64%). Specifičnosti T₄/TBG indeksa i FT₄ vrlo su visoke (96% odnosno 99%), dok je kod ukupnog T₄ značajno niža (46%). Najveću pozitivnu prediktivnu vrednost (PPV) ima FT₄ (97%), zatim T₄/TBG indeks (88%) a najnižu ukupni T₄ (28%). Poređenjem negativnih prediktivnih vrednosti (NPV) pokazano je da nema značajne razlike između FT₄ (99%) i T₄/TBG indeksa (95%), dok je vrednost značajno niža za ukupni T₄ (80%) ($t > t_{tab}$). Za dijagnozu hypertireoze pokazano je da sva tri parametra imaju maksimalnu osetljivost, specifičnost i prediktivnost (99% ili 100%). Utvrđeno je da T₄/TBG indeks i FT₄ imaju veoma dobre karakteristike, mada se prednost FT₄ ogleda u većoj osetljivosti i PPV pa je zato bolji parametar za dijagnozu hipotireoze, dok određivanje ukupnog T₄ nije analiza izbora. Za dijagnostiku hypertireoze svaki od ova tri parametra može da se koristi sa podjednakom sigurnošću.

D54

**DIAGNOSTIC SENSITIVITY, SPECIFICITY
AND PREDICTIVE VALUE OF TOTAL T₄,
T₄/TBG RATIO AND FT₄ IN THE
EVALUATION OF THYROID STATUS**

I. Petrović¹, S. Spasić², S. Savin¹, D. Cvejić¹,
N. Paunković³, J. Paunković³

¹Institute for the Application of Nuclear Energy
– INEP, Zemun

²Institute for Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Belgrade

³Nuclear Medicine,
Medical Center Zaječar

The determination of serum total T₄ concentration is one of the fundamental laboratory analyses for clinical diagnosis of thyroid function disorders. However, very often it is not sufficient because the proportion of free hormone should be known by determining FT₄ and/or the T₄/TBG ratio. For clinical practice it is very important to establish the sensitivity, specificity and predictive value of these tests in the diagnosis of hypothyrosis and hyperthyrosis. Total T₄, T₄/TBG ratio and FT₄ were determined in patients with hypothyrosis (n = 33), hyperthyrosis (n = 66) and in healthy, euthyroid subjects (n = 102). For the diagnosis of hypothyrosis the highest sensitivity was found for FT₄ (97%). The sensitivity of T₄/TBG ratio was also high (85%) but significantly less than for FT₄ ($t > t_{tab}$), while the least sensitive parameter was total T₄ (64%). The specificities of T₄/TBG ratio and FT₄ were very high (96% i.e. 99%), while it was significantly lower for total T₄ (46%). The highest positive predictive value (PPV) was given by FT₄ (97%), then T₄/TBG ratio (88%) and lastly total T₄ (28%). It was shown that the negative predictive values (NPV) were not significantly different between FT₄ (99%) and T₄/TBG ratio (95%), but total T₄ had a significantly lower NPV (80%) ($t > t_{tab}$). All three parameters were found to have excellent sensitivity, specificity and predictive values (99% or 100%) for the diagnosis of hyperthyrosis. Thus, both T₄/TBG ratio and FT₄ had very good characteristics, but FT₄ is the better test for the diagnosis of hypothyrosis because of the more favourable sensitivity and PPV, whereas determination of total T₄ was of little value. Each of these three parameters could be used with equal certainty in the diagnosis of hyperthyrosis.

D55

**ABNORMALNOSTI TIREOIDNIH
HORMONA KOD PACIJENATA
SA BUBREŽNOM INSUFICIJENCIJOM**

S. Đorđević-Cvetković, S. Milojević

Biohemijska laboratorija, Urološko odeljenje
Zdravstveni centar Kruševac

Endokrini poremećaji kod pacijenata na dijalizi predmet su mnogih istraživanja. Interpretacija dobijenih rezultata često nije jednostavna jer je endokrini sistem kod pacijenata na dijalizi poremećen na suptilan i kompleksan način. Kliničke manifestacije ovih endokrinskih poremećaja različite su u učestalosti i težini a neki koji su praćeni značajnim biohemijskim abnormalnostima nemaju poseban klinički značaj. Cilj ovog rada bio je da se prati metabolizam tireoidnih hormona kod pacijenata sa bubrežnom insuficijencijom. Ispitano je 40 bolesnika na hemodializu, prosečne starosne dobi 51 godina (20-68), koji se dijaliziraju u proseku 56 meseci, tri puta nedeljno po 5 časova, pomoću više tipova dijalizatora. U okviru tireoidnog statusa određivan je: tiroksin (T_4), trijod-tironin (T_3) i tireostimulirajući hormon (TSH) imuno-hemijskim postupkom (ELISA) Human-ovim testovima. T_4 je izražavan u nmol/L, T_3 u ng/dl, a TSH u $\mu\text{mol}/\text{L}$. Rezultati pokazuju da su kod pacijenata na dijalizi koncentracije T_4 bile normalne ili snižene ($p > 0,05$), dok su vrednosti T_3 bile značajno snižene ($p < 0,05$) u odnosu na kontrolnu grupu. Koncentracije TSH su bile normalne u odnosu na referentne vrednosti. Bolesti bubrega koje su praćene poremećajem u metabolizmu proteina, praćene su i smanjenjem sinteze i koncentracije TBG. Zato se sinteza i koncentracija tiroksina u krvi smanjuje, ali samo u izraženim slučajevima. I konverzija T_4 u T_3 može biti smanjena pa se i koncentracija T_3 smanjuje. Klinički, i pored smanjenih vrednosti T_4 i T_3 , većina pacijenata na dijalizi je eutireočna sa normalnim vrednostima TSH. Dodavanje tireoidnih hormona u cilju korekcije niskih vrednosti tireoidnih hormona u serumu, ne treba sprovoditi jer mogu nastati značajni katabolički poremećaji.

D56

**STRESOGENI UTICAJ RADNE SREDINE
NA NIVO HORMONA ŠITNE ŽLEZDE**

S. Stoilković, M. Popović

Zdravstveni centar Vranje

Veliki broj pacijenata koji dolaze iz pogona Yumko imaju povećani nivo hormona štitne žlezde. To je bio razlog da se ispita kod zaposlenih da li postoji

D55

**THYROID HORMONES
ABNORMALITIES AT PATIENTS
WITH RENAL INSUFFICIENCY**

S. Đorđević-Cvetković, S. Milojević

Biochemical Laboratory, Department of Urology
Health Care Center of Kruševac

Endocrine disorders at patients on dialysis are subject of many researches. Interpretation of obtained results is not always easy, as the endocrine system at patients on dialysis is disordered in a sensitive and complex way. Clinical manifestation of these endocrine disorders is different per frequency and gravity, and some of them, that have been followed by significant biochemical abnormalities do not have a special clinical importance. The aim of this study is to determine the thyroid hormones metabolism at patients with renal insufficiency. It has been tested 40 patients on hemodialysis, average of 51 years (20-68), dialyzed mostly 56 months, three times a week per 5 hours, using a different dialysators. Within thyroid status it has been determined as following: thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3) and thyrotropin (TSH) by means of immunochemical procedure (ELISA) of Human's tests. T_4 is expressed in nmol/L, T_3 in ng/dl, and TSH is expressed in $\mu\text{mol}/\text{L}$. The results show that concentration of T_4 at patient on dialysis is normal or lower ($p > 0,05$), but values of T_3 are significantly lower ($p < 0,05$) referring to the control group. The concentration of TSH is normal regarding to the referring values. Kidney diseases followed by disorders in metabolism of albumen, are also followed by reducing of synthesis and concentration of TBG. For that reason synthesis and concentration of thyroxine in blood is reduced, but only at distinguished cases. The conversion of T_4 in T_3 can be also reduced so that the concentration of T_3 is reduced, too. Clinically, besides reduced values of T_4 and T_3 , most patients on dialysis are euthyreotic with normal TSH values. Adding thyroid hormones in order to correct lower values of thyroid hormones in serum should not be done, because significant catabolic disorders can develop.

D56

**EFFECT OF WORKING ENVIRONMENT
STRESS ON THE LEVEL OF THYROID
HORMONS**

S. Stoilković, M. Popović

Health centre, Vranje

Huge number of patients with increased level of thyroid hormones come from factory Yumco for a professional help, which was the reason to examine if

stresogeni uticaj buke na štitnu žlezdu i njenu aktivnost. Cilj je bio da se utvrde štetni efekti na zaposlene zavisno od dužine njihove izloženosti buci. Ispitivani su pacijenti koji do tada nisu evidentirani ($n=125$), a kontrolnu grupu su činili radnici Yumko-a koji ne rade u uslovima buke ($n=75$). Takođe, ispitivan je i stepen oštećenja u zavisnosti od dužine radnog staža: grupa radnika podeljena je na: I grupa 38 radnika sa stažom do 10 godina; II grupa 47 radnika sa stažom do 20 godina i III grupa 38 radnika sa stažom preko 20 godina. Nivo hormona T_3 i TSH ispitivan je MEIA metodom, a T_4 FPIA metodom na aparatu ABBOTT IMx. U prvoj grupi srednje vrednosti iznosile su za $T_4=134,8$ nmol/L, u drugoj $T_4=128,4$ nmol/L, a u trećoj $T_4=141,0$ nmol/L. Srednja vrednost T_4 za kontrolnu grupu iznosila je $T_4=120,6$ nmol/L. Za T_3 srednje vrednosti bile su u prvoj grupi $T_3=2,15$ nmol/L, u drugoj $T_3=1,98$ nmol/L i u trećoj $2,28$ nmol/L. Srednja vrednost za T_3 u kontrolnoj grupi iznosila je $T_3=1,90$ nmol/L. Srednje vrednosti za TSH iznosile su u prvoj grupi $TSH=3,7$ μ J/L, u drugoj $TSH=3,32$ μ J/L. Rezultati su statistički obrađeni i nije nađena statistički značajna korelacija učestalosti povićenih vrednosti ni u jednoj od ovih grupa u odnosu na kontrolnu grupu. Znači, s obzirom na nepostojanje ispitivane povezanosti, nameće se potreba traženja drugih razloga za veću učestalost obolelih.

there is a negative effect of stressful noise on thyroid gland and its activity, while a patient is engaged at work. The aim of the study was to evaluate effects of professional damage on the organism of exposed workers, especially on thyroid gland, in dependence on duration of exposure to this effects. We examined 200 patients, 125 were exposed workers and 75 were control subjects. We were interested in level of damage depending on duration of exposure, thus we examined three groups of patients: I group 38 workers who have been exposed for ten years; II group 47 workers who have been exposed for 20 years; III group 38 workers who have been exposed for more than 20 years. We studied the level of thyroid hormones T_3 and TSH with MEIA method, T_4 with FPIA method with ABBOTT IMx. Results are statistically presented. In I group middle value is for $T_4=134.8$ nmol/L, middle value for II group for $T_4=128.4$ nmol/L and in III group $T_4=141.0$ nmol/L. Middle value for T_4 in control group is 120.6 nmol/L. Middle value for T_3 in I group is $T_3=2.28$ nmol/L. Middle value for T_3 in control group is $T_3=1.90$ nmol/L. Middle value for TSH in I group is $TSH=3.7$ μ J/L. Middle value in II group is $TSH=3.32$ μ J/L and in III group is $TSH=2.98$ μ J/L. Middle value for control group is $TSH=3.30$ μ J/L. There are no statistically significant in any of the groups with respect to the control group. We must examine other reasons for such a huge frequency of diseased, because there is no studied connection.

C

LIPIDI, LIPOPROTEINI I APOLIPOPROTEINI LIPIDS, LIPOPREOTEINS AND APOLIPOPROTEINS

C39

POVEZANOST TEŽINE ISHEMIJSKE BOLESTI SRCA SA KONCENTRACIJOM LIPOPROTEINA (a)

S. Vujanić, D. Dinčić, R. Nikolajević

*Instut za medicinsku biohemiju,
Klinika za urgentnu internu
medicinu, Vojnomedicinska akademija, Beograd*

Lipoprotein (a) Lp(a) pored LDL čestice predstavlja najaterogeniju lipoproteinsku frakciju u krvi i njegove visoke koncentracije kombinovane sa drugim faktorima rizika kako povećavaju rizik za nastanak ishemiske bolesti srca (IBS). Cilj ovog istraživanja bio je da se utvrdi da li postoji povezanost težine IBS sa koncentracijom Lp(a). U naše istraživanje bilo je uključeno 166 ispitanika oba pola u dobi od 40 do 74 godine koji su bili podeljeni u 3 osnovne grupe: kontrolna grupa (K0) zdravih (n=59, neinvazivnim metodama isključeno postojanje IBS), kontrolna grupa (K1) bolesnih (n=34, bez značajnih stenoza krvnih sudova srca), eksperimentalna grupa (E) bolesnih (n=73, sa stenozama krvnih sudova srca >50%); ova grupa podeljena je na 3 podgrupe: E1-jednosudovnom, E2-dvosudovnom, E3-trisudovnom koronarnom bolešću. Koncentracija Lp(a) je određivana u svežem izolovanom materijalu-serumu, nefelometrijskom metodom na aparatu BN100 firme Dade Behring. Dobijeni rezultati pokazuju da je koncentracija Lp(a) (log. koncentracija Lp(a)) bila statistički značajno povećana u E-grupi bolesnih u odnosu na K0 i K1 grupu i u E3-podgrupi u odnosu na E1 i E2 podgrupu. Nema statistički značajne razlike u koncentraciji Lp(a) između K0 i K1 grupe i između E1 i E2 podgrupe. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je u ovim istraživanjima dobijena povezanost koncentracije Lp(a) sa težinom IBS, odnosno brojem obolelih krvnih sudova.

C39

CORRELATION OF THE ISCHAEMIC HEARTDISEASE SERIOUSNESS WITH LIPOPROTEIN (a)

S. Vujanić, D. Dinčić, R. Nikolajević

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinic for Urgent Internal Medicine
Military Medical Academy, Belgrade*

Lipoprotein (a) Lp(a), in addition to the LDL particle, represents the most atherogenic lipoprotein fraction in blood and its high concentrations combined with other risk factors significantly increase a risk of the ischaemic heart disease (IHD). A target of this study was to determine if there were a correlation between the IHD seriousness and Lp(a) concentrations. This study included 166 male and female individuals from 40 to 74 years of age who were divided into three major groups: control group (K0) of healthy individuals, n=59 (presence of IHD was excluded by using non-invasive methods), control group (K1) of sick individuals, n=34 (without significant stenosis of heart blood vessels), experimental group (E) of sick individuals, n=73 (with stenosis of heart blood vessels > 50%) and it was divided into three sub-groups: E1 one-vascular, E2 two-vascular, E3 three-vascular coronary heart disease. Lp(a) concentrations were determined in a newly isolated material serum by a nephelometric method using a Dade Behring BN100 analyser. Results obtained indicated that Lp(a) concentrations /log.Lp(a) concentrations/ were statistically significantly increased in the E-group of sick individuals in relation to the K0 and K1 groups, and in the E3-sub-group in relation to the E1 and E2 sub-groups. There was no statistical evidence of a significant difference in Lp(a) concentrations between the K0 and K1 groups and the E1 and E2 sub-groups. On the basis of the obtained results, we can conclude that our study has found the correlation of Lp(a) concentrations with the IHD seriousness, i.e. the number of blood vessels affected by the disease.

C40**EFEKAT SIMVASTATINA
NA LIPIDNI STATUS**

J. Vasić, N. Bogavac-Stanojević,
V. Spasojević-Kalimanovska, S. Spasić, I. Ćećez

*Institut za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Beograd*

Primena simvastatina, inhibitora regulatornog enzima HMG-CoA-reduktaze u biosintezi holesterola, od izuzetnog je značaja za snižavanje visokih vrednosti holesterola i LDL-holesterola. U okviru ovog rada obrađeni su rezultati multicentrične studije Zocor® Monitored Treatment Program koju je sprovedla firma MSD u našoj zemlji. Pacijenti sa dislipidemijom i kliničkim simptomima koronarne bolesti (132 pacijenta, 58 muškaraca i 74 žene) tretirani su sa simvastatinom u dozi od 10 i 20 mg. Efekat statina na lipidni status ispitivan je određivanjem ukupnog holesterola (uH), HDL-holesterola (HDL-H), LDL-holesterola (LDL-H) i triglicerida (TG) pre početka terapije i posle 4, 8 i 12 nedelja. Ispitivanja su pokazala značajno sniženje vrednosti LDL-H od bazalnih $5,21 \pm 1,40$ mmol/L do $3,15 \pm 1,04$ mmol/L ($p < 0,001$) posle 3 meseca. Procentualne promene lipidnih parametara posle prvog, drugog i trećeg meseca u odnosu na bazalne vrednosti najveće su za LDL-H i iznose: 22,41%, 33,20% i 37,67%. Takođe je dobijeno značajno sniženje od $7,71 \pm 1,47$ mmol/L do $5,54 \pm 1,18$ mmol/L posle 3 meseca terapije ($p < 0,001$), a procentualno sniženje vrednosti po mesecima bilo je: -32,03%, -25,40 i -27,10%. Simvastatin deluje i na sniženje TG ($3,29 \pm 2,44$ mmol/L do $2,14 \pm 1,24$ mmol/L, $p < 0,001$), procentualna promena bila je manja u odnosu na holesterol (15,75%, 21,45% i 25,76%). Za HDL-H dobijen je porast vrednosti od početnih $1,00 \pm 0,26$ mmol/L do $1,2 \pm 0,25$ mmol/L ($p < 0,001$). Procentualni porast HDL-H po mesecima iznosio je: 9,57%, 20,39% i 21,41% i statistički se značajno razlikovao za treći mesec ($p < 0,05$). Efekat simvastatina ispitivan je i na osnovu promene rizičnih vrednosti lipidnih parametara kod ispitivanih pacijenata. Pre primene terapije 89,4% pacijenata imalo je rizične vrednosti uH ($> 6,3$ mmol/L), a posle 3 meseca terapije samo 23,9%. Na početku ispitivanja 79,4% pacijenata imalo je rizične vrednosti LDL-H ($> 4,1$ mmol/L), da bi se kasnije taj broj pacijenata smanjio na 15,8%. Utvrđeno je da simvastatin ima značajan efekat na snižavanje LDL-H, a umeren na porast HDL-H, što omogućava primenu ovog leka u primarnoj i sekundarnoj prevenciji kardiovaskularnih oboljenja.

C40**EFFECT OF SIMVASTATIN
ON LIPID PARAMETERS**

J. Vasić, N. Bogavac-Stanojević,
V. Spasojević-Kalimanovska, S. Spasić, I. Ćećez

*Institute of Medical Biochemistry,
University School of Pharmacy, Belgrade*

Treatment with simvastatin, which inhibits HMG-CoA reductase the rate limiting enzyme step in cholesterol biosynthesis has become the most successful drug treatment in lowering total plasma cholesterol and LDL-cholesterol concentrations. We present the results of the multicentric study-Zocor® Monitored Treatment Program (MSD) for our country. Patients with dyslipidemia and clinical symptoms for coronary artery disease (132 patients, 58 males and 74 females) were treated with simvastatin at doses of either 10 or 20 mg. Effect of simvastatin on lipid status was evaluated by determination of total cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL-C), LDL-cholesterol (LDL-C) and triglycerides (TG) at the beginning and after 4, 8 and 12 weeks of treatment. Simvastatin therapy results in lower LDL-C levels from 5.21 ± 1.40 mmol/L to 3.15 ± 1.04 mmol/L ($p < 0.001$) after 3 months. Percent change of lipid parameters after one, two or three months from the baseline were the greatest for LDL-C: 22.41%, 33.20% and 37.67%. Total cholesterol was also reduced from 7.71 ± 1.47 mmol/L to 5.54 ± 1.18 mmol/L ($p < 0.001$) and percent change was: 32.03%, 25.40% and 27.10%. Similar results were obtained for TG from 3.29 ± 2.44 mmol/L to 2.14 ± 1.24 mmol/L after three months of treatment ($p < 0.001$), but percent change was lower than for cholesterol (15.75%, 21.45% and 25.76%). In contrast to other lipid parameters, HDL-C raised after treatment with simvastatin from 1.00 ± 0.26 mmol/L to 1.20 ± 0.25 mmol/L ($p < 0.001$). Percent change in HDL-C was: 9.57%, 20.39% and 21.41% and these change was statistically significant ($p < 0.05$). The reducing effect of simvastatin on TC and LDL-C was analyzed in view of the percent of subjects with high-risk values of cholesterol. Before treatment most of the patients (89.4%) were with high-risk values for TC (> 6.3 mmol/L) and after 3 months the percent was only 23.9%. Similar results were obtained for LDL-C. With high-risk values (> 4.1 mmol/L) were 79.4% of patients and after treatment with simvastatin 15.8%. The hypolipidemic effect of simvastatin is principally based on reduction of LDL-C and that is major concern in both primary and secondary prevention of coronary heart disease.

C41

**FAKTORI RIZIKA ZA ATEROSKLOROZU
KOD PACIJENATA S ESENCIJALNOM
HIPERTENZIJOM**

J. Ilić¹, J. Kotur-Stevuljević²,
N. Bogavac-Stanojević²,
V. Spasojević-Kalimanouska²

¹Kliničko-biohemijska laboratorija,
Zdravstveni centar Sveti Luka, Smederevo

²Institut za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Beograd

Hipertenzija je jedan od ključnih faktora rizika za razvoj ateroskleroze pa i kardiovaskularnih bolesti. Pored pušenja, gojaznosti i dislipidemije hipertenzija spada u varijabilne faktore rizika na koje se može delovati preventivno i tako umanjiti rizik od ateroskleroze. S tim ciljem ispitivan je i aterogeni rizik kod pacijenata s esencijalnom hipertenzijom određivanjem ukupnog holesterola (uH), HDL-holesterola (HDL-H), LDL-holesterola (LDL-H) i triglicerida (TG) i izračunavanjem odnosa: uH/HDL-H i LDL-H/HDL-H. Poremećaji lipidnog statusa kod pacijenata s esencijalnom hipertenzijom ispitivani su u grupi od 185 osoba (82 žene i 103 muškaraca) i poređenjem sa kontrolnom grupom od 97 osoba (61 žena i 36 muškaraca) bez hipertenzije. Lipidni parametri u serumu određivani su standarnim biohemijskim metodama. Oni su upoređeni kod normotenzivnih i hipertenzivnih osoba i u zavisnosti od pušenja i BMI. Poređenjem lipidnih parametara pacijenata s hipertenzijom u odnosu na kontrolnu grupu dobijena je statistički značajna razlika za sve parametre ($p < 0,001$, Student's t-test). Pacijenti sa hipertenzijom imali su više vrednosti u odnosu na kontrolu: uH ($6,24 \pm 2,32$ vs $5,44 \pm 2,09$ mmol/L), LDL-H ($4,30 \pm 2,07$ vs $3,70 \pm 1,81$ mmol/L), TG ($2,68 \pm 4,35$ vs $1,43 \pm 1,62$ mmol/L), odnos uH/HDL-H ($6,72 \pm 4,85$ vs $4,72 \pm 2,07$) i LDL-H/HDL-H ($4,63 \pm 3,41$ vs $3,19 \pm 1,82$), a niže vrednosti HDL-H ($1,01 \pm 0,58$ vs $1,20 \pm 0,54$ mmol/L). Lipidni parametri za pacijente i kontrolnu grupu ispitivani su posebno za muškarce i žene i dobijeni su slični rezultati. Ispitivanja su pokazala i statistički značajnu razliku između pacijenata i kontrole za sve lipidne parametre kod pušača ($p < 0,001$) i to za oba pola. Pacijenti sa hipertenzijom i BMI od 25 do 30 kg/m² statistički se značajno razlikuju u odnosu na odgovarajuću kontrolnu grupu za TG, uH/HDL-H, LDL-H/HDL-H ($p < 0,001$), za LDL-H ($p < 0,01$) i za uH i HDL-H ($p < 0,05$). Dobijeni rezultati ukazuju na značajan poremećaj u metabolizmu lipida kod pacijenata s hipertenzijom i na interakciju drugih faktora rizika za aterosklerozu, a pre svega na uticaj pušenja.

C41

**ATHEROGENIC RISK FACTORS
IN PATIENTS WITH ESSENTIAL
HYPERTENSION**

J. Ilić¹, J. Kotur-Stevuljević²,
N. Bogavac-Stanojević²,
V. Spasojević-Kalimanouska²

¹Clinical Chemistry Laboratory, Svetog Luke,
Health Centre, Smederevo

²Institute of Medical Biochemistry,
University School of Pharmacy, Belgrade

Objective of the present study was to test the hypothesis that hypertension, smoking, obesity and dyslipidemia are major variable factors of atherosclerosis disease. The atherogenic risk for hypertensive patients was assessed by measuring total cholesterol (TC), triglycerides (TG), HDL-cholesterol (HDL-C) and LDL-cholesterol (LDL-C) and calculating the ratio: TC/HDL-C and LDL-C/HDL-C. The examined group consisted of 185 hypertensive patients (82 females and 103 males) and a control group of normotensive individuals 97 (61 females and 36 males) matched by age and sex. Serum lipid parameters were examined by standard biochemical methods. Levels were also compared in normotensive and hypertensive individuals according to smoking and BMI. All lipid parameters in hypertensive patients were statistically different compared with the control group ($p < 0,001$, Student t-test). Hypertensive patients compared with normotensive had higher values of TC ($6,24 \pm 2,32$ vs $5,44 \pm 2,09$ mmol/L), LDL-C ($4,30 \pm 2,07$ vs $3,70 \pm 1,81$ mmol/L), TG ($2,68 \pm 4,35$ vs $1,43 \pm 1,62$ mmol/L), ratio TC/HDL-C ($6,72 \pm 4,85$ vs $4,72 \pm 2,07$) and LDL-C/HDL-C ($4,63 \pm 3,41$ vs $3,19 \pm 1,82$) and lower values of HDL-C ($1,01 \pm 0,58$ vs $1,20 \pm 0,54$ mmol/L). Similar results were obtained separately for women and men. Lipid levels in smoking normotensive and hypertensive groups were significantly different ($p < 0,001$) for both sex. Lipid disturbance in hypertensive patients with BMI (25–30 kg/m²) was statistically significant difference compared with control group for TG, TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C ($p < 0,001$), for LDL-C ($p < 0,01$) and for TC, HDL-C ($p < 0,05$). We conclude that disturbances of plasma lipid profile in hypertensive patients may be mainly due to an interaction with smoking and with an additional effect of other risk factors.

C42

**MEĐUODNOS LIPIDNIH PARAMETARA
I INDEKSA TELESNE MASE
KOD ŠKOLSKE DECE**

M. Babić, D. Pap, A. Antonijević

*Zdravstveni centar Užice, Dom zdravlja Požega,
Zdravstveni centar S. Mitrovica*

Ukupni holesterol (TC), HDL-holesterol (HDL-C), LDL-holesterol (LDL-C) i triglyceridi (TG), određeni su u serumima 68 učenika starosti 14 godina iz Požege i Sremske Mitrovice. Utvrđeni su odnosi TC, HDL-C, LDL-C i TG u zavisnosti od porasta indeksa telesne mase (BMI). Ispitanici su podeljeni u tri grupe u zavisnosti od BMI (Grupa 1: $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$; grupa 2: $BMI 25 - 28 \text{ kg/m}^2$; grupa 3: $BMI > 28 \text{ kg/m}^2$). Koncentracije TC i TG određene su enzymskim metodama. HDL holesterol određen je enzymskom metodom u supernatantu koji je dobijen posle precipitacije drugih lipoproteina sa fosfovolframovom kiselinom i magnezijum hloridom. LDL-C dobijen je računskim putem pomoću Friedewaldove jednačine. Rezultati su statistički obrađeni i grafički prikazani. Rezultati lipidnih parametara (srednja vrednost $\pm 2 \text{ SD}$) u odgovarajućim grupama prema indeksu telesne mase iznosili su: za holesterol (grupa 1: 4,25 $\pm 1,22 \text{ mmol/L}$; grupa 2: 5,96 $\pm 2,02 \text{ mmol/L}$; grupa 3: 6,23 $\pm 2,52 \text{ mmol/L}$); za LDL-holesterol (grupa 1: 3,20 $\pm 1,80 \text{ mmol/L}$; grupa 2: 4,14 $\pm 2,20 \text{ mmol/L}$; grupa 3: 4,34 $\pm 2,96 \text{ mmol/L}$); za HDL-holesterol (grupa 1: 1,51 $\pm 0,64 \text{ mmol/L}$; grupa 2: 1,49 $\pm 0,70 \text{ mmol/L}$; grupa 3: 1,48 $\pm 0,72 \text{ mmol/L}$); i za triglyceride (grupa 1: 0,90 $\pm 0,88 \text{ mmol/L}$; grupa 2: 1,90 $\pm 1,44 \text{ mmol/L}$; grupa 3: 2,56 $\pm 1,82 \text{ mmol/L}$). Rezultati ispitivanja pokazali su da između BMI i TC, LDL-C i TG postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$), dok ista nije utvrđena između BMI i HDL-C ($p > 0,05$). Sa porastom BMI rasle su i vrednosti ukupnog holesterola, LDL-holesterola i triglycerida. Povećane vrednosti navedenih aterogenih lipida predstavljaju povećan kardiovaskularni rizik kod dece starosti 14 godina.

C42

**CORRELATION OF LIPIDS PARAMETERS
AND BODY MASS INDEX
IN SCHOOL CHILDREN**

M. Babić, D. Pap, A. Antonijević,

*Medicale Centre Užice, Helth Centre Požega,
Medical Centre Sremska Mitrovica*

The total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density cholesterol (LDL-C) and triglycerides (TG) level were determined in serum samples of 68 children from Požega and Sremska Mitrovica, aged 14 years. The relations between TC, HDL-C, LDL-C and TG, and increase in body mass index (BMI) were examined. Participants were divided into three groups according to BMI (Group 1: $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$; group 2: $BMI 25 - 28 \text{ kg/m}^2$; group 3: $BMI > 28 \text{ kg/m}^2$). Concentrations of TC i TG were determined by enzymatic colorimetric method, as well as HDL-C in supernatant after precipitation of other lipoproteins with addition of phosphotungsten acid and $MgCl_2$. LDL-C was calculated using the Friedewald formula. The results were stored in a computer, processed statistically and presented graphically. The overall fasting values (mean $\pm 2 \text{ SD}$) in the defined groups according to BMI were: for cholesterol (group 1: 4,25 $\pm 1,22 \text{ mmol/L}$; group 2: 5,96 $\pm 2,02 \text{ mmol/L}$; group 3: 6,23 $\pm 2,52 \text{ mmol/L}$); for LDL-cholesterol (group 1: 3,20 $\pm 1,80 \text{ mmol/L}$; group 2: 4,14 $\pm 2,20 \text{ mmol/L}$; group 3: 4,34 $\pm 2,96 \text{ mmol/L}$); for HDL-cholesterol (group 1: 1,51 $\pm 0,64 \text{ mmol/L}$; group 2: 1,49 $\pm 0,70 \text{ mmol/L}$; group 3: 1,48 $\pm 0,72 \text{ mmol/L}$); and for triglycerides (group 1: 0,90 $\pm 0,88 \text{ mmol/L}$; group 2: 1,90 $\pm 1,44 \text{ mmol/L}$; group 3: 2,56 $\pm 1,82 \text{ mmol/L}$). A statistically significant dependance between BMI and TC, LDL-C and TG was established ($p < 0,05$), while the interrelation between BMI and HDL-C was not significant ($p > 0,05$). The mean values for cholesterol, LDL-cholesterol and triglycerides were increased in correlation with increased BMI. The concentrations of total cholesterol, LDL-cholesterol and triglycerides may be a sign of the present cardiovascular risk in children aged 14 years.

C43

**APOLIPOPROTEIN B U PROCENI
ATEROGENOG RIZIKA LIPIDSKOG
POREKLA KOD OSOBA S GRANIČNO
POVIŠENIM NIVOIMA UKUPNOG
HOLESTEROLA I TRIGLICERIDA**

O. Brklijač, Lj. Lepanović, M. Đerić

Zavod za laboratorijsku medicinu,
Klinički centar Novi Sad, Novi Sad

Smatra se da je apolipoprotein B (apo) pouzdaniji parametar za procenu aterogenog rizika nego LDL-H (H=holisterol), budući da je koncentracija apo B ekvivalentna broju aterogenih lipoproteinskih čestica, dok sadržaj H u jednoj partikuli može značajno varirati. Ova činjenica bila bi od posebnog kliničkog značaja kod osoba s poželjnim vrednostima LDL-H (do 3,5 mmol/L), uz granično povišene nivoje ukupnog H (5,2 6,5 mmol/L) i triglicerida (TG) (1,7 2,3 mmol/L). U ovoj studiji izvršena je procena značaja određivanja apo B kod osoba s poželjnim nivoima LDL-H, 100 s normotriglyceridemijom i granično povišenim ukupnim H i 37 s istovremenim graničnim povišenjem ukupnog H i TG. Kontrolnu grupu činilo je 50 normolipidemičnih osoba. Parametri su određivani standardnim biohemijskim metodama. Rezultati pokazuju da je apo B (g/L) značajno povišen i kod osoba s graničnim povišenjem ukupnog H ($0,82 \pm 0,14$) i kod osoba s graničnim povišenjem ukupnog H i TG ($0,89 \pm 0,11$). U obe grupe registrovano je i značajno povišenje Lp(a) lipoproteina (g/L) ($0,19 \pm 0,16$; $0,21 \pm 0,20$). Dobijeni rezultati ukazuju da je apo B pouzdaniji parametar za procenu aterogenog rizika kod osoba s granično povišenim nivoima ukupnog H i TG, nego LDL-H, čiji bi porast mogao, takođe, da uputi na istovremeno povišenje nivoa aterogenog lipoproteina Lp(a).

C43

**APOLIPOPROTEIN B IN ESTIMATION
OF ATHEROGENIC RISK LIPIDAL
ORIGIN IN PERSONS WITH BORDERLINE
HIGH CONCENTRATIONS OF TOTAL
CHOLESTEROL AND TRIGLYCERIDES**

O. Brklijač, Lj. Lepšanović, M. Đerić

Institute for Laboratory Medicine
Clinical Center Novi Sad, Novi Sad

Opinion that apolipoprotein B (apo) is more reliable parameter for estimation atherogenic risk than LDL-H (H=cholesterol), as the concentration of apo B is equivalent to the number of atherogenic lipoprotein particles, while contents of H in one particle may vary significantly. This fact could be of special clinical importance for the persons with desirable concentrations of LDL-H (under 3.5 mmol/l) and borderline high levels of H (5.2 6.5 mmol/L) and triglycerides (TG) (1.7 2.3 mmol/L). In this study estimation of apo B determination importance is done in persons with desirable levels of LDL-H, 100 normotriglyceridemic with borderline high levels of total H and 37 with simultaneous borderline high levels of total H and TG. Control groupe consisted 50 normolipidemic persons. Parameters were measured by standard biochemical methods. Results show that apo B (g/L) is significantly increased as well in persons with borderline high levels of total H (0.82 ± 0.14) and in persons with borderline high levels of total H and TG (0.89 ± 0.11). In both groups significant increase of LP (a) lipoprotein (g/L) (0.19 ± 0.16 ; 0.21 ± 0.20) registered. Our results speak in favor of apo B as more reliable parameter for estimation of atherogenic risk for the persons with borderline high levels of total H and TG than LDL-H, which increase may as well refer to simultaneous increase of atherogenic lipoprotein Lp (a) levels.

C44

**FOSFOLIPIDSKI SASTAV
SUBCELULARNIH ORGANELA**

K. Bajin Katić, Z. Kovacević

Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Novi Sad

Cilj rada bio je da se izvrši analiza fosfolipidnog profila pojedinih subcelularnih organeli jetre pacova. Organeli su izolovane metodom diferencijalnog centrifugiranja, a pojedine frakcije fosfolipida analizirane su pomoću originalne metode dvodimenzionalne hromatografije na tankom sloju i određivanjem fosfora.

C44

**PHOSPHOLIPID COMPOSITION
OF SUBCELLULAR ORGANELLES**

K. Bajin Katić, Z. Kovacević

Institute of Biochemistry, Medical Faculty Novi Sad

The aim of the study has been to analyze the profile of phospholipides of some subcellular organelles in a rat liver. Organelles were isolated by the differential centrifugation method and the fractions of phospholipides were analyzed by the method of two-dimensional chromatography on a thin layer and by

Analiza fosfolipidne jedarne frakcije pokazuje da najveći procenat pripada fosfatidilholinu (40%) i fosfatidiletanolaminu (30%). Najveći procenat kardioliptina nađen je u mitohondrijalnoj frakciji što je u skladu sa činjenicom da ovaj fosfolipid ulazi isključivo u sastav unutrašnje membrane organelu. Lizozomalnu frakciju karakteriše izrazito smanjenje kardioliptina i viša koncentracija fosfatidilinositola nego u svim ostalim frakcijama. U mikrozomalnoj frakciji zabeležen je najveći procenat lizolecitina što je verovatno rezultat pojačane aktivnosti fosfolipaze A. Dobijene razlike u fosfolipidskom sastavu membrane pojedinih subcelularnih organel ukažuju da se one razlikuju po svojim fizičko-hemijskim i biološkim karakteristikama. Rezultati objašnjavaju razliku u biološkim osobinama pojedinih celularnih membrana kao što su profil i aktivnost enzima, transportni procesi i mehanizmi prenosa i transformacije energije.

phosphorus determination. The analysis of a phospholipid core fraction has shown that the highest percentage belongs to phosphatidylcholine (40%) and phosphatidylethanolamine (30%). The highest percentage of cardiolipin has been found in mitochondrial fraction which is in accordance with the fact that this phospholipid is located exclusively in the inner membrane of the organelles. Lysosomal fraction is characterized by substantial reduction in cardiolipin and, compared with other fractions, high percentage of phosphatidylinositol. In microsomal fraction the highest percentage of lyssolecithin has been recorded which is probably the result of increased activity of phospholipase A. The obtained differences in phospholipid composition of membranes of subcellular organelles indicate that they differ in their physical, chemical and biological characteristics. The results support the difference in biological features of the cellular membranes such as enzyme profile and activity, transport processes and the mechanisms of energy transduction and transformations.

C45

OKSIDATIVNO OŠTEĆENJE ĆELIJE; AKUTNI ISHEMIČNI DOGAĐAJ I NJEGOV MODEL

R. Mihajlović¹, M. Jovanović²,
S. Vidaković¹, A. Jelenković², A. Jovičić³

¹Institut za rehabilitaciju
²Institut za medicinska istraživanja VMA
³Klinika za neurologiju VMA, Beograd

Ishemija je oblik hipoksije koji, *in vivo*, nastaje kada je prekinut dotok krvi u određeni region (srce, mozak). Prekid snabdevanja tkiva kiseonikom uzrok je nastalih patoloških promena. Posle ishemije ćelija postaje posebno osetljiva na reoksigenaciju, što ima za posledicu nastanak oksidativnog oštećenja u toku reperfuzije. Parcijalni pritisak kiseonika, u ovom momentu, znatno je povećan u odnosu na ishemične delove tkiva što otvara mogućnost pokretanja čitave serije lančanih reakcija koje za rezultat imaju stvaranje toksičnih metabolita. Na velikom broju modela ishemije srca i mozga, na životnjama, pokazano je da dolazi do stvaranja lipidnih peroksida, odnosno oštećenja i destrukcije ćelijskih membrana. Cilj ovog rada bio je da se pokaže da stanje hipoksije tkiva, izazvano boravkom ispitnika u hipobaričnoj komori dovodi do pokretanja patofizioloških promena sličnih/istih kao i u stanjima ishemije mozga i srca. Meren je nivo lipidnih peroksida (LP) u plazmi pilota ($n=12$) pre (kontrola) i 20 min posle polučasovnog boravka u hipobaričnoj komori. Drugu grupu sačinjavali su paci-

C45

OXYDATIVE CELL DAMAGE; ACUTE ISHEMIC PROCESS AND ITS MODEL

R. Mihajlović¹, M. Jovanović²,
S. Vidaković¹, A. Jelenković², A. Jovičić³

¹Institute for Rehabilitation, Belgrade
²Institute for Medicinal Research, and
³Clinic for Neurology, Military Medical Academy,
Belgrade

Ishemia is shape of hipoxy a which shows *in vivo* when blood flow is interupted in specific regions (heart, brain). Interupted of tissue supplying with oxygen is reason of pathological changes. After ischemia cell becomes specially sensitive on reoxygenation, which cause oxydative damage during reperfusion. Partial oxygen pressure, in that moment, is increased in comparation with ischemic tissue parts which gives possibilities of moving whole seria of step reactions which results with creation of toxicall metabolites. On great number of models ischemia heart and brain of animals had shown that become in creation of lipid peroxides, respectively to damage and destruction of cell membrane. The aim of our project is to show that stage of tissue hipoxy a cause with spending time of inquires in hipobaric room is reason for moving of patophysiological changes same or similar as in stage of heart and brain ischemia. Range of lipid peroxide (LP) is measured in blood plasma of pilots ($n=12$) before (control) and 20 min, after half an

jenti ($n=45$) sa ishemijom srca. Kontrolna grupa sastojala se od 23 dobrovoljna davaoca krvi. Sledеća ispitivana grupa ($n=45$) bili su bolesnici sa ishemijom mozga. Kontrola su bili pacijenti ($n=20$) sa drugim neurološkim oboljenjima, bez medikamentozne terapije. Pacijenti sa ishemijom srca i mozga kao i ispitnici koji su boravili u hipobaričnoj komori pokazuju sličan porast nivoa lipidnih peroksida u plazmi u odnosu na kontrolne grupe. Najveći porast nivoa LP imali su oboleli od ishemije srca (198%), zatim od infarkta mozga (178%) i na kraju u plazmi ispitanih pilota (164%). Ovakav trend rasta LP, kao indikatora oštećenja ćelijске membrane može da se objasni činjenicom da kod ishemije srca lipidni peroksi direktno dospevaju u cirkulaciju, bez prolaska hemato-encefalne barijere, što je slučaj sa ishemijom mozga. Takođe, na primeru ispitanih pilota pokazano je da ishemija dovodi do oksidativne povrede tkiva indukovane hipoksijom, pri čemu je stepen povrede povećan prelaskom iz stanja hipoksije u stanje normoksije tkiva (ali u relativnom odnosu hiperoksije).

hour spent time in hiperbaric room. The second group consists of heart ischemia patients ($n=45$). Control group consists of 23 voluntary blood givers. Next inquire group ($n=45$) were patients with brain ischemia. Control are patients ($n=20$) with other neurological desesase without medicament therapy. Patients with heart and brain ischemia and patients who were in hipobaric room show similar increase of range of lipid peroxide in blood plasma in comparison with control groups. The highest increase of range LP is shown on patients with heart ischemia (198%), after them come patients with brain attack (178%) and at the end are inquired pilots (164%). This increased trend of LP as indicator of damage cell membrane can be explained with fact that heart ischemia lipid peroxides are directly come to blood circulation without passing hemato-encephal barier, which is the case with brain ischemia. Also, on the example on inquired pilots we can say that ischemia come to oxydative tissue damages induces with hipoxy and then the level of damage is increased with crossing from stage of hipoxy a to stage of normoxy tissue (but in relative relation hiperoxy).

C46

INTENZITET LIPIDNE PEROKSIDACIJE KOD ZDRAVIH OSOBA I INSULIN ZAVISNIH DIJABETIČARA

A. Kozić¹, M. Popović², K. Đaković³, B. Marić⁴

¹Dom zdravlja Dr Milorad Mika Pavlović, Indija

²Institut za hemiju, PMF Novi Sad

³Zavod za farmakologiju i toksikologiju,

Medicinski fakultet, Novi Sad

⁴AD Jugoinspekt, Novi Sad

Peroksidacija lipida je oksidativna degradacija nezasićenih masnih kiselina, koje ulaze u sastav lipida. Ona ima značajnu ulogu u patogenezi mnogih bolesti kao što su Alchajmerova bolest, dijabetes, Parkinsonova bolest i dr. Cilj ovog rada bio je da se odredi intenzitet peroksidacije lipida (LPx), kod zdravih ljudi oba pola i dijabetičara (insulin zavisnih) starosti između 20 i 75 godina i korelacija ovih parametara u odnosu na starost i dijabetes, u specifičnim ekološkim uslovima Indije. Ovi rezultati su bitni zbog poređenja sa svetskim rezultatima urađenim u sličnim ili različitim ekološkim uslovima. Izložena ispitivanja obuhvatila su 200 zdravih ljudi, starosti od 20 do 75 godina i 80 ljudi obolelih od diabetes mellitus-a (tip I) starosti između 20 i 60 godina. Zdravstveno stanje ispitnika proveravano je određivanjem rutinskih laboratorijskih parametara (sedimentacija, krvna slika, glukoza, urea i transaminaze). Svaka grupa obuhvatila je dvadeset ispitnika, sa približno istim

C46

INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION IN HEALTHY SUBJECTS AND INSULIN-DEPENDENT DIABETICS

A. Kozić¹, M. Popović², K. Đaković³, B. Marić⁴

¹Health Centre Dr Milorad Mika Pavlović, Indija

²Faculty of Sciences, Institute of Chemistry, Novi Sad

³Faculty of Medicine, Institute of Pharmacology

and Toxicology, Novi Sad

⁴AD Jugoinspekt, Novi Sad

Lipid peroxidation (LPx) represents an oxidative degradation of unsaturated fatty acids, the basic components of lipid molecules, and it has a very important role in the aerobic cell pathology. This phenomenon is to a great extent involved in the pathogenesis of a number of diseases: Alzheimer disease, diabetes, Parkinson disease, etc. The objective of this study was to determine the intensity of LPx in healthy subjects and insulin-dependent diabetics, aged between 20 and 75 and correlate these parameters to the age and diabetes in the specific ecological environment of Indija. The intensity of LPx, both in plasma and hemolysate of healthy subjects, increases with age. The LPx values obtained for healthy female subjects, measured in both plasma and hemolysate, show an increase with age, and are somewhat lower compared with the corresponding values observed with the healthy male. On comparing our results with those from the literature we can see that

brojem muškaraca i žena. Intenzitet LPx određen je metodom po Buege i Austu. Nađeno je da se intenzitet peroksidacije lipida kod zdravih muških osoba povećava sa starenjem i u plazmi i u hemolizatu. Intenzitet LPx kod zdravih žena povećava se sa starenjem i u plazmi i u hemolizatu i nešto je niži u odnosu na LPx kod zdravih muškaraca. Poređenjem dobijenih podataka sa podacima u literaturi, utvrđeno je da je intenzitet lipidne peroksidacije viši i u plazmi i u hemolizatu kod zdravih osoba oba pola. Intenzitet lipidne peroksidacije povećava se kod dijabetičara oba pola sa starošću (i u hemolizatu i u plazmi), i to je povećanje veće u odnosu na zdrave ispitanike iste starosne grupe. Poređenjem vrednosti određivanja LPx kod dijabetičara sa podacima iz literature dobijeno je bolje slaganje nego u slučaju poređenja vrednosti zdravih osoba sa podacima u literaturi.

C47

PROMENE NIVOA LIPIDNE PEROKSIDACIJE U KRVNOJ PLAZMI PACOVA TRETIRANIH 5-FLUOROURACILOM I SELENOM

O. Jozanov-Stankov¹, M. Demajo¹, I. Đujić²

¹Institut za nuklearne nauke »Vinča«, Beograd
²IHTM Centar za hemiju, Beograd

Većina danas korišćenih citostatika u terapiji malignih oboljenja, ostvaruje svoje efekte bilo preko podsticanja ili direktnim stvaranjem slobodnih radikala (SR), najviše veoma reaktivnih oblika kiseonika, sa ciljem da zaustave produkciju malignog tkiva. Nespecifičnost ovih reakcija, međutim, pogarda prema malignog i zdravo tkivo što izaziva dodatno angažovanje antioksidativnog odbrambenog sistema u organizmu, kao i promene parametara koji govore o prisustvu oksidativnog stresa. Cilj ovih istraživanja bio je da se na zdravom eksperimentalnom pacovu ispita koliko davanje dosta korišćenog citostatika 5-fluorouracila (FU) utiče na stepen peroksidacije lipida (LP) u krvi kao jednog od parametara negativnih efekata povećane produkcije SR. Sledeći zadatak bio je da se vidi da li povećano unošenje mikroelementa selen (Se), kao važnog učesnika antioksidativne odbrane, utiče na nivo LP u krvnoj plazmi usled tretmana sa FU-om. Životinje su dobijale organski vezan selen (Se) u vodi za piće (u dozi koja odgovara oko 100 mg/dan) mesec dana pre tretmana FU. FU je aplikovan *i.p.* u 5 jednakih dnevnih doza (ukupna količina odgovara jednom uobičajenom terapijskom ciklusu za čoveka). Pacovi su žrtvovani osmog dana od početka davanja FU i u izdvojenoj krvnoj plazmi određivan nivo LP, mereći koncentraciju tzv. produkata reakcije sa tiobarbiturnom kiselinom (TBK-P). Rezultati eksperimenta pokazali su da aplikovanje FU

our results, both for plasma and hemolysate, are regularly higher in healthy subjects of both sexes. Intensity of LPx in both plasma and hemolysate of diabetic patients increases with age and this increase is higher compared with that observed with healthy subjects of the same age. The LPx values obtained for the diabetic patients correlate better with those found in the literature than the values obtained for healthy subjects with the corresponding literature data.

C47

CHANGES IN THE LEVELS OF LIPID PEROXIDATION IN BLOOD PLASMA OF RATS TREATED WITH 5-FLUOROURACIL AND SELENIUM

O. Jozanov-Stankov¹, M. Demajo¹, I. Đujić²

¹Institute of Nuclear Sciences »Vinča«, Belgrade
²Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy
Center of Chemistry, Belgrade, Yugoslavia

Most of the cytostatics used today in the therapy of malignant diseases express their effects either through inducing or by the direct production of free radicals (SR), mostly very reactive oxygen species with the purpose to eliminate the production of malignant tissue. As these reactions are non-specific, beside the malignant tissue, healthy tissue is also affected, causing additional engagement of the antioxidant defense system in the organism as well as inducing changes in parameters which indicate presence of oxidative stress. The purpose of this research was to examine how much the currently used cytostatic 5-fluorouracil (FU) injected into healthy experimental rats, influences the blood level of lipid peroxidation (LP), as one of the parameters demonstrating the negative effects of increased SR production. The next task was to determine if an increased intake of the microelement selenium (Se), as an important part of the antioxidative defense system, has an effect on the level of LP in blood plasma after treatment with FU. The animals received organically bound Se in drinking water (dose which corresponds to about 100 µg/day) for a month before treatment with FU. The cytostatic was injected *i.p.* in 5 equal daily doses (the total amount corresponds to one standard human therapeutical cycle). The rats were sacrificed 8 days after the start of FU injection and blood plasma levels of LP were measured as the amount of the

izaziva značajno povećanje LP nivoa u plazmi eksperimentalnog pacova. Povećan unos Se snizio je bazalni nivo LP u plazmi a takođe je redukovao porast LP pri tretmanu FU-om, što ukazuje da bi dodavanje Se pri terapiji ovim citostatikom moglo biti od značaja u kliničkoj praksi.

thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). The experimental results showed that treatment with FU induces a significant increase of LP levels in the plasma of experimental rats. The increased intake of Se lowered the basal level of plasma LP and it also restricted the increase of LP after treatment with FU, indicating that the supplementation of Se during therapy with this cytostatic may be of significance in clinical practice.

C48

DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ PRODUKATA LIPIDNE PEROKSIDACIJE U RAZLIKOVANJU PLEURALNIH IZLIVA

*J. Lalić¹, I. Đorđević², S. Stojiljković¹,
L. Zvezdanović¹, B. Blagojević²*

¹*Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar, Niš*

²*Klinika za plućne bolesti i tuberkulozu,
Klinički centar, Niš*

Biohemijske analize pleuralne tečnosti prvi su korak u razlikovanju pleuralnih izliva (PI) na eksudate (E) i transudate (T). Mada se Light-ovi kriterijumi najčešće koriste za razdvajanje E od T, oni su manje tačni u identifikaciji transudata. Zbog toga se, da bi se poboljšala tačnost dijagnoze, koriste novi parametri. Poznato je da slobodni radikalni kiseonika (SRK) prouzrokuju oštećenja u mnogim biološkim tkivima. SRK ispoljavaju svoj citotoksični efekat uzrokujući lipidnu peroksidaciju za koju se smatra da je odgovorna za eksudaciju tečnosti u pleuralni prostor. Shodno tome, cilj ovog rada bio je određivanje malondialdehida (MDA), kao krajnjeg produkta lipidne peroksidacije u pleralnoj tečnosti (MDAp) i serumu (MDAs) i odnosa MDAp/s; kao i poređenje dobijenih rezultata s drugim dobro utvrđenim kriterijumima. Analizirano je 30 pacijenata sa PI koji su Light-ovim kriterijumima bili klasifikovani kao E(20) i T(10). MDA je određivan spektrofotometrijskom metodom sa TBA. Dobijeni rezultati su pokazali značajno povećanje nivoa MDAs kod obe grupe pacijenata: E ($7,27 \pm 1,29$ mmol/L), T ($7,75 \pm 0,89$ mmol/L), u poređenju sa kontrolnom grupom ($5,10 \pm 0,87$ mmol/L), $p < 0,001$. Nivo MDAp u E ($5,16 \pm 1,28$ mmol/L) bio je takođe značajno povećan u odnosu na T ($2,67 \pm 0,61$ mmol/L) $p < 0,001$. Slično je i odnos MDAp/s bio značajno veći u E ($0,72 \pm 0,17$ mmol/L) nego u T ($0,34 \pm 0,05$ mmol/L), $p < 0,001$. Koristeći graničnu vrednost od (0,4) za MDAp/s odnos (senzitivnost 95% i specifičnost 90%) uspešno su odvojeni E od T. Na osnovu ovih rezultata može da se zaključi da određivanje produkata lipidne peroksidacije može biti korisno u dijagnozi-diferentovanju pleuralnih izliva na E i T, što je od značaja za pravilno lečenje pacijenata sa PI.

C48

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN DIFFERENTIATION OF PLEURAL EFFUSIONS

*J. Lalić¹, I. Đorđević², S. Stojiljković¹,
L. Zvezdanović¹, B. Blagojević²*

¹*Centre of Medical Biochemistry, Clinical Centre, Niš*

²*Clinic for Lung Diseases and Tuberculosis,
Clinical Centre, Niš*

Biochemical analyses of pleural fluid are the first step in differentiation of pleural effusions (PE) into exudates (E) and transudates (T). Although Light's criteria have been used most commonly for the separation of E from T, they are less accurate in identifying transudates. Therefore, new parameters have been used to improve the accuracy of diagnosis. Free oxygen radicals (FOR) are known to produce damage in many biological tissues. FOR exert their cytotoxic effect by causing lipid peroxidation which is believed to be responsible for the exudation of fluid into the pleural space. Based on this idea, the aim of this study was the determination of malondialdehyde (MDA), as the final product of lipid peroxidation in pleural fluid (MDAp) and in serum (MDAs) and pleural fluid to serum MDA ratio (MDAp/s); and to compare our results with other well established criteria. We analysed 30 patients with PE who were classified as E(20) and T(10) by Light's criteria. MDA was measured by spectrophotometric method with TBA. Our results showed significant increase of MDAs level in both groups of patients: E (7.27 ± 1.29 mmol/L) and T (7.75 ± 0.89 mmol/L) in comparison with control group (5.10 ± 0.87 mmol/L) $p < 0.001$. MDAp level in E (5.16 ± 1.28 mmol/L) was also significantly increased than in T (2.67 ± 0.61 mmol/L), $p < 0.001$. Similarly, MDAp/s ratio was significantly higher in E (0.72 ± 0.17 mmol/L) than in T (0.34 ± 0.05 mmol/L) $p < 0.001$. Using a cut-off value (0.4) for MDAp/s ratio (sensitivity 95% and specificity 90%) effectively separated E from T. Based on these results we can conclude that determination of lipid peroxidation products may be useful in diagnosis-differentiation of pleural effusions into E and T. It is of significance for the correct treatment of patients with PE.

B ENZIMI ENZYME

B23

PRO-ANTIOKSIDATIVNI STATUS U EKSPERIMENTALNOJ UNILATERALNOJ NEFREKTOMIJI

*T. Cvetković, V. B. Đorđević,
D. Pavlović, G. Kocić, P. Vlahović*

Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Niš

Uklanjanje jednog bubrega dovodi do kompenzatornog povećanja bubrežne mase preostalog bubrega što se karakteriše povećanjem stepena glomerularne filtracije (40–70%) i tubularne reapsorpcije. Unilateralna nefrektomija (UN) takođe je praćena povećanom potrošnjom kiseonika i produkcijom slobodnih radikala u preostalom bubregu. Cilj ove studije bio je da ispita promene pro-antioksidativnog statusa tokom unilateralne nefrektomije. Unilateralna nefrektomija izvedena je na muškim pacovima Wistar soja (n=6) nakon podvezivanja krvnih sudova i uretera. Kontrolnu grupu činilo je 6 lažno operisanih životinja. Nakon 48 sati pacovi su žrtvovani i vađena je heparinizovana krv iz abdominalne aorte. Bubrezi su brzo izvađeni, dekapsulirani i homogenizovani (10% homogenat) na ledu. U plazmi je određivana koncentracija uree i kreatinina, a koncentracija malondialdehida (MDA), glutationa (GSH) kao i aktivnost glutation-S-transferaze (GSH-ST) i katalaze u plazmi i tkivu bubrega. Urea (9,27–0,69 mmol/L) i kreatinin (79,60–11,16 µmol/L) bili su statistički značajno povećani u UN grupi ($p < 0,001$) u poređenju s kontrolnom grupom (6,41–0,78 urea; 46,25–4,41 kreatinin). U toj grupi značajno je povećana koncentracija MDA u plazmi (13,50–1,27 µmol/L; prema kontroli 9,94–1,16; $p < 0,001$), a nepromenjena u bubregu. Koncentracija GSH u krvi UN grupe (14,79–1,28 µmol/g Hb; prema kontroli 10,58–1,15; $p < 0,05$) kao i aktivnost GSH-ST u plazmi (19,99–5,09 mmol/L/min; prema kontroli 13,57–3,01; $p < 0,05$) bila je povećana, a snižena u tkivu bubrega. Aktivnost katalaze u plazmi i eritrocitima bila je nepromenjena u poređenju sa kontrolnom grupom dok je u bubregu snižena (8,95–3,28 mmol/mg proteina) u odnosu na kontrolnu grupu.

B23

PRO-ANTIOXIDATIVE STATUS IN EXPERIMENTAL UNILATERAL NEFRECTOMY

*T. Cvetković, V. B. Đorđević,
D. Pavlović, G. Kocić, P. Vlahović*

Institute of Biochemistry, Medical Faculty, Niš

The removal of left kidney leads to the compensatory renal mass elevation characterized by increase in GFR (40–70%) and tubular reabsorption. This unilateral nephrectomy (UN) is also followed by intensive oxygen consumption and elevated free radicals production of the remnant kidney. The present study was designed to explore a change in pro-antioxidative status during experimental unilateral nephrectomy. Unilateral nephrectomy was done on 6 male Wistar rats (180–200 g) after blood vessels and ureteral ligation. The control group consisted of 6 sham-operated animals. After forty-eight hours the rats were sacrificed and heparinized blood was collected from the abdominal aorta. Kidney was quickly removed, decapsulated and homogenized (10% homogenate) on ice. The plasma urea and creatinine concentration were determined. The concentration of malondialdehyde (MDA), content of glutathione (GSH), activity of glutathione-S-transferase (GSH-ST) and catalase were determined in the plasma and kidney. The urea (9.27–0.69 mmol/L) and creatinine (79.60–11.16 µmol/L) in the UN group were elevated ($p < 0.001$) in comparison to control group (6.41–0.78 urea; 46.25–4.41 creatinine). In this group MDA concentration was also significantly increased in the plasma (13.50–1.27 µmol/L; vs control 9.94–1.16; $p < 0.001$), remaining unchanged in kidney. The concentration of GSH in blood of UN group (14.79–1.28 µmol/g Hb vs control 10.58–1.15; $p < 0.05$) as well as the activity of GSH-ST in plasma (19.99–5.09 mmol/L/min; vs control 13.57–3.01; $p < 0.05$) were increased, and decreased in kidney ($p < 0.05$). Activity of catalase was significantly decreased in kidney of UN group (8.95–3.28 mmol/mg

pu (8,95 – 3,28 mmol/mg proteina $p < 0,05$). Iako je bubreg izložen oksidativnom stresu, antioksidativni faktori uspešno uklanjaju slobodne radikale i tako ga štite. Dobijeni rezultati pokazuju da je period od 48 sati suviše kratak za sintezu novih proteina (katalaza, GSH i GSH-ST) koji su uključeni u sistem antioksidativne odbrane bubrega.

B24

ANTIOKSIDANTNI ZAŠTITNI SISTEM MIOKARDA POSLE OPERACIJE NA OTVORENOM SRCU

*V. Ristovski, Lj. Ristovski, V. Šćekić,
V. Mujović, N. Radovanović*

*Univerzitetska klinika za kardiovaskularnu
hirurgiju, Novi Sad*

Precizan klinički značaj slobodnih kiseoničkih radikala posle operacije na otvorenom srcu još uvek nije rasvetljen. Smatra se da se slobodni kiseonički radikali stvaraju odmah po operaciji što do sada nije potvrđeno. Superoksid dizmutaza (SOD, EC 1.15.1.1) jedan je od najvažnijih enzima antioksidantnog sistema. SOD katalizuje pretvaranje superoksid radikala u vodonik peroksid koji se dalje metaboliše do kiseonika i vode. Zato se ubraja u najvažnije zaštitnike od dejstva slobodnih kiseoničkih radikala. U ovoj studiji određivane su aktivnosti SOD u eritrocitima i biohumoralni status u plazmi kod 60 pacijenata posle operacije na otvorenom srcu pre i 1/2, 6, 24, 48, 72 sata posle operacije. U isto vreme određivani su i drugi markeri oštećenja srca (CK, CK-MB, LDH, AST) kao i ukupni proteini, mokraćna kiselina, bilirubin i dr. SOD je određivan Randox-ovim testom na automatskom analizatoru Cobax Fara II (Roche) na 37 °C, a CK, CK-MB, ukupni proteini, mokraćna kiselina, bilirubin i dr. standardnim biohemijskim metodama. SOD je izražena u U/g Hb. Rezultati pokazuju da je aktivnost SOD bila značajno niža 1/2 sata posle operacije na otvorenom srcu ($p < 0,05$) kao i da su CK, CK-MB, LDH, AST značajno viši posle operacije na otvorenom srcu ($p < 0,05$) u odnosu na kontrolnu grupu. U ispitivanim vremenskim intervalima zabeleženo je smanjenje ukupnih proteina. Dobijeni rezultati ukazuju na sniženje aktivnosti SOD, verovatno zbog hiperproducije slobodnih kiseoničkih radikala. Povišena produkcija slobodnih kiseoničkih radikala ide u prilog hipotezi koja uključuje slobodne kiseoničke radikale u patofiziološke mehanizme reperfuzije.

protein) compared to the control (15.57 – 3.06; $p < 0.005$). Despite kidney was exposed to oxidative stress, antioxidative factors successfully removed free radicals. These results indicate that in the kidney 48h period is too short for the new synthesis of proteins (catalase, GSH and GSH-ST) involved in antioxidative processes.

B24

ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM IN MYOCARDIUM AFTER OPEN HEART SURGERY

*V. Ristovski, Lj. Ristovski, V. Šćekić,
V. Mujović, N. Radovanović*

*University Clinic of Cardiovascular Surgery,
Novi Sad, Yugoslavia*

The precise clinical importance of free oxygen radicals after open heart surgery has not yet been elucidated. It is believed that free oxygen radicals are produced as early as during the operations; however this has not yet been confirmed. Superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) is one of the most important enzymes in the antioxidant system. SOD catalyses the transformation of superoxide radicals into hydrogen peroxide which is further metabolized to oxygen and water. Therefore, it is the most important protector against the effects of these radicals. The study concerns the determination of SOD activity in erythrocytes and biohumoral status of plasma obtained from 60 patients after open heart surgery, before and 1/2, 6, 24, 48, 72 hours after operation. At the same time other markers of heart disease (CK, CK-MB, LDH, AST) and total protein, uric acid, bilirubin, etc. SOD activities were examined using Randox reagent and automated Cobas Fara II analyser (ROCHE) at 37 °C and CK, CK-MB, total protein, uric acid, bilirubin, using standard biochemical methods. SOD was expressed in U/g Hb. Results showed that SOD activities were significantly lower 1/2 hour after open heart surgery ($p < 0.05$) and significantly higher levels of CK, CK-MB, LDH, AST ($p < 0.05$) comparing with controls. During the monitoring decreased total protein levels were observed. The obtained results indicate the reduction in SOD activity, probably because of hyperproduction of free oxygen radicals. The higher production of free radicals supports the hypothesis which includes these radicals in the pathophysiological mechanism of reperfusion.

B25

**ANTIOKSIDANTNI KAPACITET LIMFOCITA
BOLESNIKA U TERMINALNOM STADIJUMU
HRONIČNE BUBREŽNE INSUFICIJENCIJE
I HEMODIJALIZIRANIH BOLESNIKA**

Ž. Davičević, T. Simić, K. Ille,
A. Savić-Radojević, M. Plješa, J. Mimić-Oka

Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Beograd

Bolesnici u terminalnom stadijumu hronične bubrežne insuficijencije (HBI) izloženi su oksidativnom stresu, koji ima ulogu i u patogenezi i progresiji uremijskih komplikacija. Imunske ćelije posebno su osjetljive na oksidativni stres zbog visokog sadržaja polinezasićenih masnih kiselina i povišene produkcije kiseoničnih slobodnih radikala. Poremećaji funkcije imunskog sistema bolesnika sa HBI verovatno su povezani sa oksidantno/antioksidantnim disbalansom u imunskim ćelijama. Cilj ovog istraživanja bio je određivanje enzimskog antioksidantnog kapaciteta limfocita bolesnika s terminalnom bubrežnom insuficijencijom i hemodializiranih bolesnika. Određivana je aktivnost antioksidantnih enzima superoksid dizmutaze (SOD), glutation peroksidaze (GPX), katalaze (CAT), glutation S-transferaze (GST) i glutation reduktaze (GR) u limfocitima nedijaliziranih pacijenata u terminalnom stadijumu HBI (20 pacijenata) i hemodializiranih pacijenata (12 pacijenata). Dobijeni rezultati pokazuju da se aktivnost antioksidantnih enzima povećava sa progresijom hronične bubrežne insuficijencije, a najznačajnije povećanje je u limfocitima bolesnika u terminalnom stadijumu HBI (Ccr manji od 21 mL/min). Promene u aktivnosti antioksidantnih enzima u limfocitima mogu biti adaptivni mehanizam za ćelije usled hiperprodukcije slobodnih radikala u HBI. Porast aktivnosti antioksidantnih enzima uočen kod nedijaliziranih bolesnika delimično je smanjen kod bolesnika lečenih hemodializom.

B25

**LYMPHOCYTE ANTIOXIDANT CAPACITY
IN END STAGE RENAL DISEASE
AND HEMODIALYSIS PATIENTS**

Ž. Davičević, T. Simić, K. Ille,
A. Savić-Radojević, M. Plješa, J. Mimić-Oka

Institute of Biochemistry, Medical Faculty, Belgrade

Chronic renal failure (CRF) patients in end stage renal disease (ESRD) are more exposed to oxidative stress, a state which also play a role in pathogenesis and progression of uremic complications. Immune cells are particularly sensitive to oxidative stress because of high percentage of polyunsaturated fatty acids and a higher production of reactive oxygen species. Thus, the impairment in immune system of CRF pts is probably related to an oxidant/antioxidant imbalance in immune cells. In this study activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) and glutathione reductase (GR) were studied in lymphocytes of non-dialysed patients in ESRD (20 pts) and of patients on regular hemodialysis (HD) treatment (12 pts). The results obtained show that antioxidant enzyme activities increase with progression of chronic renal insufficiency, and the more pronounced augmentation were found in lymphocytes from the ESRD patients (with Ccr less than 21 mL/min). These changes could be an adaptive mechanism for the cells due to a hyperproduction of free radicals in CRF. The increase of antioxidant activity seen in ND pts were partly abolished in patients undergoing HD.

B26

**ZNAČAJ ODREĐIVANJA β -NAG I γ -GT
U URINU DIJABETIČARA
SA RAZLIČITIM STEPENOM
MIKROALBUMINURIE**

D. Stevanović¹, R. Obrenović²,
N. Majkić-Singh², V. Jovanović¹

¹Biohemijiska laboratorija, Zdravstveni centar Zaječar

²Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd

Merenje enzymurije u nefrologiji je koristan neinvazivni test za procenu anatomske integritete tubulo-intersticijuma. Cilj rada bio je ispitivanje uticaja mikroalbuminurije na anatomska integritet tubula u ko-

B26

**THE IMPORTANCE OF DETERMINING
 β -NAG AND γ -GT IN TYPE 2
DIABETIC PATIENTS WITH DIFFERENT
MICROALBUMINURIA DEGREE**

D. Stevanović¹, R. Obrenović²,
N. Majkić-Singh², V. Jovanović¹

¹Biochemical Laboratory, Health Centre Zaječar

²Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade

Measuring of enzymuria in nephrology represent useful, non-invasive test for evaluation of anatomic integrity of tubulo-interstitium. The investigations were carried out with the aim to determine the influ-

relaciji sa katalitičkom aktivnošću lizozomalnog enzima N-acetil- β -D-glukozaminidaze (β -NAG) i enzima četkastog pokrova tubula γ -glutamil transferaze (γ -GT) u urinu. Aktivnosti enzima izražene su na mmol urinarnog kreatinina. Korišćen je 24h urin, čime su izbegnute varijacije ekskrecije u toku dana. Ispitivani su bolesnici oboleli od *diabetes mellitus* tipa II. Pacijenti su podeljeni u 3 grupe: I grupa, pacijenti sa mikroalbuminurijom manjom od 0,01 g/24h; II grupa, sa mikroalbuminurijom od 0,01 do 0,3 g/24h; III grupa, sa mikroalbuminurijom od 0,3 do 3 g/24h. Za statističku obradu podataka korišćen je Mann-Witney-ev neparametarski test i neparametarska analiza varijanse po Kruskall-Wallis. Rezultati pokazuju da je porast aktivnosti β -NAG u urinu dijabetičara u III grupi bila statistički značajna u odnosu na bolesnike I (0,45 0,23) i II (0,85 0,39) grupe. Bolesnici II grupe imali su statistički značajno veću aktivnost β -NAG u odnosu na bolesnike I grupe. Porast aktivnosti γ -GT bio je, statistički, značajno veći kod bolesnika III grupe (3,43 1,16) samo u odnosu na bolesnike I (1,52 1,19) grupe. Na osnovu navedenih rezultata zaključeno je da je β -NAG osetljiviji parametar nego γ -GT za procenu uticaja mikroalbuminurije na anatomske integritet tubula i procenu stepena oštećenja tubula.

ence of microalbuminuria on anatomic integrity of tubules in correlation with catalytic activity of lysosomal enzyme N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (β -NAG) as well as catalytic activity of enzyme γ -glutamyl transphosphatase (γ -GT) in urine. The activities of enzymes are represented in mmol of urinary creatinine. We used 24h urine, whereby daily variation of excretion were avoided. In this study, patients with type 2 diabetes mellitus were examined. Patients were divided in 3 groups: I group, patients with microalbuminuria less than 0.01 g/24h; II group, with microalbuminuria from 0.01 to 0.3 g/24h and III group, with microalbuminuria from 0.3 to 3 g/24h. For statistical analysis, Mann-Witney non-parametric test and non-parametric analysis of variance according to Kruskall-Wallis were used. Results showed that β -NAG activity in urine of diabetic patients from III group (1.91 1.44) was significantly higher compared with β -NAG activity in urine of patients from I (0.45 0.23) and II group (0.85 0.39). In patients from II group β -NAG activity (0.85 0.39) increased statistically significant compared with β -NAG activity in patients from I group (0.45 0.23). Activity of γ -GT significantly increased in patients from III group (3.43 1.16) only compared with patients from I group (1.52 1.19). Based on reported results, we concluded that β -NAG represent more sensitive parameter than γ -GT for evaluation of the influence of microalbuminuria on anatomic integrity of tubules and for evaluation of tubule damage degree.

B27

UTICAJ pH NA ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI N-ACETIL- β -D-GLUKOZAMINIDAZE

J. Aćimović, B. Bojčevski,
V. Jovanović, Lj. Mandić

Hemijiski fakultet, Beograd

Određivanje aktivnosti N-acetil- β -D-glukozaminidaze (EC 3.2.1.30; NAG) u urinu pokazalo je da NAG može biti veoma koristan pokazatelj renalnih oštećenja do kojih dolazi u različitim patološkim stanjima i pod dejstvom različitih toksičnih supstanci. Pri određivanju aktivnosti urinarnog NAG-a kod zdravaca koji su bili izloženi dejstvu teških metala nađene su vrednosti niže od očekivanih za renalna oštećenja. Urini su imali boju od žute do mrke. U urinima mrke boje pH vrednost je bila veća od 8, što je dovelo do toga da se u ovom radu ispita zavisnost aktivnosti NAG-a od pH. Aktivnost NAG-a određivana je sa 2-metoksi-4-(2-nitrovinil)-fenil-N-acetil- β -D-glukozaminidom kao supstratom. U slabo-kiseloj sredini (pH oko 6) ukupna aktinost urinarnog NAG-a je stabilna,

B27

THE INFLUENCE OF pH ON THE N-ACETYL- β -D-GLUCOSAMINIDASE ACTIVITY DETERMINATION

J. Aćimović, B. Bojčevski,
V. Jovanović, Lj. Mandić

Faculty of Chemistry, Belgrade

It was shown that activity of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase (EC 3.2.1.30; NAG) may be useful parameter of renal damage in some pathological states as well as under toxicological substances action. In rabbits exposed to heavy metals urinary NAG activities were smaller than expected for renal injuries. The color of urines was yellow to dark. pH of dark urines was higher than 8. To clear these findings the influence of pH on NAG activity was investigated in this paper. For determination of NAG activity 2-methoxy-4-(2-nitrovinyl)-phenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide as substrate was used. Under mild acidic condition (about pH 6), there was no significant loss of total urinary NAG activity. In contrast, under alkaline condition (pH > 8) the total enzymatic activity of

dok se u alkalnoj sredini ($\text{pH} > 8$) ona izrazito smanjuje. Da bi se sagledao uzrok ovog smanjenja aktivnosti ispitani, su izoenzimski profili NAG-a u slabo-kiseloj i baznoj sredini (pri različitim pH vrednostima). Za razdvajanje izoenzimskih oblika primenjena je jo-nizmenjivačka hromatografija na DEAE celulozi. Analiza profila je pokazala je da se aktivnost A oblika NAG-a u baznoj sredini značajno smanjuje (inaktivacija A oblika). Budući da je u normalnom urinu ($\text{pH } 5\text{--}7$) ideo aktivnosti A oblika u ukupnoj aktivnosti NAG-a znatno veći ($84.64 \pm 2.75\%$) od udela B oblika ($8.62 \pm 2.19\%$), određivanje ukupne aktivnosti NAG-a u baznoj sredini daje pogrešne rezultate. Stoga u slučaju baznih urina renalna oštećenja treba procenjivati na osnovu aktivnosti B oblika.

NAG was rapidly lost. To understand the cause of NAG activity decrease, the isozyme profiles in mild acidic and alkaline conditions (under different pH values) were investigated. For separation of isoenzyme forms the ion-exchange chromatography on DEAE cellulose was applied. The analysis of profiles showed that activity of NAG isozyme A under alkaline condition significantly decreases (it seems to be inactivated). As isozyme A is a major form in normal urine ($\text{pH } 5\text{--}7$) which contribution in total activity ($84.64 \pm 2.75\%$) is higher than contribution of isozyme B ($8.62 \pm 2.19\%$), the results obtained for total NAG activity under alkaline condition may be wrong. Thus our results suggest that for alkaline urine, NAG isozyme B should be measured for detection renal damage.

B28

AKTIVNOST SUPEROKSID DIZMUTAZE U PLAZMI I ERITROCITIMA PACIJENATA OBOLELIH OD ŠIZOFRENije

*N. D. Petronijević¹, D. V. Mićić¹,
B. Đuričić¹, D. Marinković²,
V. R. Paunović²*

¹Institut za biohemiju, Medicinski fakultet,

²Institut za psihijatriju,
Klinički centar Srbije, Beograd

Poremećaj antioksidantne odbrane i povećanje lipidne peroksidacije nađeno je u pacijenata obolelih od šizofrenije. Mogućnost da oštećena antioksidantna odbrana i izraženo peroksidativno oštećenje mogu biti integralni deo patofiziološkog procesa šizofrenog oboljenja intenzivno se razmatra. Cilj ove studije je bio da se odredi aktivnost superoksid dizmutaze (SOD, EC 1.15.1.1.) u plazmi i eritrocitima: 1 pacijenata sa prvom episodom psihoze ($n=20$) pre prime-ne terapije i zatim posle 7, 14 i 21. dana tretmana; 2 hroničnih lečenih pacijenata ($n=52$) u fazi egzacerbacije. Svi pacijenti su razvrstani u grupe prema Crow-u, kao Tip-I i Tip-II šizofrenije (SCH). Aktivnost superoksid dizmutaze je merena spektrofotometrijski na osnovu autooksidacije epinefrina. Dobijeni rezultati pokazali su da je u grupi pacijenata sa prvom episodom psihoze, pre lečenja, aktivnost SOD u eritrocitima i plazmi bila značajno snižena ($p<0.05$) u poređenju sa kontrolom, samo kod pacijenata sa Tipom-I SCH. Posle prve tri nedelje tretmana, aktivnost SOD u plazmi i eritrocitima bila je u okviru kontrolnih vrednosti u obe ispitivane grupe. Kod hroničnih pacijenata koji su dobijali neuroleptike u periodu dužem od jedne godine, zapaženo je statistički značajno pove-

B28

SUPEROKSID DISMUTASE ACTIVITY IN PLASMA AND ERYTHROCYTES OF PATIENTS SUFFERING FROM SCHIZOPHRENIA

*N. D. Petronijević¹, D. V. Mićić¹,
B. Đuričić¹, D. Marinković²,
V. R. Paunović²*

¹Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine,

²Institute of Psychiatry, Clinical Center of Serbia,
Belgrade, Yugoslavia

Impaired antioxidant defense and increased lipid peroxidation has been reported in schizophrenic patients. The possibility that an impaired antioxidant defense and increased peroxidative injury might be integral to the schizophrenic disease process is under intensive consideration. The aim of the present study was to assess activity of superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1.) in plasma and erythrocytes of: 1 patients with first episode of psychosis ($n=20$) before medication and then after 7, 14 and 21. days of treatment; 2 chronic medicated schizophrenic patients ($n=52$) in the phase of exacerbation. All patients were selected in groups with Crow's Type-I or Type-II of schizophrenia (SCH). Superoxide dismutase activity was measured by spectrophotometric assay based on epinephrine autoxidation. Our results revealed that in the group of patients with first episode of psychosis, before medication, SOD activities in erythrocytes and plasma were significantly decreased ($p<0.05$) comparing to controls, only in patients with Type-I of SCH. After first 21 days of treatment the activities of SOD in plasma and erythrocytes were in the range of control values in both investigated groups. In chronic patients that have received neu-

ćanje ($p < 0,05$) aktivnosti SOD i u plazmi i u eritrocitem pacijenata sa oba tipa SCH. Može se zaključiti da smanjenje aktivnosti SOD kod pacijenata sa prvom epizodom SCH Tipa I, pre lečenja, predstavlja promenu koja je najverovatnije karakteristika samog procesa bolesti. Povećanje aktivnosti SOD koje prati prolungirani tretman antipsihoticima moglo bi biti posledica povećanog oksidativnog tonusa uzrokovano povećanim metabolizmom kateholamina ili samog leka.

roleptics during period longer than one year, statistically significant increase ($p < 0.05$) in SOD activity was noticed in plasma and erythrocytes of patients with both types of SCH. We can conclude that the decrease of SOD activity noticed in first episode Type I patients before medication represents the change which is likely to be characteristic of the disease process itself. Elevation of SOD activity after prolonged treatment with antipsychotics might be the consequence of increased oxidative tonus caused by increased catecholamine or drug turnover.

B29

UTICAJ SALICILNE KISELINE NA AKTIVNOST ALFA-AMILAZE, BETA-GLUKURONIDAZE I NAG U SVEŽIM UZORCIMA URINA

S. D. Jovanović

Odeljenje laboratorije, Pedijatrijska klinika,
Medicinski fakultet, Novi Sad

Cilj rada bio je da se ispita uticaj niskih doza salicilne kiseline (aspirin od 0,5 g na dan) na 3 glikozid hidrolaze izlučenih u svežim uzorcima urina. Ispitivanja su izvedena kod 15 zdravih odraslih dobrovoljaca. Određivani su sledeći enzimi: alfa-amilaza (EC 3.2.1.1), beta-glukuronidaza (EC 3.2.1.31) i NAG (EC 3.2.1.30). Prvi enzim je važan za funkciju pankreasa, a druga dva za ispitivanje bubrežnih tubula. *In vitro* ispitivanjima nađeno je neznatno sniženje aktivnosti beta-glukuronidaze (beta-glu) i N-acetyl-beta-D-glukuronidaze (NAG) kao enzima proksimalnih tubula, dok se alfa-amilaza nije menjala. Aspirin je davan direktno u sveže uzorce urina (kumuliran uzorak) u koncentracijama 10, 50, 100 i 300 mmol/L. Uočeno je nelinearno sniženje NAG (od 4,09 do 2,18 U/L, srednje vrednosti) i skoro linearan pad beta-glu (od 55,3 do 23,0 U/L, srednje vrednosti). Alfa-amilaza pokazuje sličan trend (od 277 ka 198 U/L u trećem satu čemu sledi porast aktivnosti u četvrtom satu (246 U/L). U isto vreme koncentracija salicilata raste u prvom i drugom satu posle ingestije, a zatim sledi sniženje u trećem i četvrtom satu. Sniženjeenzimske aktivnosti može da se tumači kao direktno dejstvo salicilata na proksimalne ćelije tubula. Nema sumnje da male doze salicilata interferiraju pri određivanju enzimske aktivnosti.

B29

INFLUENCE OF SALICYLIC ACID ON THE ACTIVITY OF ALPHA-AMYLASE, BETA-GLUCURONIDASE AND NAG IN FRESH URINE SAMPLES

S. D. Jovanović

Department of Laboratory, Clinic of Pediatrics,
Faculty of Medicine Novi Sad, Yugoslavia

The aim of the study was to investigate the influence of low doses of salicylic acid (aspirin, 0.5 g/day) in 15 healthy adult volunteers on 3 glycosid hydrolases excreted in fresh urine samples. The enzymes were as following: alpha-amylase (EC 3.2.1.1), beta-glucuronidase (EC 3.2.1.31) and NAG (EC 3.2.1.30). The first enzyme is important for pancreas examinations and the two others for investigations of kidney tubules. Investigations *in vitro* gave slight fall of the activities of beta-glucuronidase (beta-glu) and (N-acetyl-beta-D-glucuronidase NAG) as proximal tubular enzymes, while alpha-amylase showed almost no changes. Aspirin was added directly to fresh urine samples in concentrations of 10, 50, 100 and 300 mmol/L. Investigations *in vivo* (0.5 g/day) were performed in urine from zero to four hours after application. Non linear fall of NAG (from 4.09 to 2.18 U/L, mean values), nearly linear fall of beta-glu (from 55.3 to 23.0 U/L, mean values) were marked. Alpha-amylase presented similar trend (from 277 to 198 U/L) in the third hour followed by increase of the activity in the fourth hour (246 U/L). In the same time salicylic acid showed an increase in the first and the second hour after ingestion followed by the decrease in the third and the fourth hour. The depression of enzyme activities could be seen as an direct action of salicylic acid on proximal tubular cells. There is no doubt the problem in interference (influence) is present in the enzyme determination using even low doses of salicylic acid.

B30

**PRAĆENJE AKTIVNOSTI
GLUKOZA-6-FOSFAT DEHIDROGENAZE
I METHEMOGLOBINA KOD RADNIKA
IZLOŽENIH PARAMA ORGANSKIH
RASTVARAČA**

V. Knežević, D. Milosavljević, O. Knežević

*Služba za laboratorijsku dijagnostiku,
Dom zdravljia u Kragujevcu,
Medicinski fakultet, Kragujevac*

Biotransformacijom benzena i njegovih derivata stvaraju se reaktivni intermedijeri koji produkuju slobodne radikale. Ćelije su zaštićene od oštećenja izazvanih slobodnim radikalima različitim endogenim mehanizmima sa antioksidativnom ulogom. Jedna od značajnih manifestacija oksidativnog stresa je promena aktivnosti glukoza-6-fosfat dehidrogenaze. Glukoza-6-fosfat dehidrogenaza (G-6-PDH, EC 1.1.1.49.) je ključni enzim u pentozo-fosfatnom ciklusu kojim se preko NADPH obezbeđuje redukovani glutation kao glavni neenzimski antioksidant. U ovoj studiji su određivane aktivnosti G-6-PDH u eritrocitima i koncentracije methemoglobina (Met-Hb) kod 30 radnika izloženih parama organskih rastvarača. G-6-PDH je određivan Randox-ovim testom na jednokanalnom-fleksibilnom automatskom analizatoru Minilab na 37 °C, a Met-Hb je određivan posebnom biohemiskom metodom na spektrofotometru Emerald III, koristeći karakterističan vrh apsorbancije na 630 nm, a zatim smanjenje apsorbancije proporcionalno koncentraciji met-hemoglobina posle dodavanja cijanida. G-6-PDH je izražavan u U/g Hb, a Met-Hb % ukupnog Hb. Rezultati pokazuju da je aktivnost G-6-PDH značajno niža kod izloženih ovim organskim rastvaračima ($p < 0,05$). Procenat methemoglobina značajno je viši kod izloženih benzenu i njegovim derivatima ($p < 0,05$) u odnosu na kontrolnu grupu. Rezultati ove studije ukazuju na snižene vrednosti G-6-PDH verovatno zbog dominacije proksidanasa, odnosno stvorenog oksidativnog stresa. Takođe, prisustvo slobodnih radikala utiče na gvožđe da gubi elektron pri čemu nastaje ferimethemoglobin i superoksid anjon radikal. Određivanje ovih parametara u hemolizatu može da ukaže na toksičnost benzena i njegovih derivata sa niskim koncentracijama (nižim od MDK), pre kliničke ekspresije.

B30

**MONITORING GLUCOSE-6-PHOSPHATE
DEHYDROGENASE ACTIVITY,
AND MET-Hb WITHIN THE GROUP
OF WORKERS PREVIOUSLY EXPOSED
TO ORGANIC DISSOLVENT VAPOURS**

V. Knežević, D. Milosavljević, O. Knežević

*Department of Laboratory Diagnostics,
Health Center in Kragujevac,
The University of Medical Sciences, Kragujevac*

Biotransformation of benzene, as well as biotransformation of benzene derivatives, forms reactive intermediers, that create free radicals. Various endogene mechanisms with antioxidant functions, protect cells from damages caused by free radicals. One of the significant demonstrations of oxidizing stress is change in activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH). G-6-PDH is the key enzyme in pentose-phosphate cycle, that through NADPH, provides reduced glutation as main non enzyme antioxidanting agent. This study is about determination of the activity of G-6-PDH in human red blood cells and the concentration of Met-Hb in red cells within the population of 30 workers previously exposed to vapours of organic dissolvents. G-6-PDH has been determined by Randox test on one channel, flexible, automatic analyser Minillab at 37 °C. Met-Hb has been determined by special biochemical method on spectrophotometer »EMERALDIII», applying characteristic absorption peak on 630 nm, and then decrease of absorption proportional to Met-Hb concentration gained after addition of cyanide. G-6-PDH is being expressed in U/g Hb, and Met-Hb is being expressed in % of total Hb. The results show that G-6-PDH activity is significantly lower within the group of exposed to organic dissolvant vapours ($p < 0.05$). In comparison with the control group, the percentage of Met-Hb is significantly higher within the group of exposed to benzene and benzene derivates ($p < 0.05$). The results of this study indicate the decreased values of G-6-PDH due to peroxidant domination i.e. created oxidizing stress. The presence of free radicals also causes Fe loss of electron, while creating ferimethemoglobin and superoxide anion radical. Determination of these parameters in haemolysate, can point out to the toxic influence of benzene and it's derivatives with their decreased concentrations (lower than MDK), even before it's clinical expression.

B31

**KATABOLIZAM POLIAMINA U JETRI
U ISHEMIJSKO-REPERFUZIONOM
OŠTEĆENJU BUBREGA**

I. Stojanović¹, T. Cvetković¹, P. Vlahović²,
G. Bjelaković¹, T. Jevtović¹,
D. Sokolović¹, J. Bašić¹

¹Institut za biohemiju, Medicinski fakultet,
Univerzitet u Nišu

²Klinika za nefrologiju, Klinički centar, Niš

U cilju ispitivanja eventualnog uticaja ishemijsko-reperfuzionog oštećenja bubrega na metabolizam poliamina, ispitivana je aktivnost diamino- i poliamin oksidaze u jetri pacova podvrgnutih ishemiji, a zatim reperfuziji bubrega, kao i životinja tretiranih kvercetinom (20 mg/kg telesne mase) pre ishemijsko-reperfuzionog oštećenja. Srednja vrednost aktivnosti poliamin oksidaze u jetri pacova s ishemijsko-reperfuzionim oštećenjem bubrega iznosi 1,41 ± 0,19 jed./mg proteina, što je statistički značajan pad u odnosu na vrednost u jetri životinja kontrolne grupe (1,93 ± 0,11). Pod uticajem kvercetina aktivnost poliamin oksidaze se takođe značajno smanjuje (1,46 ± 0,11) u odnosu na kontrolnu grupu, ali nema statistički značajnih promena u odnosu na aktivnost enzima izmerenu u grupi sa ishemijsko-reperfuzionim oštećenjem. Aktivnost diamino oksidaze u jetri pacova podvrgnutih ishemijsko-reperfuzionom oštećenju (1,14 ± 0,09) statistički je značajno niža od aktivnosti u kontrolnoj grupi (1,52 ± 0,18). Pretretman kvercetinom dovodi do još izrazitijeg sniženja aktivnosti ovog enzima (1,005 ± 0,06) u odnosu na kontrolne vrednosti, sa stastističkom značajnošću i u odnosu na vrednost u grupi životinja s ishemijsko-reperfuzionim oštećenjem. Smanjeni katabolizam poliamina u jetri pacova kao odgovor na ishemijsko-reperfuziono oštećenje bubrega verovatno ukazuje na težnju za održanjem visokog intracelularnog sadržaja putrescina u cilju ispoljavanja njegovih protektivnih efekata u parenhimu jetre.

B32

**AKTIVNOSTI SUPEROKSID DIZMUTAZE,
KATALAZE I PEROKSIDAZE KOD ZDRAVIH
LJUDI I INSULIN ZAVISNIH DIJABETIČARA**

A. Kozić, M. Popović, V. Ivetić, S. Gavrilović

¹Dom zdravlja Dr Milorad Mika Pavlović, Indija
²PMF, Institut za hemiju, Novi Sad

³Zavod za fiziologiju, Medicinski fakultet, Novi Sad

⁴Institut za hirurgiju, Medicinski fakultet, Novi Sad

Oksidativni stres ima ključnu ulogu u brojnim biološkim fenomenima kao što su diferencijacija, transdukcija signala, starenje i u patogenezi mnogih bolesti (karcinom, dijabetes, ateroskleroza i dr.). Kod dija-

B31

**LIVER POLYAMINE CATABOLISM
IN RENAL ISCHEMIA-REPERFUSION
IN RATS**

I. Stojanović¹, T. Cvetković¹, P. Vlahović²,
G. Bjelaković¹, T. Jevtović¹,
D. Sokolović¹, J. Bašić¹

¹Institute of Biochemistry, Medical Faculty,
University of Niš

²Clinic for Nephrology, Clinical Center, Niš

Diamine and polyamine oxidase activities in liver of rats underwent renal ischemic-reperfusion damage as well as of animals pretreated by quercetine (20 mg/kg b.w.) in the same experimental model, were studied in order to examine eventual influence of ischemic-reperfusion injury on liver polyamine catabolism. Polyamine oxidase activity was significantly decreased (1.41 ± 0.19 U/mg proteins) in liver of rats with renal ischemia-reperfusion compared to the control values (1.93 ± 0.11). Under the influence of quercetine the activity of polyamine oxidase significantly decreased as well (1.46 ± 0.11), but without statistically significant changes related to the activity measured in the group of rats with ischemia-reperfusion. Diamine oxidase activity in liver of rats underwent ischemia-reperfusion was significantly lower (1.14 ± 0.09) in comparison to the control value (1.52 ± 0.18). Quercetine pretreatment caused more pronounced decrease of activity (1.005 ± 0.06), which was statistically significant compared to control as well as ischemia-reperfusion group of animals. Reduced polyamine catabolism in liver following renal ischemia-reperfusion injury could point out an effort of maintaining high liver putrescine pool taking in account its protective role in liver.

B32

**ACTIVITY OF SUPEROXIDE DISMUTASE,
CATALASE AND PEROXIDASE
IN HEALTHY PERSONS AND INSULINE
DEPENDENT DIABETICS**

A. Kozić, M. Popović, V. Ivetić, S. Gavrilović

¹The health center dr Milorad Mika Pavlović, Indija

²Faculty of Sciences, Institute of Chemistry, Novi Sad

³Faculty of Medicine, Institute of Physiology, Novi Sad

⁴Faculty of Medicine, Institute of Surgery, Novi Sad

Oxidative stress plays very important role in a large number of biological phenomena such as differentiation, transformation, transduction of signals,

betičara prisustvo hiperglikemije dovodi do povećane produkcije reaktivnih kiseoničnih čestica, kroz autooksidaciju glukoze i neenzimsku glikaciju. Smanjenje aktivnosti antioksidativnog odbrambenog mehanizma, povećava osetljivost dijabetičara na oksidativna oštećenja. U ovom radu određivane su aktivnosti enzimskih antioksidativnih sistema (SOD, CAT i Px), u specifičnim ekološkim uslovima Indije kod zdravih ljudi i kod dijabetičara. Aktivnost SOD kod zdravih osoba ima relativno visoke vrednosti do 50 godina starosti, a zatim opada. CAT pokazuje maksimalnu aktivnost u periodu 30-40 godina kod zdravih osoba, a zatim se aktivnost CAT smanjuje. Aktivnost Px (za razliku od prethodnih parametara) ima veoma niske vrednosti kod zdravih osoba do 40 godina, a zatim njena aktivnost intenzivno raste. Aktivnost SOD i CAT daleko je veća kod dijabetičara u odnosu na zdrave ispitanike iste starosne grupe, ali se ove aktivnosti smanjuju sa starenjem. Ovi rezultati su bitni zbog poređenja s rezultatima sličnih istraživanja koja su vršena u svetu u odgovarajućim ekološkim uslovima, sličnim našim i različitim od naših.

aging, and also in pathogenesis of some diseases (cancer, diabetes, atherosclerosis, etc.). Among diabetics, increased production of reactive oxygen species is result of presence of hyperglycemia, occurred throughout autoxidation of glucose and non-enzymatic glycation. Decreasing antioxidative protection mechanisms increase sensitivity of diabetics to oxidative damages. In this study, the activity of anti-oxidative enzymatic systems (SOD, CAT and Px) were determined among healthy people and diabetics in specific ecological environment of India. SOD among people, within age under 50 years of age shows relatively high activity values, and then this activity decrease. CAT shows maximum activity during period of 30-40 years of age among healthy people, and then the CAT activity decrease. The activity of Px (difference from the previous parameters) has rather low values among healthy people under 40 years of age, and then Px activity increase. SOD and CAT activity are significantly increased within diabetics compared to healthy people of same age, but these activities show the tendency to decrease with aging. These results are important to compare with similar researches worldwide, done in specific ecological environments.

B33

ENZIMI ANTIOKSIDATIVNE ZAŠTITE U KRVI I LIKVORU BOLESNIKA SA BAKTERIJSKIM I VIRUŠNIM MENINGITISOM

L. Zvezdanović¹, S. Stanišić², V. Čosić¹,
J. Lalić¹, V. B. Đorđević¹

¹Centar za medicinsku biohemiju

²Klinika za infektivne bolesti,
Klinički centar Niš

Bakterijski i virusni meningitis praćeni su značajnom produkcijom slobodnih radikala koji su odgovorni za oštećenja nastala u inflamatornom odgovoru. U uslovima jakog oksidativnog stresa angažovan je antioksidativni sistem koga čine enzimi: superoksid dizmutaza (SOD), glutation peroksidaza (GSH-Px), katalaza (CAT) kao i drugi elementi endogene zaštite. U ovoj studiji je određivana aktivnost SOD, GSH-Px i CAT u krvi i likvoru 19 bolesnika sa bakterijskim (BM) i 11 bolesnika sa virusnim meningitism (VM). Kontrolnu grupu činilo je 12 ispitanika lečenih pod dijagnozom »meningizam«. SOD i GSH-Px određivani su Randox-ovim testovima na automatskom analizatoru Synchron CX-5. Aktivnost katalaze u plazmi određivana je spektrofotometrijskom metodom Koroljuka i saradnika a u eritrocitima kinetičko-spektrofotometri-

B33

ANTIOXIDATIVE PROTECTION ENZYMES IN BLOOD AND CEREBROSPINAL FLUID OF THE PATIENTS WITH BACTERIAL AND VIRAL MENINGITIS

L. Zvezdanović¹, S. Stanišić², V. Čosić¹,
J. Lalić¹, V. B. Đorđević¹

¹Centre for Medical Biochemistry

²Clinic for Infectious Diseases,
Clinical Centre Niš

Bacterial and viral meningitis are associated with significant production of free radicals, responsible for the inflammatory response damage. In the conditions of intense oxidative stress antioxidative system is engaged comprising the following enzymes: superoxide dismutase (SOD), glutathion peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) as well as other endogenous protection elements. In this study we measured the activity of SOD, GSH-Px and CAT in blood and cerebrospinal fluid of 19 patients with bacterial (BM) and 11 with viral meningitis (VM). Twelve examinees treated under the diagnosis of »meningism« comprised the control group. SOD and GSH-Px were determined with Randox-tests on automatic analyzer SYNCHRON CX-5. Plasma catalase activity was determined with spectrophotometric method by Koro-

jskom metodom Beutler-a. Kod bolesnika sa BM i VM postoji značajan porast aktivnosti SOD u eritrocitima ($p<0,001$), dok aktivnost GSH-Px u eritrocitima nije statistički značajno promenjena u odnosu na kontrolnu grupu. Uočljive promene u sadržaju čelijskih elemenata u likvoru ispitivanih bolesnika nisu prćene promenama aktivnosti SOD, ali je već pri prvoj dijagnostičkoj punciji dobijena značajno povećana aktivnost GSH-Px u bakterijskom ($p<0,001$) i virusnom meningitisu ($p<0,05$). U uslovima povećane produkcije H_2O_2 aktivnost CAT povećana je u eritrocitima ($p<0,01$) i plazmi ($p<0,05$) bolesnika sa bakterijskim meningitom. Zabeležen porast aktivnosti enzima antioksidativne zaštite verovatno predstavlja kompenzatori odgovor na povećanu produkciju slobodnih radikala kiseonika. Ova saznanja upućuju na mogućnost racionalne primene antagonističkih »koktela« sa SOD i CAT koji mogu redukovati štetne efekte reaktivnih metabolita kiseonika oslobođenih iz polimorfonuklearnih leukocita.

Ijuk et al., and erythrocyte CAT activity with kinetic-spectrophotometric method by Beutler. In the patients with BM and VM there was a significant elevation of SOD activity in erythrocytes ($p<0.001$) while GSH-Px activity was not significantly altered compared to controls. Marked changes in the cell elements content in the cerebrospinal fluid of the studied patients were not associated with SOD activity changes, but at the first diagnostic punction a markedly increased GSH-Px activity in BM ($p<0.001$) and VM ($p<0.05$) was observed. In the conditions of increased H_2O_2 activity CAT was increased in erythrocytes ($p<0.01$) and plasma ($p<0.05$) of BM patients. The observed increase of activity of antioxidative protection enzymes probably represents a compensatory response to increased oxygen free radical production. These findings suggest the possibility of rational application of antagonistic »cocktails« with SOD and CAT which may reduce deleterious effects of reactive oxygen metabolites released from polymorphonuclear leucocytes.

B34

INHIBITORNI EFEKAT METFORMINA NA AKTIVNOST KSANTIN OKSIDAZE

V. Ćosić, S. Kundalić,
L. Zvezdanović, V. B. Đorđević

Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Niš

Biguanid metformin je drugi najčešće prepisivani oralni antidiabetik u Evropi, koji se koristi u monoterapijske svrhe kod 40% pacijenata. Iako se metformin kao antidiabetik često koristi, pun efekat ovog leka još nije u potpunosti razjašnjen. Prethodne studije su pokazale da metformin smanjuje nivo glukoze u krvi uglavnom suprimiranjem procesa glukoneogeneze. Takođe, metformin smanjuje koncentraciju insulina u plazmi i pojačava osetljivost perifernih tkiva prema insulinu. Novije studije pokazuju da metformin direktno inhibira procese glikozilacije. U ovom radu proučavan je efekat metformina na aktivnost ksantin oksidaze (XO, EC 1.1.3.22) kod 46 pacijenata sa tipom 2 dijabetes melitus, kao i u *in vitro* uslovima. Aktivnost XO određivana je modifikovanom spekrofotometrijskom metodom po Kalckaru. Nađeno je statistički značajno smanjenje aktivnosti XO ($p<0,001$) za vreme monoterapije metforminom. Takođe, rezultati dobijeni u *in vitro* eksperimentu pokazuju da terapijske, kao i mnogo više doze metformina, značajno inhibiraju aktivnost XO ($p<0,001$). Istovremeno je zabeležena statistički značajna korelacija između doze leka i inhibicije XO

B34

INHIBITORY EFFECTS OF METFORMIN ON XANTHINE OXIDASE ACTIVITY

V. Ćosić, S. Kundalić,
L. Zvezdanović, V. B. Đorđević

Center of Medical Biochemistry,
Clinical Centre Niš, Yugoslavia

The biguanide metformin is the second most commonly prescribed oral antidiabetic agent in Europe, where it is taken as monotherapy in 40% of the patients. Although metformin has been used extensively the effects of this drug are not completely understood. Previous studies have shown that metformin reduces blood glucose levels predominantly by decreasing gluconeogenesis. Also, metformin decreases fasting plasma insulin concentration and enhances peripheral tissue sensitivity to insulin. Recent study showed that metformin has been demonstrated as a direct inhibiting agent for glycation and/or glycoxidation. In this study the effects of metformin on plasma xanthine oxidase (XO, EC 1.1.3.22) activity were investigated in 46 patients with type 2 diabetes mellitus as well as *in vitro* study. The activity of XO was assayed by the spectrophotometric method of Kalckar with slight modification. We noted significant decrease in xanthine oxidase activity ($p<0.001$) during monotherapy with metformin. Also, our *in vitro* studies showed that therapeutic as well as more times higher metformin doses inhibited significantly XO activity ($p<0.001$). Simultaneously, a significant

($p < 0,001$). Dakle, jedna od mogućnosti je da metformin direktno utiče na aktivnost XO, što može biti dodatni korisni efekat ovog leka. Dobijeni rezultati indirektno sugeriju da metformin može da smanji toksična oštećenja tkiva upravo preko inhibicije XO.

correlation was observed between doses of metformin and XO activity ($p < 0,001$). So, one more possibility is that metformin may directly influence the activity of XO and that may be additional benefitial effect of this medicament. Our results indirectly suggest that metformin can reduce toxic tissue damage through the inhibition on XO activity.

B35

PROMENA ENZIMSKE AKTIVNOSTI KOD PACIJENATA SA TRIHINELOZOM

Lj. Bačvanski, Lj. Vorgić, M. Frenc, Z. Papić

*Kliničko biohemijska laboratorija,
Opšta bolnica »Đorđe Joanović«, Zrenjanin*

Trihineloza je parazitska infekcija izazvana nematom *Trichinella spiralis*. Oboljenje odlikuju 3 faze i to intestinalna, invazivna i rekonvalescentna. Posle intestinalnog stadijuma, larve putem krvi migriraju do poprečno-prugaste muskulature, gde se inkapsuliraju. Direktna trauma mišićnih ćelija dovodi do povećanog oslobađanja citoplazmatskih enzima i do promene enzimskog profila u serumu. Prema klasifikaciji neuromuskularnih oboljenja, trihineloza pripada grupi inflamatornih miopatija. U ovom radu kod pacijenata sa kliničkom slikom trihineloze i eozinofiljom praćene su aktivnosti AST, ALT, CK i LDH tokom invazivne faze. Aktivnosti navedenih enzima određene su na automatskom analizatoru Synchron CX4 (Beckman) na 37 °C, pomoću komercijalnih testova firmi Randox i Biosystems. Nađen je umereni porast svih ispitivanih enzima, sa maksimalnim vrednostima između 3. i 5. nedelje od početka infekcije. Cilj rada bio je da se ispita uloga navedenih enzima kao pokazatelja parazitne infekcije.

B35

CHANGE OF ENZYME ACTIVITIES IN PATIENTS WITH TRICHINELLOSIS

Lj. Bačvanski, Lj. Vorgić, M. Frenc, Z. Papić

*Laboratory of Clinical Biochemistry,
General Hospital »Đorđe Joanović«, Zrenjanin*

Trichinellosis is a parazite infection aquired by nematode *Trichinella spiralis*. Disease is distinguished by 3 phases: intestinal, invasive and convalescent. After intestinal stadium larvae migrate via blood to striate musculature where they encapsulate. Direct trauma of muscular cells leads to increased exemption of cytoplasmic enzymes, and to changes of enzyme profile in serum. According to classification neuromuscular diseases trichinellosis belongs to the group of inflammatory miopathy. In this study we have been monitoring the activity of AST, ALT, CK and LDH during invasive phase in patients with clinical diagnosis of trichinella and eosinophilia. The level of the observed parameters was defined using automatic analyzer Synchron CX4 (Beckman) at 37 °C with commercial tests of Randox and Biosystems companies. The obtained results showed moderate rise of all examined enzymes. Maximal values were found between the third and the fifth week after infection. The goal of our work was to define the significance of enzymes as an indicator of parazite infection.

B36

Na,K-ATPaza ERITROCITA KAO MOGUĆI MARKER U DIJAGNOSTICI IDIOPATSKE HIPERTENZIJE

T. Stojanović

Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Kragujevac

Pokazano je da merenje aktivnosti Na,K-ATPaze u membranama eritrocita može biti potencijalni marker različitih oboljenja; jedno od njih je i idiopatska

B36

THE ERYTHROCYTE Na,K-ATPase AS A MARKER INDIAGNOSIS OF IDIOPATHIC HYPERTENSION

T. Stojanović

*Institute of Biochemistry, School of Medicine,
University of Kragujevac*

Measuring of the Na,K-ATPase activity in the erythrocyte membranes has been introduced as a potential marker for several diseases; one of those is

hipertenzija. U grupi od 20 pacijenata sa idiopatskom hipertenzijom (15 žena i 5 muškaraca, starosti 28–58 godina) i bez ikakve terapije, izmerena je aktivnost Na,K-ATPaze u membranama eritrocita. Dobijeni rezultati iznose 2.41 ± 0.22 Pi/mg proteina/min što je značajno niža aktivnost u poređenju sa kontrolnom grupom zdravih ispitanika (3.78 ± 0.16 nmol Pi/mg proteina/min). Prethodno određene referentne aktivnosti Na,K-ATPaze u membranama eritrocita iznosile su 3.43 ± 4.17 Pi/mg proteina/min bez značajne razlike između žena i muškaraca. Može se pretpostaviti da endogena jedinjenja u cirkulaciji ispitanika slična digoksinu ili uabainu mogu biti uzrok inhibicije ili disfunkcije aktivnosti Na,K-ATPaze. Za ova jedinjenja se, inače, pretpostavlja da su jedan od uzroka u patogenezi idiopatske hipertenzije. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da merenje aktivnosti Na,K-ATPaze u membranama eritrocita može biti koristan marker u laboratorijskoj dijagnostici idiopatske hipertenzije.

idiopathic hypertension. In the group of 20 patients with idiopathic hypertension (15 females and 5 males, aged 28 to 58) and without any medications the Na,K-ATPase activity in the erythrocyte membranes were significantly lower as compared to the control group of healthy volunteers (2.41 ± 0.22 and 3.78 ± 0.16 nmol Pi/mg protein/min, respectively). The referent value for healthy adults obtained by the same procedure were 3.43 ± 4.17 nmol Pi/mg protein/min (SD 0.37; CV 9.8%) without difference between males and females. Endogenous circulating digoxin- or ouabain-like substances could be a reason of the enzyme inhibition, or dysfunction of Na,K-ATPase activity may be involved in the pathogeneses of the idiopathic hypertension. According to these results, the measuring of Na,K-ATPase activity could be potentially a useful routine marker in laboratory diagnosis of idiopathic hypertension.

B37

VREDNOSTI ANTIOKSIDATIVNIH ENZIMA I AZOT-MONOKSIDA KOD DECE SA OŠTEĆENJEM ENDOTELA

T. Stanković, V. Đorđević, B. Kamenov,
V. Čosić, L. Zvezdanović

Dečja interna klinika, Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar, Niš

U stanjima izmenjene imunološke reaktivnosti organizma remete se regulatorni mehanizmi i stvaraju uslovi za oštećenje ćelija i tkiva. Sinteza reaktivnih metabolita kiseonika i azot-monoksida koja prati imunološke procese može pokrenuti oksidativno oštećenje endotelnih ćelija i/ili indukovati njihovu apoptozu. U ovom radu praćena je aktivnost antioksidativnih enzima (superoksid dizmutaza, katalaza, glutation peroksidaza) i koncentracija azot-monoksida kod 40 dece sa oštećenjem endotela krvnih sudova. Usporedo su praćeni i osnovni hematološki parametri, kao i vrednosti oksidativne sposobnosti fagocita preko NBT-testa. Aktivnosti superoksid dizmutaze i glutation peroksidaze određivane su komercijalnim Randox-ovim testovima, a katalaze metodom po Beutler-u. Koncentracija azot-monoksida u plazmi određivana je fotometrijski testom firme Cayman Chemical. Analiza anamnestičkih parametara, prisustvo monocitoze i sniženje stimulisane oksidativne sposobnosti fagocita ukazuju na dugotrajnu disregulaciju imunskog sistema kod svih pacijenata. Aktivnost superoksid dizmutaze bila je značajno niža (906.11 ± 177.46 U/gHb; $p < 0.01$), a katalaze značajno viša (12.37 ± 2.43 U/gHb $\times 10^4$; $p < 0.01$) u odno-

B37

VALUES OF ANTIOXIDATIVE ENZYMES AND NITRIC OXIDE IN CHILDREN WITH ENDOTHELIAL DAMAGE

T. Stanković, V. Đorđević, B. Kamenov,
V. Čosić, L. Zvezdanović

Pediatric Clinic, Center of Medical Biochemistry,
Clinical Center, Niš

In state of changed immunological reactivity disturbed regulatory mechanisms make conditions for cell or tissue injury. Synthesis of reactive oxygen intermediates and nitric oxide which follows the immune processes may contribute to oxidative injury of endothelial cells and/or induce their apoptosis. This study examine the activity of antioxidative enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase) and concentration of nitric oxide in 40 children with endothelial cell damage. The basic hematological parameters and values of fagocytic oxidative capacity (NBT-test) were also examined. The activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase were determined by Randox commercial tests, while the activity of catalase was determined using Beutler's method. Plasma nitric oxide concentration was measured by Cayman Chemical's photometric test. Analysis of anamnestic data, registered monocytosis and decrease of stimulated fagocytic oxidative capacity suggested chronic disregulation of immune system in all patients. Superoxide dismutase activity was significantly decreased (906.11 ± 177.46 U/gHb; $p < 0.01$), catalase activity was significantly increased (12.37 ± 2.43

su na dobijene vrednosti u kontrolnoj grupi dece ($1125.78 \pm 114.08 \text{ U/gHb}$, odnosno $9.30 \pm 0.95 \text{ U/gHb} \times 10^4$), dok aktivnost glutation peroksidaze ne pokazuje značajne razlike. Koncentracije azot-monoksida kao bitnog regulatornog molekula u limitiranju proinflamatornih dešavanja pokazuju varijacije od značajno viših ($72.18 \pm 20.79 \mu\text{mol/L}$) kod dece sa manifestacijama po tipu eritematoznih, makulo-papuloznih i papuloznih promena, do značajno nižih ($33.08 \pm 3.56 \mu\text{mol/L}$) kod makuloznih promena, dok se u odnosu na kontrolnu grupu ($42.14 \pm 3.95 \mu\text{mol/L}$) kod promena koje se manifestuju petehijama i purpurom vrednosti značajno ne razlikuju. Dobijeni rezultati koji se odnose na aktivnost antioksidativnih enzima indirektno ukazuju da kod dece sa izmenjenom imunološkom reaktivnošću postoji povišena produkcija reaktivnih metabolita kiseonika što doprinosi oštećenju endotela, dok disbalans u sintezi azot-monoksida direktno utiče na stepen tog oštećenja.

$\text{U/gHb} \times 10^4$; $p < 0.01$) according to values in control group of children ($1125.78 \pm 114.08 \text{ U/gHb}$, or $9.30 \pm 0.95 \text{ U/gHb} \times 10^4$), while glutathione peroxidase activity did not show significant changes. The concentration of nitric oxide as important immunoregulatory molecule involved in restriction of proinflammatory events showed variations from significantly increased ($72.18 \pm 20.79 \mu\text{mol/L}$) in children with erythematic, papulous, and maculo-papulous changes to significantly decreased ($33.08 \pm 3.56 \mu\text{mol/L}$) in children with maculae according to values in control group ($42.14 \pm 3.95 \mu\text{mol/L}$), while children with petechial and purpural manifestation did not show significant changes. The obtained results related to antioxidant enzyme activities indirectly indicate the higher production of reactive oxygen intermediates in children with disturbed immunological reactivity which contributes to endothelial cell damage, while the disbalance in synthesis of nitric oxide directly influence the extent of endothelial cells damage.

B38

INHIBITORNO DEJSTVO UREMIČKIH TOKSINA NA AKTIVNOST ENZIMA

N. Kostić¹, D. Miljković²

¹Biohemijiska laboratorija, Opšta bolnica, Kruševac
²Dom zdravlja, Varvarin

Najčešći način lečenja hronične bubrežne insuficijencije (HBI) u terminalnoj fazi je dijaliza. Proces hemodijalize obezbeđuje smanjenje uremijskih toksina akumuliranih u krvi. Ove nedovoljno definisane supstance su uzrok mnogih komplikacija a mogu dovesti i do fatalnog ishoda bolesnika u uremiji. Svojom toksičnošću utiču na enzime, smanjujući njihovu aktivnost. Cilj rada bio je da se ispita uticaj hemodijalize na enzime određivanjem nivoa enzima u serumu bolesnika sa HBI pre hemodijalize i poređenjem istih posle tretmana. Ispitivana je i korelacija enzima pacijenata na dijalizi sa grupom zdravih osoba (KG). Određivana je aktivnost enzima: alanin-aminotransferaze (ALT), alkaline fosfataze (AP), gama glutamiltransferaze (GGT) i holinesteraze (ChE). Ispitivanje je obuhvatilo 33 osobe (N=33) oba pola sa HBI koje su se nalazile na hroničnom programu hemodijalize 3 puta nedeljno po 5 sati. Značajno je viši t u serumu pre dijalize a AP ($p < 0.005$), GGT ($p < 0.001$) i ChE ($p < 0.01$) u odnosu na KG, a posle dijalize pokazuje statistički značajnost za: ALT ($P < 0.05$), AP ($P < 0.05$) i za GGT ($p < 0.001$). Uporedjujući aktivnost enzima pre i posle hemodijalize dobijene srednje vrednosti posle dijalize imaju trend opadanja, što se može smatrati posledicom inhibitornog uticaja uremijskih toksina akumuliranih u uremiji. Statističkom obradom tih vrednosti nije dokazana statistička značajnost ($p > 0.05$ kod svih enzima t je manji od teorijskog).

B38

INHIBITORY EFFECTS OF UREMIC TOXINS ON ENZYME ACTIVITY

N. Kostić¹, D. Miljković²

¹Biochemistry Laboratory – Health Center, Kruševac
²Health Center – Varvarin

Haemodialysis is the proper manner of therapy in chronic kidney insufficiency (CKI). This therapy enables decrease of uremic toxins accumulated in the blood. This, ever now, unknown substances, caused many complications and it may be fatal. Decrease of enzyme activity is also consequence of their toxicity. The aim in our work was to find enzyme activity (ALT, AP, GGT and ChE) in serum of patients with CKI before and after haemodialysis. The study has been performed on group patients (N=33) both sexes, with CKI who have been on chronic programme dialysis thrice per week about five hours, and control group (N=20). Statistical significant increase (t) of activity were found before dialysis for AP ($p < 0.05$), GGT ($p < 0.01$) and ChE ($p < 0.01$) in comparison to control group. After dialysis statistical significance were found for ALT ($p < 0.05$), AP ($p < 0.05$) and GGT ($p < 0.01$). Enzyme activity after haemodialysis in comparison to activity before haemodialysis showed decrease of activity, but that decrease is not statistically significant.

A

**METODE U KLINIČKOJ HEMIJI
METHODS IN CLINICAL CHEMISTRY**

A1

**KLINIČKA VREDNOST
BIOHEMIJSKIH PARAMETARA
U DIFERENCIJACIJI PLEŪRALNIH IZLIVA,
EKSUĐATA/TRANSUĐATA**

*B. Pražić, V. Cvetković, B. Cvejin,
A. Vukelić, M. Krčo, V. Kuruc*

*Zavod za kliničku biohemiju,
Zavod za patologiju, Zavod za mikrobiologiju,
Klinička odeljenja,
Institut za plućne bolesti, Sremska Kamenica*

Osnova svakog dijagnostikovanja pleuralnih izliva zasniva se na razlikovanju pleuralnih eksudata i transudata. Bazični algoritam je sačinjen od parametara koji su postavljeni prema Light-u. Mada, u nekim graničnim slučajevima, taj kriterijum nije dovoljan i nije pouzdan. Otuda je da bi se dijagnostikovanje pleuralnih izliva učinilo validnijim i svršishodnjim, povećan broj biohemjskih parametara, određivanjem holesterola u izlivu i serumu. Cilj ovog rada bio je da se u našim uslovima sagleda dijagnostička validnost tih parametara. Merena je koncentracija holesterola i LDH u izlivu i serumu, testovima firme Dialab, a ukupni proteini određivani su biuretskom metodom. Ispitano je 419 izliva i seruma kod pacijenata sa plućnim bolestima različite etiologije i ne-plućnog porekla (kardijalni, abdominalni). Izlivi su grupisani u 11 grupa prema citološkoj dijagnozi: limfocitni tip izliva (76), makrofagni (26), makrofagno-limfocitni tip izliva (30), purulentni (62), maligni (72), eozinofilni tip izliva (11), limfocitno-makrofagni (76), tip izliva mešani ćelijski sastav, tip izliva ostalo, hemoragični tip izliva i specifični tip izliva sa bakteriološkom dijagnozom. Dobijene vrednosti za osetljivost po grupama kretale su se između 30 i 100%, a za specifičnost između 67 i 80%. U literaturi, vrednosti za ove parametre su različite. U tabeli su date srednje vrednosti dijagnostičke validnosti svih grupa po ispitanim biohemjskim parametrima.

A1

**BIOCHEMICAL PARAMETERS
IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS
OF PLEURAL EFFUSIONS,
EXUDATES/ TRANSUDATES:
DIAGNOSTIC EVALUATION**

*B. Pražić, V. Cvetković, B. Cvejin,
A. Vukelić, M. Krčo, V. Kuruc*

*Biochemistry, Pathology,
Microbiology and Clinical Departments,
Institute for Pulmonary Diseases, Sremska Kamenica*

The differential diagnostics of any pleural effusion is essentially based upon differentiating between a pleural exudate and transudate. The basic algorithm includes the parameters selected by Light, but in some border-line cases it, however, appears to be insufficient and unreliable. To improve the efficacy and reliability of diagnosing pleural effusions, we have increased the number of biochemical parameters to be determined, including cholesterol levels in both the effusion and the serum. The objective of this study is to perform a diagnostic evaluation of these parameters. Cholesterol and LDH concentrations in both the effusion and serum were measured by Dialab tests, while total proteins were determined by the biuret method. The study included 419 effusions and serums from the patients with diverse etiology of their pulmonary disorder. The effusions were sub-classified into 11 types, depending on their cytological diagnosis: lymphocytic effusions (76), macrophageal (26), macrophage-lymphocytic (30), purulent (62), malignant (72), eosinophilic (11), lymphocyte-macrophageal (76), effusions with a mixed cellular content, hemorrhagic and specific effusion type with a bacteriologic diagnosis and effusions of non-pulmonary origin (cardiac, abdominal). The parameters measured within these effusion subtypes range from 30% to 100% in sensitivity and from 67% to 80% in specificity. The literature also reports a great diversity in this respect. The table below reviews the diagnostic validity of all examined biochemical parameters in all effusion subgroups.

Parametar	Cut-off	Osetljivost (%)	Specifičnost (%)	Pv(+) (%)	Pv(-) (%)	Ef (%)
LDH P	≥ 3,3 μkat/L	88	80	85	75	83
P/S LDH	≥ 0,6	89	80	83	81	84
P/S PROT	≥ 0,5	90	80	83	83	84
PROT P	≥ 30 g/L	90	80	82	84	84
HOL P	≥ 1,5 mmol/L	88	80	84	79	83
P/S HOL	≥ 0,3	89	80	83	80	84

Parameter	Cut-off	Sens. (%)	Spec. (%)	Pv(+) (%)	Pv(-) (%)	Ef (%)
LDH PF	≥ 3.3 μkat/L	88	80	85	75	83
PF/S LDH	≥ 0,6	89	80	83	81	84
PF/S PROT	≥ 0,5	90	80	83	83	84
PROT PF	≥ 30 g/L	90	80	82	84	84
CHOL PF	≥ 1.5 mmol/L	88	80	84	79	83
PF/S CHOL	≥ 0,3	89	80	83	80	84

Dobijena ujednačena klinička vrednost laboratorijskih određivanja navedenih biohemijskih parametara, ukazuje da se sa istom pouzdanošću može koristiti određivanje holesterola u izlivu i serumu i njihov odnos, kao jednostavna dopuna Light-ovog kriterijuma za diferencijalno dijagnostikovanje pleuralnih izliva.

The evaluated biochemical parameters, measured in our samples by laboratory techniques, exhibit an almost even clinical value, leading to a conclusion that determination of the cholesterol levels should be used for the differential diagnosis of pleural effusions as a complementary but equally reliable parameter to Light's diagnostic criteria.

A2 KARCINOEMBRIONALNI ANTIGEN U HUMANOJ SALIVI

S. Golubović

Institut za primenu nuklearne energije
– INEP, Zemun

Karcinoembrionalni antigen (CEA) jedan je od najviše korišćenih tumorskih markera. Određivanje koncentracije CEA u serumu važan je parametar za prognozu i praćenje terapije kod pacijenata s kolorektalnim karcinomom. CEA pripada imunoglobulin (Ig) superfamiliji proteina čiji članovi učestvuju u procesima ćelijske adhezije. U nekoliko sprovedenih istraživanja pokazana su homo- i heteroadhezivna svojstva CEA i struktorno veoma homologih molekula CEA familije, ali njihova uloga u zdravom i patološkom tkivu nije razjašnjena. Imunohemijskim metodama molekuli CEA familije detektovani su u salivu i salivarnim žlezdama. Velika prednost pri ispitivanju salive, u odnosu na druge telesne tečnosti, njen je jednostavno i neinvazivno uzorkovanje. U ovom radu ispitana je koncentracija CEA u salivi i serumu klinički zdravih osoba ($n = 10$). Uzorkovana je cela humana saliva, bez ikakve stimulacije. Od iste osobe uzimani su uzorci salive tri puta dnevno u dva uzastopna dana. Saliva je centrifugirana, supernatant dijalizovan i korišćen za ispitivanje. Paralelno je, ujutro do 11 sati, uzimana venska krv istih osoba i za analiziranje je upotrebljavan serum. Koncentracija CEA u salivi i serumu određena je imunoradiometrijskim testom (IRMA CEA, INEP). Dobijeni rezultati pokazali su da su serumski nivoi CEA u svim ispitanim uzorcima bili niži od 5 mg/L. Opseg koncentracija izmerenih u odgovaraju-

A2 CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN IN HUMAN SALIVA

S. Golubović

Institute for the Application of Nuclear Energy
– INEP, Zemun

Carcinoembryonic antigen (CEA) is one of the most widely used tumor marker. The measurement of CEA serum concentration is an important parameter in predicting prognosis and monitoring therapy in patients with colorectal carcinoma. CEA belongs to the immunoglobulin (Ig) superfamily, which members are involved in the events of cell adhesion. Several studies revealed that CEA and highly related molecules of the CEA family are homo- and hetero-adhesion molecules, but still their function in health and disease have not been elucidated. The CEA family members have been detected in saliva and salivary glands by immunochemical methods. An important advantage of saliva as a diagnostic fluid, in relation to other body fluids, is its simple and non-invasive collection. In this study the concentration of CEA in saliva and serum from clinically healthy individuals ($n = 10$) was investigated. Human whole saliva was collected by spitting, without any stimulation three times per day, during two days. Saliva was cleared by centrifugal force and the supernatant was dialyzed and used for investigation. An appropriate amount of blood is taken from the same persons till 11 a.m. and the serum was used for testing. CEA concentration in saliva and serum was determined by an immunoradiometric assay (IRMA CEA, INEP). The obtained results showed that serum levels of CEA were below

ćim salivarnim uzorcima iznosio je 67–1200 µg/L, što ukazuje da se CEA u salivu lokalno produkuje i da ne potiče od eventualnog serumskog eksudata. Pokazano je da postoji pravilnost u cirkadijalnom ritmu, a ne u izmerenim nivoima, salivarnog CEA. Istovetne dnevne promene koncentracija CEA u salivu, sa maksimalnom vrednošću dobijenom u 7 h ujutro, detektovane su kod svih ispitanih zdravih osoba. Značaj ritmičkih promena koncentracija tumorskih markera nedovoljno je istražen. Dnevni ritam izlučenog salivarnog CEA, i njegova promena, zaslužuje dalje ispitivanje radi moguće korelacije s patološkim promenama i primene u ranoj dijagnozi oboljenja.

5 mg/L in all examined samples. The CEA levels in the corresponding salivary samples were higher, ranging from 67–1200 µg/L. Such findings indicated that salivary CEA is locally produced, without eventually contribution of serum exudate to determined values. A circadian rhythm was demonstrated for salivary CEA, although CEA levels were very variable. Identical daily variations of salivary CEA concentration, reaching the maximum value around 7 a.m. were detected for all ten investigated healthy persons. The importance of rhythm characteristics of tumor markers is still unknown. The circadian rhythm of salivary CEA and CEA rhythm alteration, deserves further investigation and await application. It could be correlated with pathological changes and useful for recognizing early disease.

A3

ODREĐIVANJE UKUPNIH PROTEINA U URINU I LIKVORU METODOM VEZIVANJA BOJE

S. Stanković, E. Čolak,
N. Aleksić-Marković, N. Majkić-Singh

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Određivanje koncentracije ukupnih proteina u urinu i likvoru je važno za dijagnozu oboljenja bubrega i centralnog nervnog sistema. Proteini u urinu se po većavaju usled: intenzivnog vežbanja, groznice i hipotermije, nefoze i dijabetične nefropatije i kod infekcija urinarnog trakta. Određivanje proteina u likvoru važno je za dijagnozu meningitisa, tumora CNS-a i cerebralne hemoragije. Određivanje ukupnih proteina u urinu znatno je komplikovanije od određivanja u serumu. Za određivanje često se koriste metode koje se zasnivaju na vezivanju boje za proteine npr. Coomasie Brilliant Blue G-250. U ovom radu je primenjena i ispitana metoda koja se zasniva na vezivanju boje Pyrogallol crveno za proteine u testu firme Randox (Randox Laboratories Ltd., United Kingdom). Ova metoda se zasniva na osobini Pyrogallol crvenoj da gradi komplekse sa proteinima u kiseloj sredini u prisustvu molibdata, pri čemu nastaje plavo obojeni kompleks čija se apsorbancija meri na 600 nm. S obzirom da određivanje na biohemiskim analizatorima u mnogome pojednostavljuje tok analize, kolorimetrijski test je prilagođen za određivanje na centrifugalnom analizatoru IL Monarch 2000 (Instrumentation Laboratory, Milan, Italy). Nepreciznost u seriji ispitana je ponovnim određivanjem koncentracije ukupnih proteina u tri kontrole različitih koncentracija. Dobijeni su koeficijenti varijacija je 1,72%, 2,43%, i 3,11% pri koncentracijama ukup-

A3

TOTAL PROTEIN LEVELS IN URINE AND CEREBROSPINAL FLUID BY DYE-BINDING METHODS

S. Stanković, E. Čolak,
N. Aleksić-Marković, N. Majkić-Singh

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

Determination of total protein in urine and cerebrovascular fluid is valuable in the diagnosis of renal and central nervous system disorders respectively. Urinary protein elevations are commonly seen in strenuous exercise, fever and hypothermia, nephrosis and diabetic nephropathy and urinary tract infections. Determination of total protein in cerebrovascular fluid aids in the diagnosis of such conditions as meningitis, CNS tumours and cerebral haemorrhage. The choice of method for quantitation of urinary and cerebrospinal fluid (CSF) total protein is not easy. For routine use total protein in urine and CSF were determined by dye-binding methods with Coomasie Brilliant Blue G-250. Our aim was to adapt and evaluate the method using Randox test (Randox Laboratories Ltd., United Kingdom). This test is based on principle that Pyrogallol red complexes with proteins in an acid environment containing molybdate ions, and the resulting blue coloured complex absorbs maximally at 600 nm. Colorimetric determination applied on biochemical analyzers could simplify determination; so it was adapted to centrifugal analyzer IL Monarch 2000 (Instrumentation Laboratory, Milan, Italy). Imprecision within-assay was evaluated with replicate measurement of total protein concentration using urine controls at three protein levels. The coefficients of variation were

nih proteina od 0,35 g/L, 1g/L i 5 g/L, redom. Slični koeficijenti varijacije dobijeni su pri ispitivanju nepreciznosti iz dana u dan (2,63%, 3,17%, 4,01%). Metoda je linearna do 5 g/L. Ispitana je i korelacija između metoda sa CBB G250 and Pyrogallol red i dobijen je koeficijent korelacijske $r=0,958$ i jednačina prave za ukupne proteine u urinu $y_x = 0,170 + 1,395x$, $S_{y,x} = 1,335$ g/L ($N=150$), a za proteine u likvoru $r=0,992$, $y_x = 0,066 + 0,901x$, $S_{y,x} = 0,141$ g/L ($N=50$). S obzirom na dobijene rezultate ova metoda je adekvatna zamena za metodu sa CBB G250 i može da ima praktičan značaj.

1.72%, 2.43%, and 3.11% for concentration of total protein of 0.35 g/L, 1g/L, 5 g/L, respectively. The similar results were obtained for the between-day imprecision (2.63%, 3.17%, 4.01%). This method is linear up to 5 g/L. The comparison of results between methods with CBB G250 and Pyrogallol red yielded the following regression parameters for total protein determination in urine ($y_x = 0.170 + 1.395 x$, $r=0.958$, $S_{y,x} = 1.335$ g/L) ($N=150$) and in CSF ($y_x = 0.066 + 0.901x$, $r=0.992$, $S_{y,x} = 0.141$ g/L) ($N=50$). On the basis of these findings method with Pyrogallol red offers an adequate alternative to the method with CBB G-250 and could have a practical importance.

A4

SLOBODNE AMINOKISELINE PLAZME I URINA KOD DECE SA POREMEĆAJEM FUNKCIJE CENTRALNOG NERVNOG SISTEMA

M. Milošević-Tošić, J. Borota, J. Stojčević

Zavod za biohemiju, Klinički centar, Novi Sad

Ovim radom želeli smo da utvrdimo vezu između poremećaja funkcije centralnog nervnog sistema (CNS) kod dece sa poremećajem sadržaja slobodnih aminokiselina u plazmi i u urinu. Na uzorku od 52 deteta sa dijagnozama: psihomotorna retardacija (RPM) (27 pacijenata), epilepsija (18 pacijenata) i konvulzije (7 pacijenata) određivane su slobodne aminokiseline u serumu i u 24h urinu jonoizmenjivačkom hromatografijom na HPLC aminokiselinskom analizoru Beckman System 6300 uz korišćenje litijumskih pufera i kolone od 10 cm. Praćene su 44 ninhidrin pozitivne supstance. Od ukupnog broja pacijenata sa dijagnozom RPM kod 9 pacijenata ili 33,33% sve analizirane aminokiseline nalazile su se u granicama referentnih vrednosti. Generalizovana hiper-aminoacidemija nađena je kod 7 pacijenta ili 25,92%, dok su povišene koncentracije taurina kao i lizina i glutaminske kiseline u plazmi bile zastupljene kod 3 odnosno 2 pacijenta. U urinu ovih pacijenata najčešće je bio povišen hidroksiprolin bilo sporadično ili u sklopu generalizovane hiperaminocidurije. Kod pacijenata sa epilepsijom u 77% slučajeva nađen je nalaz u granicama referentnih vrednosti za uzrast deteta. Samo u po jednom slučaju nađena je povišena koncentracija GABA u plazmi i hidroksiprolinu, BABA i serina u urinu. Kod pacijenata sa epilepsijom samo u jednom slučaju su nađene povišene koncentracije metionina, lizina i arginina dok su se kod svih ostalih pacijenata sve analizirane aminokiseline u plazmi i u urinu nalazile u gra-

A4

FREE AMINO ACIDS IN THE BLOOD AND URINE OF CHILDREN WITH FUNCTIONAL DISURBANCES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

M. Milošević-Tošić, J. Borota, J. Stojčević

Department of Biochemistry, Clinical Center, Novi Sad

The aim of this paper is to determine the connection between some functional disturbances of the CNS in children and changes in the amino acids content in plasma and urine. 27 cases with psychomotor retardation (PMR), 18 with epilepsy and 7 with convulsions were examined in regard to the content of free amino acids in plasma and 24h urine, with ionexchange chromatography using HPLC Aminoacid Analyzer Beckman System 6300 with lithium buffers and 10 cm column. 44 ninhydrin positive substances were analyzed. Out of 27 examined cases with PMR normal finding was confirmed in the plasma and/or urine of 9 patients or 33.33%. General hyperaminoacidemia was found in 7 patients or 25.92 %, while higher concentrations of taurine, lizine and glutamic acid were confirmed in 2 and 3 cases respectively. The most frequent finding was higher content of hydroxyproline in urine either sporadically or as a part of general hyperaminoaciduria. In cases with epilepsy in 77% normal findings in regard to the age of patient were confirmed. Higher concentrations of GABA in plasma and hydroxyproline, BABA and serine in urine were found in sporadic cases. Higher concentrations of methionine, lizine and arginine were found only in one case of epilepsy out of all cases with normal values of amino acids. It is well known that some functional disturbances of the CNS can be associated with genetic disorders of aminoacids metabolism, but in our examined cases typical picture, in regard to the

nicama referentnih vrednosti. Iako neki poremećaji funkcije CNS mogu biti udruženi sa genetskim poremećajem metabolizma aminokiselina na analiziranom uzorku dece nije nađena tipična slika u sadržaju aminokiselina koja bi ukazivala na ovaj poremećaj, niti konzistentno ponavljanje promena sadržaja aminokiselina za određenu dijagnozu poremećaja funkcije CNS.

content of amino acids, was not established to confirm genetic disorder, or consistant repetition of changes of amino acid characteristic for diagnose of functional disturbances of the CNS.

A5

CISTATIN C KAO NOVI MARKER ZA PROCENU JAČINE GLOMERULSKE FILTRACIJE

R. Obrenović¹, E. Jakšić², S. Beatović²,
D. Petrović³, B. Stojimirović⁴, N. Majkić-Singh¹

¹Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije,

²Institut za nuklearnu medicinu,
Klinički centar Srbije,

³Klinika za urologiju i nefrologiju,
KBC »Kragujevac»,

⁴Institut za urologiju i nefrologiju,
Klinički centar Srbije

A5

CYSTATIN C NEW MARKER FOR ASSESSMENT OF GLOMERULAR FILTRATION RATE

R. Obrenović¹, E. Jakšić², S. Beatović²,
D. Petrović³, B. Stojimirović⁴, N. Majkić-Singh¹

¹Institute for Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia

²Institute of Nuclear Medicine,
Clinical Center of Serbia

³Clinic of Urology and Nephrology,
Clinical-Medical Center »Kragujevac«

⁴Institute of Urology and Nephrology,
Clinical Center of Serbia

U kliničkoj nefrologiji merenje jačine glomerulske filtracije (GFR) je potreban i koristan postupak za procenu indeksa bubrežne funkcije. Za indirektnu procenu stepena glomerulske filtracije u kliničkoj praksi koriste se: koncentracija kreatinina u serumu, klirens kreatinina, klirens inulina (zlatni standard), klirens različitih radionuklidnih markera (^{99m}Tc -DTPA) kao i proteini plazme male molekulske mase (α_1 -mikroglobulin (protein HC), β_2 -mikroglobulin, retinol-vezujući protein (RBP). Najnoviji među ovim pokazateljima je cistatin C. Koncentracija cistatina C u serumu uglavnom zavisi od jačine glomerulske filtracije. Zbog toga je cistatin C u serumu dobar unutrašnji (endogeni) parametar za procenu stepena jačine glomerulske filtracije (GFR). Cilj ovog rada bio je da se ispita povezanost između ^{99m}Tc -DTPA klirensa, recipročne vrednosti koncentracije cistatina C u serumu (1/cistatin C) i recipročne vrednosti koncentracije kreatinina u serumu (1/kreatinin). Ispitivanje je obuhvatilo 61 osobu oba pola (37 žena i 24 muškaraca), prosečne starosti $44,76 \pm 12,93$ godina koji su imali normalnu do umereno oštećenu bubrežnu funkciju. Cystatin C u serumu određen je PENIA metodom (Particle-Enhanced Nephelometric Immuno-Assay), firme Behring; srednja vrednost iznosila je $0,88 \pm 0,21$ mg/L. Srednja vrednost za kreatinin u serumu bila je $86,06 \pm 18,14$ $\mu\text{mol}/\text{L}$. Dinamskom scintigrafijom bubrega određivan je klirens ^{99m}Tc -DTPA i dobijena je srednja vrednost $98,52 \pm 23,08$ mL/min. Ispitivanjem povezanosti između ^{99m}Tc -DTPA klirensa i recipro-

In clinical nephrology, the measurement of glomerular filtration rate (GFR) is necessary and helpful procedure to estimate the index of renal function. For indirect determination of glomerular filtration rate in clinical practice, the following parameters are used: creatinine concentration in serum, creatinine clearance, inulin clearance (»golden standard«), clearance of various radionuclide markers (^{99m}Tc -DTPA) as well as plasma proteins of small molecular mass (α_1 -microglobulin (protein HC), β_2 -microglobulin, retinol-binding protein (RBP)). Among these indicators, the most recent is Cystatin C. Cystatin C concentration in serum depends mainly upon the glomerular filtration rate. Accordingly, serum cystatin C is favorable internal (endogenous) parameter for measurement of glomerular filtration rate (GFR). The object of this study was to examine the association of ^{99m}Tc -DTPA clearance, reciprocal value of cystatin C concentration in serum (1/cystatin C) and reciprocal value of serum creatinine concentration (1/creatinine). The study included 61 individuals of both sexes (37 females and 24 males), mean-age of 44.76 ± 12.93 years, who had normal to moderately impaired renal function. Cystatin C in serum was determined by PENIA method (Particle-Enhanced Nephelometric Immuno-Assay), Behring, and the mean value was 0.88 ± 0.21 mg/L. Mean value of serum creatinine was 86.06 ± 18.14 $\mu\text{mol}/\text{L}$. Dynamic scintigraphy of kidneys was used to determine ^{99m}Tc -DTPA clear-

čne vrednosti koncentracije cistatina C u serumu (1/cistatin C) i recipročne vrednosti koncentracije kreatinina u serumu (1/kreatinin) utvrđeno je da između ^{99m}Tc -DTPA klirensa i 1/cistatina C postoji najbolja korelacija ($P<0,01$). Koncentracija kreatinina u serumu nije idealan parametar za procenu jačine glomerulske filtracije ($P<0,05$). Cistatin C u serumu je bolji parametar u odnosu na kreatinin u serumu, za procenu stepena jačine glomerulske filtracije.

ance, and the mean value of $98.52 \pm 23.08 \text{ mL/min}$ was obtained. The analysis of association of ^{99m}Tc -DTPA clearance and reciprocal value of cystatin C concentration in serum (1/cystatin C) and reciprocal value of creatinine concentration in serum (1/creatinine) verified the best correlation between ^{99m}Tc -DTPA clearance and 1/cystatin C ($P<0.01$). Creatinine concentration in serum is not an ideal parameter to determine the glomerular filtration rate ($P<0.05$). Cystatin C in serum is better parameter in relation to serum creatinine, to determine the glomerular filtration rate.

A6

OCENA METODE ANALIZATORA KODAK EKTACHEM 250 ZA ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI ALANIN AMINOTRANSFERAZE

S. Veselinović¹, V. Keserović¹,
Z. Jelić-Ivanović², D. Vučić³, M. Sekulović⁴

¹Zdravstveni centar »Dr Laza K. Lazarević«, Šabac

²Farmaceutski fakultet, Beograd

³Dom zdravlja »Dr Milutin Ivković«, Beograd

⁴Dom zdravlja »Voždovac«, Beograd

Metoda »suve hemije« primenjena na analizatoru Kodak Ektachem 250 za određivanje aktivnosti alanin aminotransferaze koja se zasniva na korišćenju L-alanina i natrijum α -ketoglutarata kao supstrata uz dodatak piridoksal-5-fosfata ispitivana je i poređena sa drugim metodama »vlažne hemije« koje ne koriste piridoksal-5-fosfat u reakcionom puferu. Dobijeni su zadovoljavajući rezultati za nepreciznost. Vrednosti koeficijenata varijacije za preciznost u seriji iznose 0,5% do 5,3%, dok su koeficijenti varijacije za preciznost iz dana u dan iznosili 3,1% do 8,7%. Utvrđeno je da je Kodak Ektachem metoda za određivanje aktivnosti ALT tačna; vrednosti dobijene analizom kontrolnog seruma sa normalnom i povišenom aktivnošću ALT nisu se značajno razlikovale od pravih vrednosti ($p>0,05$). Aktivnost ALT određivana je u 50 uzoraka seruma sa analizatorom Kodak Ektachem i poređena sa odgovarajućim rezultatima dobijenim sa drugim analizatorima. Statističkom obradom rezultata dobijene su sledeće korelacije: Ektachem prema RA-XT (Technicon): $y = 9,092 + 1,443x$; $r=0,991$; Ektachem u odnosu na Monarch (International Laboratory): $y = 12,830 + 1,578x$; $r=0,996$; Ektachem u odnosu na Hitachi 704: $y = 1,285 + 1,525x$; $r=0,996$. Regresione jednačine kao i odgovarajući Bland-Altmanovi dijagrami razlika pokazali su da su vrednosti za ALT na analizatoru Kodak Ektachem bile više od vrednosti određivanih na analizatorima Technicon RA-XT,

A6

EVALUATION OF ALANINE AMINOTRANSFERASE ASSAY ON THE KODAK EKTACHEM 250 ANALYSER

S. Veselinović¹, V. Keserović¹,
Z. Jelić-Ivanović², D. Vučić³, M. Sekulović⁴

¹Health Center »Dr Laza K. Lazarević«, Šabac

²Faculty of Pharmacy, Belgrade

³Health Center »Dr Milutin Ivković«, Belgrade

⁴Health Center »Voždovac«, Belgrade

A »dry chemistry« Kodak Ektachem 250 alanine aminotransferase (ALT) assay based on the use of L-alanine and sodium α -ketoglutarate as substrate with addition of pyridoxal-5-phosphate was evaluated and compared with other »wet chemistry« methods without addition of pyridoxal-5-phosphate. The imprecision study yielded satisfactory results: within-run CVs ranged from 0.5% to 5.3%, whereas day to day CVs were in range from 3.1% to 8.7%. The Kodak Ektachem ALT assay was found to be accurate: the values obtained in control sera with normal and elevated ALT activities did not significantly differ from the corresponding target values ($p>0.05$). The ALT activities were measured in 50 serum samples by Kodak Ektachem and compared with the corresponding results obtained by other analysers. The following correlations were found: Ektachem vs. RA-XT (Technicon): $y = 9.092 + 1.443x$; $r=0.991$; Ektachem vs. Monarch (International Laboratory): $y = 12.830 + 1.578x$; $r=0.996$; Ektachem vs. Hitachi 704: $y = 1.285 + 1.525x$; $r=0.996$. The regression equations, as well as the corresponding Bland-Altman difference plots showed that Ektachem ALT values were higher than those measured by Technicon RA-XT, Monarch or by Hitachi 704. The inter-instrument bias may be due to higher reference values of Kodak Ektachem method and the fact that ALT acti-

Monarch ili Hitachi 704. Dobijene razlike u vrednostima za ALT na različitim analizatorima mogu biti rezultat viših referentnih vrednosti metode Kodak Ektachem i činjenice da je aktivnost ALT određivana bez dodatka piridoksal-5-fosfata u reakcijom puferu na analizatorima Technicon RA-XT, Monarch i Hitachi 704.

A7

EVALUACIJA MEGX (MONOETILGLICINEKSILID) TESTA

M. Ilić¹, S. Stanković¹, P. Svordan²,
B. Dapčević², B. Radević³, D. Mecić²,
N. Majkić-Singh¹

¹Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd

²Institut za gastroenterohepatologiju,

Kliničko-bolnički centar Zvezdara, Beograd

³Institut za kardiovaskularne bolesti, Dedinje, Beograd

Monoetilglicineksilid (MEGX) je primarni metabolit lidokaina. Nastaje oksidativnom N-deetilacijom u hepaticnim mikrozomima uz učešće citohroma P-450. Zbog ekstenzivnog metabolizma lidokaina, pokazano je da metabolizam lidokaina može da posluži kao indikator funkcije jetre. MEGX test je superioran u odnosu na druge konvencionalne testove, u proceni kvaliteta donor organa za transplantaciju jetre, dok niske vrednosti MEGX-a kod donora značajno koreliraju sa slabim graft preživljavanjem kod recipienata. Takođe ovaj test služi za preoperativnu procenu hepaticne funkcionalne rezerve i značajno korelira sa postoperativnim tokom, a predstavlja i prognostički indikator hroničnih bolesti jetre. Tokom ispitivanja pacijentima je davan lidokain *i.v.* u bolusu 1 mg/kg telesne težine, a 15 min nakon toga pacijentima je uziman uzorak krvi. Za određivanje MEGX-a u serumu korišćen je test firme Abbot Laboratories (Abbot Park IL 60 064). Test se zasniva na fluorescentno polarizacionoj imuno-metodi (FPIA). Nepreciznost u seriji ispitana je određivanjem koncentracije MEGX-a koristeći tri kontrole u kojima su koncentracije MEGX-a bile 50, 100, 200 ng/mL. Dobijeni su koeficijenti varijacije manji od 5%. Slični koeficijenti varijacije dobijeni su i pri ispitivanju nepreciznosti iz dana u dan (2,58%, 4,04%, 4,26%, redom za tri pomenute kontrole). Rezultati ispitivanja linearnosti dali su srednji »recovery« $97,24 \pm 1,04\%$. Dobijeni rezultati pokazuju da su analitičke karakteristike testa takve da omogućavaju pouzdano i brzo određivanje MEGX-a. Uvođenjem u praksu testa za određivanje koncentracije MEGX-a, prvi put na našim prostorima omogućena je preoperativna procena funkcionalnog stanja jetre kod pacijenata sa indikacijama za resekciju jetre. Dobijeni rezultati doprinose predviđanju hirurške intervencije.

vities were determined without pyridoxal-5-phosphate in the assay buffer on the analysers Technicon RA-XT, Monarch and Hitachi 704.

A7

MEGX (MONOETHYLGlycinExylide) ASSAY-EVALUATION OF METHOD

M. Ilić¹, S. Stanković¹, P. Svordan²,
B. Dapčević², B. Radević³, D. Mecić²,
N. Majkić-Singh¹

¹Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade

²Department of Gastroenterohepatology, Zvezdara
University Hospital, Belgrade

³Dedinje Institut of Cardiovascular Diseases, Belgrade

MEGX (monoethylglycinexylidede) is the primary metabolite of lidocaine. MEGX is formed by oxidative N-de-ethylation by the hepatic cytochrome P-450 system. Measurable blood concentrations of MEGX are found in patients treated with lidocaine. Due to the high extraction ration and excessive metabolism of lidocaine, it has been demonstrated that the quantitative measurement of lidocaine metabolism can serve as a sensitive indicator of the liver function. MEGX test is advantageous in relation with other conventional tests, for the assessment of donor's organs needed for liver transplantation. Thus, low MEGX values in donors significantly correlate with low graft survival in the recipients. Besides, this test serves for pre-operative evaluation of the liver functional mass and is significantly correlated with post-operative course. Therefore it represents a reliable prognostic indicator of chronic liver diseases. In this study, the patient received a single bolus dose of lidocaine (1mg/kg body mass weight) and blood samples were drawn 15 min after. Serum MEGX was determined by commercial kit (Abbot Laboratories, Abbot Park IL 60 064). This assay is based on fluorescence polarization immunoassay (FPIA). A within run precision was evaluated with replicate measurement of MEGX concentration using three commercial controls with different MEGX concentrations (50, 100, 200 ng/mL). The obtained coefficients of variation (CVs) were lower than 5%. With these three controls similar results were obtained for the between run precision (2.58%, 4.04%, 4.26%, respectively). Average recovery was $97.24 \pm 1.04\%$. On the basis of these findings, analytical characteristics of this commercial kit prove to be a reliable test for measuring MEGX concentrations. The introduction of the test for determination MEGX concentration in our clinical practice enabled for the first time the preoperative assessment of the liver functional state in patients indicative of the liver resection. The obtained results contribute to the forecast of surgical procedure.

A8

**»SANDWICH« IMUNO-ODREĐIVANJE
KONCENTRACIJE TROPONINA I
U SERUMU**

S. Stanković, E. Čolak, N. Aleksić-Marković,
D. Vukosavljević, N. Majkić-Singh

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Troponin je proteinski kompleks koji reguliše kontrakciju poprečno-prugastih mišićnih ćelija i sastoji se iz tri komponente: troponina C, troponina I i troponina T. Troponin I javlja se u tri izoforme, od kojih se dve nalaze u skeletnim mišićima i jedna u srčanom mišiću. Srčani troponin I se oslobađa u cirkulaciju nakon akutnog infarkta miokarda (AMI). On se u krvi pojavljuje 4-8 sati nakon početka srčanog bola, doстиže maksimalnu koncentraciju 12-16 časova i ostaje povećan 5-9 dana nakon AMI, pa se zbog toga primenjuje za rano dijagnostikovanje AMI. Cilj ovog rada bio je da se ispitaju analitičke karakteristike komercijalnog testa za određivanje koncentracije srčanog troponina I u serumu (Opus, Behring-Dade). Test se zasniva na principu sendvič određivanja sa fluorescentno obeleženim sekundarnim antitelom. Ovim testom srčani troponin I se određuje u roku od 15 minuta. Nepreciznost u seriji određivana je korišćenjem tri različite komercijalne kontrole (DADE® TRU-Liquid Cardiac Control, MAST™, Level 1,2,3, Cat. No. B5930-1, B 5930-2, B5930-3) i merenjem srčanog troponina I u svakoj 10 puta. Nepreciznost iz dana u dan određivana je merenjem koncentracije srčanog troponina I u istim komercijalnim kontrolnim serumima u toku 7 dana. Linearnost metode ispitivana je razblaživanjem seruma sa visokom vrednošću srčanog troponina I sa uzorcima seruma u kojima se koncentracija srčanog troponina I nije mogla detektovati. Za nepreciznost u seriji za prvu kontrolu dobijen je $K_v = 3,72\%$, dok su koeficijenti varijacije za druge dve kontrole iznosili 4,46%, 3,34%. Dobijeni koeficijenti varijacije za nepreciznost iz dana u dan iznosili su 4,76%, 4,96%, 4,21%. Ispitivanjem linearnosti dobijen je »recovery« između 96-101%. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da analitičke karakteristike ovog komercijalnog testa omogućavaju brzo i pouzdano određivanje koncentracije srčanog troponina I.

A8

**SANDWICH IMMUNOASSAY
FOR DETERMINATION OF TROPONIN
I CONCENTRATION IN SERUM**

S. Stanković, E. Čolak, N. Aleksić-Marković,
D. Vukosavljević, N. Majkić-Singh

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

Troponin is the contraction regulating protein complex of striated muscle which consists of three distinct components: troponin C, troponin I and troponin T. The troponin I subunit exists in three isoforms, two in skeletal muscle and one in cardiac muscle. Cardiac troponin I is released into blood after acute myocardial infarction (AMI). It is measurable in serum within 4-8 hours following onset of chest pain, peak at 12-16 hours and remain elevated 5-9 days following an AMI; therefore, it can be used in early diagnosis of AMI. The aim of this study was to evaluate the analytical characteristics of a two-site or sandwich fluorogenic enzyme linked immunoassay (Opus, Behring-Dade) for determination of cardiac troponin I concentration in serum. With this test serum cardiac troponin I concentration can be determined within 15 min. Three commercial controls (DADE® TRU-Liquid Cardiac Control, MAST™, Level 1,2,3, Cat. No. B5930-1, B 5930-2, B5930-3) with different cardiac troponin I levels were analyzed 10 times each to estimate the intra-assay precision. Inter-assay precision was determined by the evaluation of the same controls over a period of 7 days. The linearity of dilution was tested using serum samples containing high cardiac troponin I concentrations. Serial dilutions were made with a normal human sample that has previously been evaluated and is known to be negative for troponin I. The obtained coefficient of variation for intra-assay precision of the first control was $CV=3.72\%$, while the coefficients of variation for two other controls were 4.46% and 3.34%, respectively. The obtained coefficient of variation for inter-assay precision of three controls were: 4.76%, 4.96% and 4.21%. Linearity »recovery« was between 96-101%. Therefore, we conclude that analytical characteristic of this commercial kit prove to be a reliable test for measuring cardiac troponin I concentrations.

A9**»SANDWICH« IMUNO-ODREĐIVANJE
MASE CK-MB U SERUMU**

*S. Stanković, E. Čolak, N. Aleksić-Marković,
D. Vukosavljević, N. Majkić-Singh*

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Merenje aktivnosti serumskih enzima kao srčanih markera dugo je služilo za evaluaciju kardiovaskularnih oboljenja. Razvitkom imuno-određivanja, omogućeno je određivanje koncentracije enzima, nezavisno od toga da li je enzim aktivan ili ne. Prvi test za određivanje koncentracije CK-MB mass opisan je 1985. godine, a CK-MB mass danas predstavlja »zlatni standard« među biohemijskim markerima za dijagnostikovanje infarkta miokarda. Određivanje masene koncentracije CK-MB ograničeno je jer se ona povećava tek nakon 4-6 h od pojave prvih simptoma i ne može da se koristi za utvrđivanje nestabilne angine pektoris kod pacijenata. Cilj ovog rada bio je da se ispitaju analitičke karakteristike komercijalnog testa za određivanje masene koncentracije CK-MB u serumu (Opus, Behring-Dade). Test se zasniva na principu sendvič imuno-određivanja. Masena koncentracija CK-MB u serumu može se odrediti za 10 minuta. Nepreciznost metode procenjena je analiziranjem tri komercijalne kontrole (DADE® TRU-Liquid Cardiac Control, MAST™, Level 1,2,3, Cat. No. B5930-1, B 5930-2, B5930-3) sa različitim masenim koncentracijama CK-MB. Vrednosti koeficijenata varijacije za preciznost u seriji iznosile su 1,78% do 3,04%, dok su vrednosti koeficijenata varijacije za preciznost iz dana u dan bile u opsegu od 2,61% do 4,62%. Utvrđeno je da je metoda za određivanje masene koncentracije CK-MB na Opus tačna. Vrednosti dobijene analizom kontrolnog seruma sa normalnom i povišenom masenom koncentracijom CK-MB u serumu nisu se značajno razlikovale od pravih vrednosti ($P > 0,05$). Rezultati ispitivanja linearnosti dali su »recovery« između 92-101%. Dobijeni rezultati pokazuju da su analitičke karakteristike testa takve da omogućavaju pouzdano i brzo određivanje masene koncentracije CK-MB u serumu.

A9**SANDWICH IMMUNOASSAY
FOR DETERMINATION OF CK-MB MASS
CONCENTRATION IN SERUM**

*S. Stanković, E. Čolak, N. Aleksić-Marković,
D. Vukosavljević, N. Majkić-Singh*

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

The initial markers for cardiac diseases were enzymes whose activity was measured to determine the extent of cardiac damage. The development of immunoassay measurements enabled determination of the enzyme concentration, which was not dependent on whether or not the enzyme was active. The first manual CK-MB mass assay was described in 1985 and today CK-MB mass is still considered the »gold standard« as a biochemical marker for acute myocardial infarction. The utility of CK-MB mass is limited because blood concentrations do not increase until 4-6 hours after symptom's onset, and CK-MB was »not effective« for identifying patients with unstable angina pectoris. The aim of this study was to evaluate the analytical characteristics of a two-site or sandwich fluorogenic enzyme linked immunoassay (Opus, Behring-Dade) for determination of CK-MB mass concentration in serum. With this test CK-MB mass serum concentration can be determined within 10 min. The imprecision was assessed by analyzing three commercial controls (DADE® TRU-Liquid Cardiac Control, MAST™, Level 1, 2, 3, Cat. No. B5930-1, B 5930-2, B5930-3) with different CK-MB mass levels. Within-run coefficient of variation were in the range from 1.78% to 3.04%, whereas day-to-day coefficients of variation were in the range from 2.61% to 4.62%. The Opus CK-MB mass assay was found to be accurate: the values obtained in control sera with normal and elevated CK-MB mass values did not significantly differ from the corresponding target values ($P > 0.05$). Linearity »recovery« was between 92-101%. Therefore, we conclude that analytical characteristic of this commercial kit proves to be a reliable test for measuring CK-MB mass concentrations.

A10
**VREDNOSTI UREE I ACIDOBASNIH
PARAMETARA KOD PACIJENATA
NA HEMODIJALIZI**

*E. Čolak¹, S. Stanković¹,
M. Radović², N. Majkić-Singh¹*

¹*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

²*Institut za urologiju i nefrologiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Zbog smanjenog obima bubrežnog rada u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji (HBI) često dolazi do izražene metaboličke acidoze i patološkog katabolizma praćenog hipoksijom. Uzrok nastanka metaboličke acidoze je smanjena tubularna sekrecija amonijaka, usled smanjene sinteze, uslovljene smanjenim brojem bubrežnih kanaliča. Ispitivan je acidobazni status 74 pacijenata obolela od HBI, koji su na programu hemodijalize, od toga 36 muškaraca starosti od 21–85 godina i 38 žena starosti od 30–78 godina. Pacijentima su određivani sledeći parametri: pH, pCO₂, pO₂, HCO₃, TCO₂ i urea pre i posle hemodijalize s ciljem da se procene vrednosti ureje i stepen stabilizacije acidobaznog statusa posle hemodijalize. Vrednosti pH, HCO₃, TCO₂ posle hemodijalize (pH 7,428 ± 0,060; HCO₃ 25,41 ± 3,44, TCO₂ 26,57 ± 3,56) pokazale su statistički značajan porast ($P < 0,001$) u odnosu na vrednosti pre hemodijalize (pH 7,350 ± 0,050; HCO₃ 20,88 ± 2,92, TCO₂ 22,03 ± 3,00), dok su vrednosti uree posle hemodijalize bile statistički značajno manje ($P < 0,001$) u odnosu na one pre hemodijalize. U grupama muškaraca i žena, vrednosti pH, HCO₃, TCO₂ posle hemodijalize bile su statistički značajno veće ($P < 0,001$) u odnosu na vrednosti pre hemodijalize, dok su vrednosti uree posle hemodijalize bile statistički značajno manje ($P < 0,001$) u poređenju sa onima pre hemodijalize. Ovim je pokazano da kod pacijenata sa HBI oba pola postoji pozitivan uticaj hemodijalize na kompenzovanje nastale metaboličke acidoze.

A10
**THE ANALYSIS OF ACID-BASE BALANCE
AND UREA VALUES
IN HAEMODIALYZED PATIENTS**

*E. Čolak¹, S. Stanković¹,
M. Radović², N. Majkić-Singh¹*

¹*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

²*Institute of Urology and Nephrology,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

Due to reduced scope of renal function in chronic renal failure (CRF), it is not rare that it comes to marked metabolic acidosis and pathologic catabolism associated with hypoxia. The cause of metabolic acidosis is diminished tubular secretion of ammonia, due to reduced synthesis, stipulated by lower number of renal canaliculi. Acid-base balance and values of urea were analyzed in 74 patients suffering from CRF, who were on haemodialysis programme, out of whom 36 were males aged 21–85 and 38 were females aged 30–78 years. The following parameters were measured in these patients: pH, pCO₂, pO₂, HCO₃, TCO₂, urea before and after haemodialysis with a view to evaluate the degree of stabilization of acid-base balance and urea values after haemodialysis. The values of pH, HCO₃, TCO₂ after haemodialysis (pH 7.428 ± 0.060; HCO₃ 25.41 ± 3.44, TCO₂ 26.57 ± 3.56) were significantly increased ($P < 0.001$) in relation to values before haemodialysis (pH 7.350 ± 0.050; HCO₃ 20.88 ± 2.92, TCO₂ 22.03 ± 3.00) and values of urea after haemodialysis were significantly decreased ($P < 0.001$) in relation to values of urea before haemodialysis. In male and female groups, the values of pH, HCO₃, TCO₂ after haemodialysis were significantly higher ($P < 0.001$) and the values of urea significantly lower ($P < 0.001$) in comparison to those before haemodialysis. These data suggested that there was a positive effect of haemodialysis in patients of both sexes to the compensation of the existing metabolic acidosis and high levels of urea in CRF patients.

A11

**UTICAJ ETIOLOGIJE HRONIČNE
BUBREŽNE INSUFICIJENCIJE
NA VREDNOSTI ACIDOBASNIH
PARAMETARA, UREE, KREATININA,
KALCIJUMA I FOSFATA
KOD HEMODIJALIZIRANIH PACIJENATA**

*E. Čolak¹, S. Stanković¹,
M. Radović², N. Majkić-Singh¹*

¹*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

²*Institut za urologiju i nefrologiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Hronična bubrežna insuficijencija (HBI) javlja se usled smanjenog broja bubrežnih kanaliča koji progresivno propadaju. Ova bolest je praćena promenom acidobaznog statusa pacijenata. Cilj ispitivanja je bio da se utvrdi da li postoji povezanost između etiologije nastanka HBI i stepena acidobaznog poremećaja, kao i između etiologije nastanka HBI i vrednosti uree, kreatinina, kalcijuma i neorganskog fosfata. Ispitan je acidobazni status 74 pacijenta obolela od HBI, koji su na programu hemodijalize, od toga 36 muškaraca starosti od 21–85 godina i 38 žena starosti od 30–78 godina. U zavisnosti od osnove bolesti koja je kao posledicu imala HBI, pacijenti su podijeljeni u pet grupa: pacijenti sa tubulsnom intersticijalnom nefrozom-TIN (18 pacijenata), policističnom bolešću bubrega-ADPKD (13 pacijenata), glomerulonefritisom (GN) (22 pacijenta), hipertenzijom i nefroangiosklerozom (HTA-Nascl) (9 pacijenata) i peta grupa koju su činili pacijenti čija osnovna bolest nije utvrđena-ESRD (12 pacijenata). Pacijentima su određivani sledeći parametri: pH, pCO_2 , pO_2 , HCO_3 , TCO_2 , urea, kreatinin, kalcijum i neorganski fosfat pre i posle hemodijalize s cijem da se utvrdi uticaj osnovnog oboljenja na vrednost ovih parametara. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u vrednostima određivanih parametara ($P>0.05$) u odnosu na osnovno oboljenje, ni pre, ni posle dijalize, kako kod muškaraca, tako i kod žena. Utvrđena je statistički značajna razlika unutar svih pet grupa bolesti u vrednostima pH, HCO_3 , TCO_2 , uree i kreatinina posle hemodijalize ($P<0.05$). Takođe je pokazano da se vrednosti pH, HCO_3 i TCO_2 statistički značajno najviše povećavaju nakon hemodijalize u grupi pacijenata sa TIN-om, a zatim kod pacijenata sa policističnom bolešću bubrega, dok se vrednosti uree i kreatinina najviše snižavaju posle hemodijalize kod pacijenata sa HTA-Nascl, a zatim kod pacijenata sa TIN-om.

A11

**THE EFFECT OF ETIOLOGY
OF CHRONIC RENAL FAILURE
ON ACID-BASE PARAMETER, UREA,
CREATININE, CALCIUM AND INORGANIC
PHOSPHORUS VALUES
IN HAEMODIALYZED PATIENTS**

*E. Čolak¹, S. Stanković¹,
M. Radović², N. Majkić-Singh¹*

¹*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

²*Institute of Urology and Nephrology,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

Chronical renal failure (CRF) occurs due to reduced number of renal canaliculi deteriorating progressively. This disease is associated with the change of patient's acid-base balance. The object of the study was to define the correlation between the etiology of CRF and the degree of acid-base balance disorder and between etiology of CRF and values of urea, creatinine, calcium and inorganic phosphorus. Acid-base balance was tested in 74 patients suffering from CRF, being on haemodialysis program, out of whom 36 were males aged 21–85 and 38 females aged 30–78 years. In relation to underlying disease resulting in CRF, the patients were divided into five groups: I-tubular interstitial nephrosis-TIN (18 patients), II-poly-cystic kidney disease-ADPKD (13 patients), III-glomerulonephritis-GN (22 patients), IV-hypertension and nephroangio-sclerosis (HTA-Nascl) (9 patients), and V-consisting of patients whose underlying disease was not diagnosed-ESRD (12 patients). The following parameters were measured in our patients: pH, pCO_2 , pO_2 , HCO_3 , TCO_2 , urea, creatinine, calcium and inorganic phosphorus before and after haemodialysis with a view to determine the effect of underlying disease to the value of these parameters. It was concluded that there was no statistically significant difference of values of measured parameters ($P>0.05$) in relation to underlying disease either before or after haemodialysis, both in males and females. Statistically significant difference was found in pH, HCO_3 , TCO_2 , urea and creatinine values, within all five disease groups, in patients before and after haemodialysis ($P<0.05$). Likewise, it was shown that pH, HCO_3 and TCO_2 values were significantly increased to the maximum after haemodialysis in patients with TIN, and urea and creatinine values significantly decreased after haemodialysis, the most in patients with HTA-Nascl and TIN.

A12

**KOMPARATIVNO ODREĐIVANJE
BILIRUBINA U SERUMU METODOM
JENDRASSIK-GROF PRIMENOM
DVA AKCELERATORA**

E. Čolak, S. Stanković, D. Pejak

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Najčešće korišćena metoda za određivanje bilirubina zasniva se na diazo reakciji koju je prvi opisao Ehrlich još 1883 a koja je počela da se primenjuje od 1916. godine. Danas postoje brojne modifikacije ove metode za određivanje bilirubina koje se međusobno razlikuju, uglavnom, po akceleratorima. Kao akceleratori najčešće se koriste kofein-benzoat, metanol, Brij 35, urea-benzoat, dimetilsulfoksid itd. U ovom radu su na 120 uzoraka seruma, metodom sa diazo reagensom pri čemu su kao akceleratori korišćeni kofein-natrijum benzoat i dimetilsulfoksid, određivani ukupan i konjugovani bilirubin. Cilj rada bio je da se utvrdi da li postoji korelacija između dva pomenuta postupka, kao i da se odredi s kojim akceleratorom se može postići veća osetljivost i preciznost. Poređenjem rezultata ove dve metode dobijen je koeficijent korelacije za ukupan bilirubin $r=0,993$ i jednačina prave $y_x = 3,523 + 1,210x$ ($S_{y,x} = 7,884 \mu\text{mol/L}$), a za konjugovani bilirubin $r=0,989$ i jednačina prave $y_x = 2,596 + 1,426x$ ($S_{y,x} = 7,078 \mu\text{mol/L}$). Metoda za određivanje bilirubina u kojoj se kao akcelerator koristi dimetilsulfoksid, s obzirom na dobijene rezultate, predstavlja adekvatnu zamenu za metodu za određivanje bilirubina sa kofein-benzoatom kao akceleratorom.

A12

**COMPARATIVE DETERMINATION OF
BILIRUBIN IN SERUM USING
JENDRASSIK-GROF METHOD:
COMPARISON OF TWO
DIFFERENT ACCELERATORS**

E. Čolak, S. Stanković, D. Pejak

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade*

The most widely used methods for bilirubin measurement are those based on the diazo reaction, which was first described in 1883 by Ehrlich and then applied in 1916 by van den Bergh and Miller. Today, numerous variations of these procedure have been developed. All of them utilize one of a variety of accelerators such as: caffeine-benzoate, methanol, Brij 35, urea-benzoate, dimethylsulfoxide etc. The total and conjugated bilirubin have been determined in 120 human serum by diazo reaction using caffeine-benzoate and dimethylsulfoxide as accelerators. The aim of this work was to compare these two accelerators in order to find what kind of correlation exists between these two procedures and also to define the accelerator which is responsible for better precision and sensitivity of the method. The comparison of results between these two methods yielded the following regression parameters: for total bilirubin $y_x = 3.523 + 1.210x$ ($r = 0.993$, $S_{y,x} = 7.884 \mu\text{mol/L}$) and for conjugated bilirubin $y_x = 2.596 + 1.426x$ ($r = 0.989$, $S_{y,x} = 7.078 \mu\text{mol/L}$). On the basis of these findings, method of determination of bilirubin with dimethylsulfoxide as accelerator offers an adequate alternative to the other mentioned method with caffeine-benzoate as accelerator.

A13

**MODIFIKACIJA STERNHEIMER-OVOG
BOJENJA U ANALIZI SEDIMENTA URINA**

M. Milivojević, N. Lalić

*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd*

Ispitivanje urina je jedna od najstarijih tehnika koja se danas koristi u laboratorijskoj praksi. Mikroskopska analiza sedimenta urina najčešće podrazumeva ispitivanje nativnog neobojenog preparata svetlosnim mikroskopom. Ova tradicionalna metoda diferencijacije sedimenta je i najteža zbog malog kontrasta između elemenata i pozadine; naročito je teško uočiti hijaline cilindre, sluzi razne vrste ćelija. Tehnike boje-

A13

**MODIFICATION OF STERNHEIMER'S
STAINING IN URINE SEDIMENT ANALYSIS**

M. Milivojević, N. Lalić

*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade*

Urine analysis is one of the oldest techniques still used in laboratory practice. Microscopic analysis of the urinary sediment most frequently includes examination of the plain, unstained preparation using brightfield microscop. This traditional method of sediment differentiation is the most difficult one due to the low contrast between the elements and background; it is particularly difficult to distinguish hyaline

nja pomažu u vizuelizaciji različitih elemenata u sedimentu urina. Papaniuolau je standardno bojenje za diferencijaciju elemenata sedimenta urina, koje zbog složenog postupka i dužine trajanja nije primenljivo u svakodnevnom radu. Zato je u našoj laboratoriji primjeno Sternheimer-ovo citogenetsko bojenje. Ova originalna metoda, koja je prvi put publikovana u JAMA, (1975; 231: 826) modifikovana je i prilagođena našim uslovima. Primenom ove tehnike bojenja jasno se boje ćelije sa jedrom: citoplazma ovih ćelija je svetlocrvena sa tamno crvenim granulama, dok je jedro tamnoljubičasto obojeno. U ovako obojenim preparatima moguće je diferencirati polimorfonuklearne ćelije (PMN) i mononuklearne ćelije (MN). Ova metoda se primjenjuje za identifikaciju izmenjenih leukocita nazvanih Sternheimer-Malbinove ćelije (glitter ćelije) koje su veće od leukocita a kod kojih je svetloplavo obojena citoplazma i jasno se uočava Brownovo kretanje. Kvalitet ovako dobijenih preparata je odličan, metoda je brza i jednostavna a za razliku od originalne metode ostaje deo sedimenta neodvojen za druga alternativna ispitivanja. Ova metoda se primjenjuje u rutinskom radu od maja 2001. godine i do sada je na ovaj način obrađeno nekoliko stotina uzoraka sedimenta urina.

casts, mucus and different cell types. Staining techniques contribute to visualization of different elements in the urine sediment. Papanicolau is standard strain differentiation elements in the urine sediment but it is also time-consuming and not useful for routine work. Therefore, Sternheimer's cytogenetic straining was applied in our laboratory. This original method, which was initially described in JAMA, (1975; 231: 826) is modified and adjusted for our conditions. Application of the straining method enables clear distinguishing of the nuclear cell color: the cytoplasm of the cells is light red with dark red granules, while the nucleus is dark purple colored. The preparations stained in this way enable differentiation of the polymorphonuclear cells (PMN) and mononuclear cells (MN). The method is used for identification of the altered leukocytes names Sternheimer/Malbin's cells (glitter cells) which are larger than leukocytes, their cytoplasm is light blue colored and Brown's movement is easily observable. Quality of the obtained preparations is excellent, the method is quick and simple and, as opposed to the original method, a part of the sediment remains unstained for other alternative examinations. The method has been routinely applied since May 2001 and few hundred urine sediment samples were defined so far in this way.

A14

MEĐULABORATORIJSKA UPOREDNA ODREĐIVANJA KONCENTRACIJE BIOLOŠKI AKTIVNIH SUPSTANCI POMOĆU RADIOIMUNOTESTOVA

Lj. Hajduković-Dragojlović¹, S. Golubović¹, V. Resanović¹, M. Joksimović², M. Janković¹, A. Gruden-Mousesijan¹, I. Petrović¹, S. Marjanović¹, J. Krsmanović¹, G. Kostić¹

¹Institut za primenu nuklearne energije INEP, Zemun
²Vojnomedicinska akademija, VMA, Beograd

U oblasti radioimunodijagnostike u našoj zemlji do sada nije uspostavljena organizovana spoljašnja kontrola rada u laboratorijama. Kako postoji potreba za međulaboratorijskim uporednim ispitivanjima, određivane su koncentracija TSH, T3, T4, TBG, FSH, LH, PROG i PSA u humanim serumima (n=18 49) paralelno u laboratorijama INEP-a i Instituta za nuklearnu medicinu, VMA. Za ova ispitivanja korišćeni su radioimunotestovi proizvedeni u INEP-u. Statistička obrada podataka izvršena je uz pomoć Microsoft Excel programa, a zasnivala se na izračunavanju t i r vrednosti (Student-t test izračunavanje vrednosti t iz razlike između parova određivanja). Vrednosti koefici-

A14

INTERLABORATORY COMPARATIVE MEASUREMENTS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES USING RADIOIMMUNOAASSAYS

Lj. Hajduković-Dragojlović¹, S. Golubović¹, V. Resanović¹, M. Joksimović², M. Janković¹, A. Gruden-Mousesijan¹, I. Petrović¹, S. Marjanović¹, J. Krsmanović¹, G. Kostić¹

¹Institute for the Application of Nuclear Energy INEP, Zemun
²Military Medical Academy MMA, Belgrade

External quality assessment is not well established in the field of radioimmunoassays in our country. Since there is a need for this kind of study, INEP and the Institute for Nuclear Medicine performed preliminary comparative measurements of TSH, T3, T4, TBG, FSH, LH, PROG and PSA in human sera (n=18 49), using INEP radioimmuno-kits (RIA and IRMA). Statistical evaluation of the obtained results was performed using the Microsoft Excel Program and based on calculation of t and r values (paired two sample for means). The coefficients of correlation (ranging from 0.862 to 0.997) indicated a close relation between the results obtained in two laboratories

jenata korelacije ($r = 0,862$ do $r = 0,997$) ukazale su na dobru korelaciju između rezultata dobijenih u dve laboratorije kod svih ispitanih analita. Međutim, statistički značajne razlike nađene su za sve ispitivane analite osim kod uporednih određivanja FSH i TSH. Generalno, u laboratoriji VMA dobijane su više vrednosti u odnosu na laboratoriju INEP-a, što potvrđuje potrebu za reevaluacijom referentnih vrednosti u svakoj laboratoriji. Ovo je u saglasnosti sa preporukom proizvođača radioimmunotestova da svaka laboratorija treba da ustanovi svoj opseg referentnih vrednosti. Sprovedena međulaboratorijska ispitivanja predstavljaju prvi korak u pravcu uvođenja spoljašnje kontrole kvaliteta s ciljem da ona obuhvati sve laboratorije koje koriste testove tipa RIA i IRMA.

for all the examined analytes. However, statistically significant differences were found for all the analytes except for FSH and TSH. Generally, higher values were obtained in the laboratory of the Institute for Nuclear Medicine compared with the INEP laboratory, which confirms the need for reevaluation of reference values in each laboratory. It is in agreement with the general suggestion of producers of radioimmuno kits, that each laboratory should establish its own range of reference values. These interlaboratory comparative measurements represent the first step towards the establishment of external quality assessment aiming at encompassing all laboratories which use radioimmuno kits.

A15

SMERNICE ZA PRIMENU SPECIFIČNIH PROTEINA U KLINIČKIM OBOLJENJIMA

D. Pap¹, S. Bugarinović², V. Cvejić³

¹Kliničko-biohemijiska laboratorija,
Zdravstveni centar Sremska Mitrovica

²Specijalna neuropsihijatrijska bolница, Kovin

³Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Beograd

Ljudsko telo sadrži niz raznovrsnih proteina, od kojih su neki rastvorljivi u tečnostima unutar ili van ćelija, a neki su nerastvorljivi i strukturni. U plazmi je identifikovano više od 300 proteina, ali se oni veoma razlikuju po koncentraciji, pa će u ovom članku biti razmatrani samo oni kojih ima najviše. U poslednjoj deceniji, znanje o njihovoj ekspresiji i ćelijskim funkcijama je značajno povećano čime je, obezbeđen osnov za povećanu kliničku primenu ovih proteina. Pozitivni proteini akutne faze su grupa proteina čija se koncentracija povećava za vreme inflamatornih procesa hirurškog, topotognog, neoplastičnog, infektivnog ili nekog drugog porekla. Proteini od tekućeg kliničkog interesa su C-reaktivni protein, α_1 -kiseli glikoprotein, haptoglobin, α_1 -antitripsin, α_1 -antihimotripsin i ceruloplazmin. U radu je dat prikaz savremenih saznanja o dijagnostičkom i kliničkom aspektu proteina akutne faze i drugim specifičnim proteinima kao što su prealbumin, albumin, mikroalbumin, transferin, kapta i lambda lakim lancima, reumatoidnom faktoru, α_2 -makroglobulinu, β_2 -makroglobulinu, imunoglobulinima M, G, A, komponentama komplementa C3 i C4, antitrombinu III, apolipoproteinima (apoA1 i apoB), properdin faktoru B, lipoproteinu (a), alfa-fetoproteinu, mijelinskom baznom proteinu (MBP) i S-100 proteinu. U ovom radu prikazane su mogućnosti

A15

GUIDELINES FOR THE USE OF SPECIFIC PROTEINS IN CLINICAL DISORDERS

D. Pap¹, S. Bugarinović², V. Cvejić³

¹Clinical-Biochemical Laboratory,
Medical Center Sremska Mitrovica

²Psychiatric Hospital, Kovin

³Institute of Biochemistry,
School of Medicine, Belgrade

The human body contains countless different proteins, some are soluble in fluids within or outside the cells, some are insoluble and structural. In plasma, more than 300 proteins have been identified, but they differ greatly in concentration and only the most abundant will be considered in this study. During the last decade, knowledge about their expression and cellular functions has rapidly accumulated providing the basis for increase of clinical application of these proteins. Positive acute phase proteins are the group of proteins whose concentration increases significantly during an inflammatory process of surgical, thermal, neoplastic, infectious or any other origin. The proteins of current clinical interest are C-reactive protein (CRP), α_1 -acid glycoprotein, haptoglobin, α_1 -antitrypsin, α_1 -antichymotrypsin and ceruloplasmin. The article deals with review of up-to-date knowledge about diagnostic and clinical aspects of acute phase proteins and other specific proteins as well as albumin, microalbumin, prealbumin, transferrin, kappa and lambda light chain, rheumatoid factor, α_2 -macroglobulin, β_2 -microglobulin, immunoglobulins M, G, A, complement C3 and C4, antitrombin III, apolipoproteins (apoA1 and apo B), properdin factor B, lipoprotein (a)-Lp(a), alpha-fetoprotein (AFP), myelin basic protein (MBP)

kliničke primene ovih specifičnih proteina i proteina telesnih tečnosti sa smernicama za upotrebu ovih proteina u prognostici, dijagnostici i terapiji u različitim oboljenjima i patološkim stanjima.

A16

DIABETES MELLITUS: PRAĆENJE POMOĆU FRUKTOZAMIN TESTA – GLIKOZILIRANOG SERUMSKOG PROTEINA

D. Pap¹, M. Babić², V. Cvejić³

¹Kliničko-biohemijiska laboratorijska, Zdravstveni centar Sremska Mitrovica

²Dom zdravlja Požega

³Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Beograd

Diabetes mellitus (DM) kontroliše se kratkoročnim i dugoročnim praćenjem vrednosti glukoze. Kada su vrednosti glukoze povećane raste i koncentracija fruktozamina (FRU). Zato je određivanje FRU važno za kratkoročnu i srednjoročnu kontrolu glikemije u toku 2-3 nedelje. Cilj ovog rada bio je ispitivanje dijagnostičke efikasnosti praćenja regulisanosti DM primenom fruktozamin testa. Fruktoamin je određivan kod 136 zdravih osoba (kontrolna grupa) i 188 pacijenata obolelih od DM (eksperimentalna grupa). Eksperimentalna grupa podjeljena je u 4 grupe: M1 54 pacijenta obolela od DM ne-zavisnog od insulinu lečenih dijetom (NIDDM na dijeti); M2 68 NIDDM na terapiji oralnim antidiabetičima; M3 32 NIDDM lečena insulinom; M4 34 pacijenta obolela od insulin zavisnog DM (IDDM). Pacijenti su bili oba pola, iste starosne dobi kao i kontrola grupa i ispitani su u toku tri nedelje. FRU je određen NBT kolorimetrijskom metodom (test Menarini), a koncentracija glukoze standardnom enzimskom metodom (GOD-PAP metodom). FRU i vrednosti glukoze u serumu bile su značajno više ($p < 0,01$) kod svih grupa pacijenata u poređenju sa zdravim osobama za vreme perioda praćenja DM. FRU je bio u značajnoj korelaciji sa glikemijom u toku poslednje 2 nedelje. U svim grupama dobijene su sledeće vrednosti ispitanih parametara: M1 glukoza $7,36 \pm 1,39$ mmol/L, a FRU od $258-320$ mmol/L; M2 $9,60 \pm 3,77$ mmol/L; FRU $346-386$ mmol/L; M3 $12,25 \pm 3,62$ mmol/L, FRU $447-509$ mmol/L; M4 $15,01 \pm 5,95$ mmol/L; FRU $497-587$ mmol/L; kontrolna grupa $5,05 \pm 0,75$ mmol/L; FRU $174-225$ mmol/L. Istovremeno određivanjem oba parametra dobija se uvid u kontrolisanost bolesti i prepoznavanje skorije metaboličke dekompenzacije. Dobijeni rezultati ukazuju da je određivanje FRU srednjoročan marker za praćenje kontrolisanosti DM u odnosu na njihovu terapiju.

and S-100 protein. The present review summarizes the possibilities of clinical application of cited specific proteins and proteins of body fluids with guidelines for the use of these proteins as prognostic, diagnostic and therapeutic tools in various disease conditions and disorders.

A16

DIABETES MELLITUS: MONITORING BY MEANS OF FRUCTOSAMINE – GLYCATED SERUM PROTEIN

D. Pap¹, M. Babić², V. Cvejić³

¹Clinical-Biochemical Laboratory, Medical Center Sremska Mitrovica

²Medical Center, Požega

³Institute of Biochemistry, School of Medicine, Belgrade

Diabetes mellitus (DM) can be assessed by the long term monitoring and control of glucose levels as short term indicator. When blood glucose levels are abnormally elevated the concentration of fructosamine also increases. The measurement of fructosamine (FRU) is therefore useful in monitoring short to medium glycemic control in DM, over the past 2-3 weeks. The purpose of this study was to evaluate diagnostic efficiency for monitoring of DM by fructosamine assay. The studied subjects were the control group (136 healthy subjects) and the experimental group (188 DM patients). The experimental group divided in four groups: M1 54 non-insulin dependent DM patients (NIDDM) on diet; M2 68 NIDDM patients on oral antidiabetes therapy; M3 32 NIDDM patients on insulin; M4 34 insulin dependent patients (IDDM). Patients were both sexes, age matched and monitored in last 3 weeks. We performed FRU determinations (by NBT colorimetric method) test kit Menarini. Glucose concentration was measured by GOD-PAP method (test kit Randox). FRU and glucose values in serum were significantly higher ($p < 0,01$) in all groups of patients compared to the control group during whole period of monitoring of DM. FRU was significantly correlated with glycemia over the past 2 weeks. The results of examined parameters in all groups have shown the following values: M1 for glucose $7,36 \pm 1,39$ mmol/L; and FRU values ranged from $258-320$ mmol/L; M2 $9,60 \pm 3,77$ mmol/L; FRU $346-386$ mmol/L; M3 $12,25 \pm 3,62$ mmol/L; FRU $447-509$ mmol/L; M4 $15,01 \pm 5,95$; FRU $497-587$ mmol/L; control group $5,05 \pm 0,75$ mmol/L; FRU $174-225$ mmol/L. Simultaneous determination of both parameters allows us to emphasize the recent metabolic decompensation. The results suggest that fructosamine assay is useful medium-term marker to monitor diabetic patients in regard to their therapy.

A17

**C-REAKTIVNI PROTEIN
U KAPILARNOJ I VENSKOJ KRVI:
POREĐENJE REZULTATA
AGLUTINACIONOG SKRININGA TESTA**

S. Stojiljković, S. Stojiljković, J. Lalić

*Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar, Niš*

C-reaktivni protein (CRP) je reaktant akutne faze bolesti. Značajno se povećava kod niza patoloških pojava u organizmu. U širokoj su primeni kvalitativne i semi-kvalitativne metode koje se zasnivaju na aglutinaciji CRP-a u serumu pacijenta i čestica lateksa prekrivenih specifičnim antitelima za humani CRP. Vođeni idejom da se do dijagnoze dođe brže i jeftinije, upoređeni su rezultati kvalitativnog aglutacionog testa u serumu venske i kapilarne krvi istog pacijenta. Obradena su 43 pacijenta (17 CRP-positivnih i 26 CRP-negativnih). Praćeni su sedimentacija eritrocita i vrednosti fibrinogena plazme kao pokazatelji akutnog procesa u organizmu. Dobijeno je apsolutno poklapanje rezultata aglutacionog skrininga testa za CRP u serumu venske i kapilarne krvi. Sedimentacija eritrocita i fibrinogen u grupi CRP-positivnih pacijenata statistički su značajno bili povišeni ($p < 0,001$) u odnosu na grupu CRP negativnih pacijenata. Srednja vrednost fibrinogena u grupi CRP-positivnih bila je 5,9 g/L a u grupi CRP-negativnih 3,7 g/L. Srednja vrednost sedimentacije eritrocita u grupi CRP-positivnih iznosila je 41 arbitralnih jedinica, a u grupi CRP-negativnih 17 arbitralnih jedinica. Pozitivni CRP aglutinacioni skrining-test je prema dobijenom vrlo siguran pokazatelj prisustva akutnog procesa u organizmu. Mogućnost da se on sa jednakom preciznošću radi i u kapilarnom uzorku krvi doprinosi njegovoj bržoj i jeftinije primeni.

A17

**C-REACTIVE PROTEIN IN VENOUS
AND IN CAPILLARY BLOOD:
THE COMPARISON OF AGGLUTINATION
SCREENING-TEST RESULTS**

S. Stojiljković, S. Stojiljković, J. Lalić

*Center of Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Niš, Yugoslavia*

C-reactive protein (CRP) is very important acute-phase reactant. For some pathological diseases CRP level is significantly increased. Qualitative and semi-qualitative methods based on agglutination of CRP in patient serum and latex particles coated with specific human CRP antibodies are frequently used. In attempt to get fast and inexpensive diagnose we compared the results of qualitative agglutination test of venous and capillary blood of the same patient. Test had been made for 43 patients, 17 of them being CRP positive and 26 CRP negative. For the same patients we measured sedimentation of erythrocytes and the level of plasma-fibrinogen, as indicator of acute processes. We found out identical results for agglutination of CRP in venous as well as in capillary blood. The values of plasma fibrinogen and the sedimentation of erythrocytes in the CRP-positive group are significant higher ($p < 0.001$) to the CRP-negative group. Mean value of plasma fibrinogen in the CRP-positive group is 5.9 g/L and in the CRP-negative group is 3.7 g/L. Mean value of sedimentation of erythrocytes in the CRP-positive group is 41 arbitrary units, and in the CRP-negative group is 17 arbitrary units. In the conclusion we can say that method for the direct detection of CRP is important and precise marker to acute diseases. The fact that this method is showing as precise results in capillary blood as in venous blood, contribute to its faster and inexpensive application.

A18

**STANDARDIZACIJA KAO FAKTOR
KONTROLE KVALITETA:
PRIKAZ IMUNORADIOMETRIJSKIH
TESTOVA ZA ODREĐIVANJE
KONCENTRACIJE ALFA-FETOPROTEINA
I PROLAKTINA**

M. Janković, S. Golubović

Institut za primenu nuklearne energije, INEP, Beograd

Standardizacija je deo laboratorijske kontrole kvaliteta. Cilj standardizacije metoda je da poboljša upoređivost rezultata iz različitih laboratorija, povećavaju-

A18

**STANDARDISATION AS A QUALITY
CONTROL FACTOR: OVERVIEW
OF IMMUNORADIOMETRIC TESTS
FOR DETERMINATION
OF ALPHA-FETOPROTEIN AND PROLACTIN**

M. Janković, S. Golubović

*Institute for the Application of Nuclear Energy,
INEP, Belgrade*

Standardisation is part of laboratory quality control. The aim of methodological standardisation is to improve the comparability of results from various lab-

či njihovu tačnost. Standardi sami po sebi ne garantuju uporedivost imuno-testova ali predstavljaju ključnu komponentu. Proces u kome se esej kalibriše, sastoji se od nekoliko koraka u kojima se vrednost primarnog standarda prenosi na sekundarne i tercijarne kalibratore koji se koriste u finalnom testu. To uključuje odgovarajuću selekciju standarda i metode, pufera i njihovih matriksa, kontrolu razblaživanja, statističku evaluaciju i ukupnu kontrolu kvaliteta finalnog rezultata. Održavanje kalibracije zahteva da se deo ovog procesa ponavlja svaki put kada se uvodi nova serija reagenasa i predstavlja osnovni faktor kontrole kvaliteta imunoradiometrijskih testova koji se proizvode u INEP-u. S tim u vezi, u ovom radu su prikazani rezultati kontrole kvaliteta testova za analizu alfa-fetoproteina i prolaktina u humanom serumu. Koncentracije ovih antigena su određivane imunoradiometrijskim testovima proizvođača INEP (Zemun) i CIS bio international (Francuska), koji su standardizovani prema referentnim preparatima Svetske zdravstvene organizacije: 1IS 72/225 (alfa-fetoprotein) i IRP 84/500 (prolaktin). Statistička obrada rezultata vršena je u Microsoft Excel programu izračunavanjem vrednosti t, iz razlike između parova kod paralelnih određivanja. Na osnovu vrednosti koeficijenta korelacije ($r=0.9897$) za IRMA-AFP i ELSA2-AFP i koeficijenta korelacije ($r=0.9722$) za IRMA-PRL i RIA-gnost PRL, može se zaključiti da su koncentracije alfa-fetoproteina i prolaktina izmerene pomoću INEP-ovog i CIS-ovog kompleta u dobroj korelaciji.

oratories by increasing the accuracy. Standards alone do not guarantee comparability of immunoassays, but they represent a key component. Assay calibration proceeds in several stages of transfer of the value of the primary standard to secondary and tertiary calibrators for use in the final analysis. This includes the proper selection of standards and assay methods, buffers and their matrices, control of dilution, statistical evaluation and overall control of the final results. Maintenance of calibration requires that part of this process is repeated every time a new batch of reagents is introduced, and this is a basic part of the quality control of immunoradiometric tests, produced by INEP. In this work we present the results of such quality control of the tests for alpha-fetoprotein and prolactin in human sera. The concentrations of these antigens were determined immunoradiometrically (INEP, Zemun and CIS-bio international, France), calibrated according to the World Health Organization reference preparations: 1IS 72/225 (alpha-fetoprotein) and IRP 84/500 (prolactin). The results obtained were statistically evaluated with the aid of Microsoft Excel software, based on the calculation of t values (paired two sample for means). Coefficient of correlation ($r=0.9897$) for IRMA-AFP and ELSA2-AFP and the coefficient of correlation ($r=0.9722$) for IRMA-PRL and RIA-gnost PRL indicated that the corresponding concentrations of alpha-fetoprotein and prolactin, measured by the two different assays were in good correlation.

A19

OPTIMIZACIJA KAPILARNE ELEKTROFOREZE ZA ODREĐIVANJE MALIH MOLEKULA U PLAZMI

G. Žunić

*Institut za medicinska istraživanja,
Vojnomedicinska akademija, Beograd*

Kapilarna elektroforeza (KE) razlikuje se od svih drugih vrsta elektroforeza ne samo zato što se izvodi u kapilarima, već i zato je elektroosmoza glavna, mada ne i jedina, sila koja utiče na pokretljivost komponenti. Tako KE omogućava razdvajanje i velikih i malih molekula, a prednosti su određivanje malih količina komponenata (10^{-18} mola) iz malih uzoraka (nL) u kratkom vremenskom periodu. Međutim, telesne tečnosti su kompleksne smeše sa visokim sadržajem proteina i soli, koje modifikuju površinu kapilare što utiče na uslove razdvajanja, vremena migracije komponenata i osetljivosti detekcije pri KE komponenata u biološkim tečnostima. Problemi su posebno izraženi

A19

OPTIMIZATION OF CAPILLARY ELECTROPHORESIS FOR QUANTIFICATION OF SMALL MOLECULES IN PLASMA

G. Žunić

*Institute for Medical Research,
Military Medical Academy, Belgrade*

Capillary electrophoresis (CE) is different from other forms of electrophoresis not only in that it is carried out within the confines of a narrow tube, but due to electroosmosis as main driving force, among the others influencing mobilities of the compounds in capillary. Thus CE enables separation of both large and small molecules and has many advantages such as determination of small quantities (10^{-18} mol) in small sample volumes (nL) within a short period of time. However, body fluids represent a complex matrix with high levels of proteins and salts that can modify the capillary surface influencing separating conditions, migration times and sensitivity of their

pri analizi malih molekula (joni, peptidi, aminokiseline, itd.) u fiziološkim tečnostima, prvenstveno zbog sličnosti njihove elektroforetske pokretljivosti, velikog broja različitih molekula i različitih nivoa njihovih fizioloških koncentracija. Zato rutinska primena KE u laboratorijama umnogome zavisi od rešenja ovih problema. Ovde su prikazane dve metode, razvijene u našoj laboratoriji za kvantifikaciju nekih malih molekula u plazmi pomoću slobodne zonske KE uz merenje direktne ili indirektnе apsorbancije. Koristeći alkalni boratni buffer velike jonske jačine u kapilari ($36.5\text{ cm} \times 75\text{ }\mu\text{m}$), pri potencijalu od 15 kV (inverzna polarnost), uz direktno merenje apsorbancije na 214 nm razdvajeni su nitrati i nitriti za manje od 10 minuta. Metoda je pogodna za precizno i tačno određivanje ovih anjona u plazmi i cerebrospinalnoj tečnosti bez prethodne deproteinizacije. Imajući u vidu da se nivo njihove koncentracije koristi kao pokazatelj stvaranja azot oksida, dobijena metoda je jednostavan i brz postupak za određivanje ovog multifunkcionalnog inter/intra ćelijskog medijatora. Nedavno smo razvili i 30-minutnu proceduru, koja se zasniva na optimizaciji KE i detektovanju indirektnе apsorbancije, za razdvajanje i kvantifikaciju 30 nederivatizovanih fizioloških aminokiselina i peptida, koji se obično nalaze u biološkim tečnostima. Elektroforeza se izvodi u kapilari ($87\text{ cm} \times 75\text{ }\mu\text{m}$) pri potencijalu od 15 kV (normalna polarnost) uz p-amino-salicilnu kiselinu (pH 10,2) kao elektrolit. Ovaj postupak je jedna od prvih metoda KE za kvantifikaciju velikog broja aminokiselina u biološkim tečnostima, koja se može porebiti sa jonoizmenjivačkim ili HPLC metodama, mada je manje precizna. U zaključku bi se moglo reći da će kontinuirano prevazilaženje problema vezanih za analizu bioloških tečnosti koristeći KE brzo omogućiti uvođenje ove nove tehnike u kliničke laboratorije.

detection during CE of the compounds in biofluids. There are particular problems in CE of small molecules (ions, peptides, amino acids, etc.) present in biofluids, due to similarities in their electrophoretic mobility, their great number and different physiological concentrations. Routine use of CE in laboratories depends mostly on resolving these problems. Here are presented two methods, developed in our laboratory for quantification of some small molecules in plasma employing free zone CE and direct or indirect absorbance detection. Employing alkaline borate buffer with high ionic strength in uncoated capillary ($36.5\text{ cm} \times 75\text{ }\mu\text{m}$) at 15 kV (inverse polarity), with on-column UV detection at 214 nm, nitrite and nitrate were separated within less than 10 minutes. The method is suitable for their precise and accurate quantifications both in plasma and cerebrospinal fluid without deproteinization. Considering their levels as commonly used index of nitric oxide production, obtained method represent simple and rapid procedure for the measurement of this multifunctional inter/intra cellular mediator. Also, recently we have developed 30 minute single-run procedure, based on the optimization of CE and indirect absorbance detection capabilities, for the separation and quantification of 30 underivatized amino acids and peptides, usually present in biological fluids. Electrophoresis was carried out in a capillary ($87\text{ cm} \times 75\text{ }\mu\text{m}$) at 15 kV potential (normal polarity) in running electrolyte (p-amino-salicylic acid, pH 10.2). Obtained method represent one of the first CE methods for free amino acids quantification in biofluids, comparable with ion-exchanged or HPLC procedure, although not as precise as they are. In conclusion, continuous overcoming problems associated with analysis of biofluid by CE will bring this new technique into clinical laboratories soon.

A20

ZNAČAJ PRIMENE SISTEMA KVALITETA I INFORMACIONOG SISTEMA U KLINIČKO-BIOHEMIJSKOJ LABORATORIJI INSTITUTA ZA KARDIOVASKULARNE BOLESTI – SREMSKA KAMENICA

V. Ristovski¹, G. Prtenjak²

¹Institut za kardiovaskularne bolesti,
Sremska Kamenica

²Institut za onkologiju, Sremska Kamenica

Institut za kardiovaskularne bolesti u Sremskoj Kamenici obuhvata Kliniku za kardiologiju i Kliniku za kardiovaskularnu hirurgiju. U okviru njih radi laboratorijska za biohemiju koja mora pružati visoko kvalitetne

A20

THE IMPORTANCE OF THE IMPLEMENTATION OF MANAGEMENT QUALITY SYSTEM AND INFORMATION SYSTEM IN THE CLINICAL-BIOCHEMICAL LABORATORY OF THE INSTITUTE OF CARDIOVASCULAR DISEASES – SREMSKA KAMENICA

V. Ristovski¹, G. Prtenjak²

¹Institute of Cardiovascular Diseases,
Sremska Kamenica

²Institute of Oncology, Sremska Kamenica

Institute of Cardiovascular Diseases in Sremska Kamenica include Department of Cardiology and Department of Cardiovascular Surgery. Institut include Clinical-biochemical laboratory that must provide a

usluge davanjem tačnih, preciznih i razumljivih podataka neophodnih pri lečenju kardiovaskularnih bolesnika. Potrebni testovi moraju odgovarati kliničkom problemu, analize moraju biti korektno i brzo izvedene uz ekonomsku opravdanost. Institut za kardiovaskularne bolesti u Sremskoj Kamenici u protekloj 2001. godini dobio je priznanje Biznis Partner što ga je obavezalo da i u ovoj 2002. godini održi visok nivo kvaliteta laboratorijskih usluga. Da bi to i ostvarilo, najvažnije je stalno sprovoditi unutrašnju i povremenu spoljašnju kontrolu kvaliteta. Ove kontrole moraju da obuhvate ne samo opremu već i stručnost tehničkog i analitičkog osoblja. Tehnike koje se veoma brzo menjaju i uvođenje novih testova zahtevaju kontinuiranu obuku i edukaciju tehničkog i laboratorijskog osoblja. Obrada kliničkih rezultata u laboratoriji mora biti zasnovana na dva bitna zahteva: implementaciji kvalitetne opreme pri organizovanju kliničke laboratorije i ponovno razmatranje zadatka i poslova kliničkog biohemičara. Uvođenje sistema kvaliteta u laboratoriji i laboratorijskog informacionog sistema predstavlja buduće izazove.

high quality service by producing accurate, precise, relevant and comprehensive data that can be applied to the medical of cardiovascular patients. The tests requested must be appropriate to the clinical problem, tests must be analytically correctly performed and economically justified. Institute of Cardiovascular Diseases in Sremska Kamenica got reward »Business Partner« last year. In the next period the task of the Institute will be to continue activities for high quality laboratory service. In order to maintain a high quality level, an internal and an external periodical review of the quality system will be essential. This review must cover the quality system, technical and analytical competence. The very rapid changing techniques and the introduction of new tests will require a continuous training and education of laboratory staff. Management of clinical outcome in medical laboratories must be based on two essential requirements: the implementation of a quality system in clinical laboratory and a reconsideration of the tasks of a clinical biochemist. The implementation of management Quality System in laboratory and Laboratory Information Management System is a challenge for the future.

A21

POREĐENJE FUNKCIONALNIH TESTOVA ZA ISPITIVANJE SISTEMA KOMPLEMENTA U KLINIČKOJ PRAKSI

*M. Mitrović¹, B. Rodić-Polić¹,
N. Majkić-Singh², G. Mitrović³*

¹*Institut za transfuziju krvi RS*
²*Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije*
³*Srbolek a.d.*

Sistem komplementa ima veliku ulogu u patogenezi određenih oboljenja. U većini slučajeva komplement nije uzrok već samo jedan od faktora koji učestvuju u njihovom nastanku. U ovom radu upoređivani su hemolitički i esterolitički testovi u dijagnostici urođenog i stičenog angioneurotskog edema, kao i hemolitički i ELISA testovi u proceni stepena aktivacije komplementa u praćenju toka bolesti. Određivane su koncentracije komponenti komplementa C3, C4, C1q, C1-inh, faktora B, kao i hemolitička aktivnost klasičnog i alternativnog puta aktivacije u uzorcima seruma i plazme pacijenata sa dijagnozom urođenog angioneurotskog edema i pacijenata kojima je transplantirana jetra. Hemolitički testovi analizirani su nefelometrijski (Behring Laser-Nephelometer) i spektrofotometrijski (Bio System photometer BTS 310). Dobijeni rezultati pokazuju da funkcionalni testovi, sposobnost C1-inh da inhibira spontanu

A21

THE COMPARISON OF FUNCTIONAL TESTS FOR EXAMINATION OF COMPLEMENT SYSTEMS IN CLINICAL PRACTICE

*M. Mitrović¹, B. Rodić-Polić¹,
N. Majkić-Singh², G. Mitrović³*

¹*Blood Transfusion Institute of Serbia*
²*Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Centre od Serbia*
³*Srbolek AD*

Complement system is very important in pathogenesis of certain diseases. At the most cases complement is not a cause, but just one of the factors which participate in their releasing. In this study hemolytical and esterolitical tests are compared in diagnosis of hereditary and acquired angioneurotic edema, as far as hemolytic and ELISA tests in estimation of complement level of activation in following disease course. The concentrations of complement components C3, C4, C1q, C1-inh, factor B have been determined, as far as hemolytical activity of classical and alternative way of activation in serum and plasma samples, in patients with diagnosis of hereditary angioneurotcal edema and patients who have transplanted liver. Hemolytic tests were analyzed by nephelometric method (Behring Laser-Nephelometer) and by spectrophotometric method (Bio System photometer BTS 310). These results show

aktivaciju komplementa, kao i njegova sposobnost inhibicije hidrolize sintetskog hromogenog supstrata, pouzdano detektuju poremećaje u funkcionalnosti C1-inh. Rezultati ovog rada pokazuju da samo određivanje koncentracija komponenti komplementa nije pouzdan i dovoljan parametar kada se ima u vidu funkcionalno stanje sistema komplementa. Preporučuje se upotreba funkcionalnih testova u dijagnostici deficijencije sistema komplementa, jer se njima dobijaju najpouzdaniji rezultati.

that functional tests, capability of C1-inh to inhibit spontaneous activation of the complement and its capability to inhibit hydrolyze of synthetic chromogen substrate, are very reliable in disturbance detection in C1-inh functionality. The results of this study show that determination of complement components concentrations is not reliable and sufficient parameter considering functional status of complement system. Functional tests are recommended in deficiency of complement system diagnostics because of their most reliable results.

A22

KAPACITET ELIMINACIJE GALAKTOZE U PROCENI FUNKCIONALNE HEPATIČNE MASE

M. Ilić¹, S. Stanković¹, P. Svorcan²,
B. Dapčević², B. Radević³,
D. Mecić², A. Poštić-Grujin¹,
N. Majkić-Singh¹

¹Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd

²Institut za gastroenterohepatologiju,
Kliničko bolnički centar Zvezdara, Beograd

³Institut za kardiovaskularne bolesti,
Dedinje, Beograd

Utvrđivanje funkcionalne hepatičke rezerve je još uvek kontroverzno. Hepatična funkcija može biti procenjena na osnovu supstanci koje se selektivno metabolišu u jetri. Kvantitativni testovi za procenu funkcionalnog stanja jetre dele se na testove eliminacije i testove zasnovane na detekciji određenog metabolita supstance koja se metaboliše u hepatocitima. Test eliminacije galaktoze generalno reprezentuje funkcionalnu hepatičnu masu (metabolički kapacitet), a eliminacija galaktoze iz krvi zavisi od fosforilacije galaktokinazom u hepatocitima. Ovaj test je dobar prognoistički indikator u nekim akutnim i hroničnim bolestima jetre. Galaktoza je određivana kod pacijenata sa operabilnim primarnim malignim tumorom jetre, benignim tumorom jetre (hemangiomom), cistično izmenjenom jetrom, kao i u grupi pacijenata sa sekundarnim depozitima (metastazama) na jetri koje se mogu operativno ukloniti. D-galaktoza je davana pacijentima *i.v.* u bolusu 0,5 g/kg telesne težine, a uzorci krvi uzimani su nakon 20, 25, 30, 35, 40 i 45 min. Koncentracija galaktoze određivana je komercijalnim testom firme Roche (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland). Dosadašnji rezultati pokazuju da je ovaj test pouzdan, reproducibilan i relativno lako izvodljiv, pa je stoga važan za rano prepoznavanje disfunkcije jetre, kao i za preoperativnu procenu funkcionalnog stanja jetre kod pacijenata sa indikacijama za resekciju jetre, a u smislu procene funkcionalnog stanja jetre.

A22

THE GALACTOSE ELIMINATION CAPACITY IN FUNCTIONAL HEPATIC MASS

M. Ilić¹, S. Stanković¹, P. Svorcan²,
B. Dapčević², B. Radević³,
D. Mecić², A. Poštić-Grujin¹,
N. Majkić-Singh¹

¹Institute of Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade

²Department of Gastroenterohepatology, Zvezdara
University Hospital, Belgrade

³Dedinje Institut of Cardiovascular Diseases,
Belgrade, Yugoslavia

Assessment of functional hepatic mass is still controversial. Hepatic function may be assessed on the basis of substances which are selectively metabolized in the liver. There are two types of quantitative tests for the assessment of the liver functional state: 1) elimination tests and 2) tests based on the detection of a certain substance metabolite, which is metabolized in hepatocytes. Generally, the test of galactose elimination represents functional hepatic mass (metabolic capacity) whereas galactose elimination from the blood depends on phosphorylation by galactokinase in hepatocytes. This test is a good prognostic indicator in some acute and chronic liver diseases. Galactose was determined in patients with operable primary malign liver tumor, benign liver tumor (hemangioma) cystically changed liver as well as in patients with secondary deposits (metastasis) on the liver, which can be surgically removed. Patients were administered with a single bolus dose of D-galactose (*i.v.* 0.5 g/kg. b.w.) and blood samples drawn after 20, 25, 30, 35 40 and 45 min. Galactose concentration was determined by commercial test (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland). The obtained results show that this test is reliable, reproducible and relatively easily performed. Thus, it represents an important parameter for the early recognition of the liver dysfunction as well as for pre-operative assessment of the liver functional state in patients with the indications for the liver resection.