

XXI srpski kongres medicinske
i laboratorijske medicine
sa međunarodnim učešćem

XXI Serbian Congress
of Medical Biochemistry
and Laboratory Medicine
with international participation

Plenarne sekcije/Plenary Sessions
Apstrakti/Abstracts

GDE SU SVI ONI? – FERMIJEV PARADOKS I VEŠTINA GUBLJENJA TALENATA

Vigor Majić

Direktor Istraživačke stanice Petnica

vigor@petnica.rs

Opšte je prihvaćeno mišljenje razvojnih psihologa da su osnovne intelektualne sposobnosti kod dece normalno (ujednačeno) distribuirane i da ne postoje geografski, etnički, polni ili drugi slični eksterni faktori koji omogućavaju da se u pojedinim ljudskim grupacijama kod novorođene dece pojavljuju značajnija odstupanja urođenih kognitivnih sposobnosti i srodnih intelektualnih predispozicija kasnijeg razvoja. Takođe, i među stručnjacima i među laicima rašireno je shvatanje da su istinski talentovani pojedinci, odnosno oni koji su se nedvosmisleno na svetskom nivou dokazali svojim rezultatima, veoma retki i da se njihova učestalost u populaciji meri delićima promila. Ipak, s vremena na vreme pojavljuju se anomalije gde su vidljivije one sa značajno povećanom frekvencijom talentovanih pojedinaca u ograničenoj i statičnoj populaciji. Kako je u savremenom društvu, naročito u oblastima nauke, tehnologije, dizajna, umetnosti, zabave, sporta i sl. izuzetno narasla potreba za što ranijim prepoznavanjem i adekvatnom obrazovnom podrškom talentovanim mladim ljudima, ovakve anomalije otvaraju mogućnost da su teorije o talentima kao o retkim pojavama pogrešne i da se problem nalazi u nesrazmernosti između relativno čestih potencijalnih talenata i dominantno neuspešnih mehanizama podrške optimalnom razvoju dece – u porodici, školi, univerzitetu.

Ključne reči: talenti, obrazovanje, studenti

WHERE ARE THEY? – FERMI PARADOX AND THE ART OF LOSING GIFTED STUDENTS

Vigor Majić

Director, Petnica Science Center

vigor@petnica.rs

In modern society, especially in professional science, technology, design or art the necessity to early recognize gifted people and support them to optimally develop their potentials is evident and sometimes escalated into a kind of a war (e.g. for best students). Without them there are no key scientific discoveries or technological breakthroughs, new hot products and sharp profits. There is a widespread opinion among developmental psychologists that basic intellectual abilities among children are normally/uniformly distributed and there are no external factors such as geographical, ethnical, racial, gender or similar which could influence important deviation of inborn cognitive abilities and similar intellectual predisposition of later development. Moreover, both among experts and common people, there is widespread belief that truly talented/gifted people (meaning persons who proved their talents through extraordinary globally recognized results) are very rare with extremely small frequency among total population of a part per 10,000 or up to a part per million. Hence, from time to time, we can witness strange positive anomalies (because they are more visible than negative) among limited and static population. Here, the author discuss the possibility that such anomalies are not statistical deviations at all, but a proof that highly gifted people are not rare, but the majority of them did not develop their basic qualities/abilities because of dominantly unsuccessful supportive mechanisms - in family, school, university...

Key words: giftedness, talent, education, students

UDK 577.1 : 61

ISSN 1452-8258

*J Med Biochem 37: 183–199, 2018**Plenarne sekcije
Plenary sessions***SPECIJALIZOVANE ANALIZE
LIPIDNOG I OKSIDATIVNO-
STRESNOG STATUSA:
MOGUĆNOSTI, IZAZOVI
I PERSPEKTIVE**

*Jelena Vekić, Jelena Kotur-Stevuljević,
Zorana Jelić-Ivanović, Aleksandra Zeljković,
Aleksandra Stefanović, Tamara Gojković,
Vesna Spasojević-Kalimanovska*

*Katedra za medicinsku biohemiju,
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet*

Aktuelne strategije za procenu rizika, prevenciju i praćenje efekata terapije kardiovaskularnih bolesti (KVB) baziraju se na analizi standardnih parametara lipidnog statusa u serumu. Ipak, ovi nalazi ne pružaju uvid u kvalitativne karakteristike samih lipoproteinskih čestica, niti mogu da ukažu na specifične poremećaje njihovih metaboličkih puteva. Razvoj ateroskleroze podrazumeva sadejstvo dislipidemije i oksidativnog stresa (OS). Sem toga, OS je ključni činilac koji utiče na stvaranje aterogenijih oblika LDL i disfunkcionalnih HDL čestica. U ovom radu će biti prikazan značajspecijalizovanih analiza lipidnog i oksidativno-stresnog statusa za procenu rizika za razvoj KVBu različitim populacijama pacijenata (gojazne i osobe sa metaboličkim sindromom, pacijenti sa dijabetesom tip 1 i 2, KVB, naslednim i stečenim dislipidemijama). Naša analiza je pokazala da gojazne osobe, pacijenti sa dijabetesom i KVB imaju izrazito povećan udeo malih, gustih LDL i HDL čestica u plazmi. U grupi pacijenata sa KVB utvrđen je i značajno izmenjen odnos markera sinteze i apsorpcije holesterola. Karakterističan nalaz malih, gustih LDL čestica utvrđen je u slučaju nasledne dislipidemije (Tangierova bolest), kao i u dislipidemijama koje se javljaju usled bubrežnih i inflamatornih bolesti. U svim ispitivanim populacijama pacijenata vrednosti markera OS su bile značajno više, a vrednosti parametara antioksidativne zaštite značajno niže, u odnosu na zdrave osobe. Sve grupe pacijenata su imale značajno sniženu aktivnost paraoksonaze-1, kao znak kompromitovanog antioksidativnog kapaciteta HDL čestica. Takođe, utvrdili smo da određene kategorije pacijenata imaju sniženu aktivnostlecitin: holesterol

**ADVANCED LIPID AND
OXIDATIVE-STRESS
STATUS TESTING:
OPPORTUNITIES, CHALLENGES
AND PERSPECTIVES**

*Jelena Vekić, Jelena Kotur-Stevuljević,
Zorana Jelić-Ivanović, Aleksandra Zeljković,
Aleksandra Stefanović, Tamara Gojković,
Vesna Spasojević-Kalimanovska*

*Department of Medical Biochemistry,
University of Belgrade – Faculty of Pharmacy*

Actual strategies for cardiovascular disease (CVD) risk assessment, prevention and therapeutic management are based on the analysis of standard lipid status parameters. However, these analyses can neither provide an insight into the qualitative characteristics of lipoprotein particles, nor indicate specific disorders of lipoprotein metabolism. Dyslipidemia and oxidative-stress (OS) act synergistically during the course of atherosclerosis. Also, OS is as a key factor responsible for the formation of more atherogenic forms of LDL and dysfunctional HDL particles. Here we present the importance of advanced lipid and OS status testing for the assessment of CVD risk in various populations of patients (obese and patients with metabolic syndrome, diabetes type 1 and 2, CVD, inherited and acquired dyslipidemias). The analysis showed that obese and patients with diabetes and CVD have markedly increased proportions of small, dense LDL and HDL particles in plasma. In addition, CVD patients had impaired ratios of cholesterol synthesis and absorption markers. A characteristic finding of increased small, dense LDL particles was also confirmed in the case of primary dyslipidemia (Tangier disease), as well as in dyslipidemias associated with renal and inflammatory diseases. In all investigated populations the levels of OS markers were significantly higher, while the parameters of anti-oxidative defence were lower, than in healthy subjects. All groups of patients had significantly reduced activity of paraoxonase-1, suggesting compromised anti-oxidative capacity of HDL particles. In certain categories of patients reduced activity of lecithin: cholesterol acyltransferase and/or elevated

aciltransferaze i/ilip ovišenu aktivnost holesterol-estar transfernog proteina, što ukazuje na poremećaj procesa reverznog transporta holesterola. Usvim ispitivanim grupama pacijenata potvrdili smo korelaciju između biomarkera OS i dislipidemije. Primenom specijalizovanih analiza lipidnog i oksidativno-stresnog statusamogu se identifikovati osobe sa visokim rizikom za razvoj KVBkod kojih je potrebno intenzivirati mere primarne prevencije, odnosno može se utvrditi rezidualni rizik kod pacijenata sa klinički potvrđenom aterosklerozom, koji treba korigovati dodatnim merama sekundarne prevencije. U svetlu novih dokaza, laboratorijsko praćenje terapije dislipidemije bi trebalo proširiti analizom markera sinteze i apsorpcije holesterola, što je posebno važno za otkrivanje pacijenata koji ne odgovaraju adekvatno na terapiju statinima. Pored toga, naše dosadašnje iskustvo ukazuje na značaj analize OS statusa za praćenje efekata antioksidativne suplementacije, što takođe treba posmatrati i kroz prizmu dugotrajne kardiovaskularne prevencije. Specijalizovane analize lipidnog i oksidativno-stresnog statusa koje se izvode u našoj laboratoriji moguće je implementirati u vidu specijalizovanih profila analizau druge kliničko-biohemijske laboratorije, što bi ih učinilo dostupnijim kliničarima i pacijentima.

PRIMENA SIX-SIGMA I EKONOMSKIH METODA U KLINIČKOJ LABORATORIJI

*Nataša Bogavac-Stanojević¹,
Vesna Vuković Dejanović², Jasmina Ilić³*

¹*Katedra za medicinsku bihemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija*

²*Institut za rehabilitaciju Beograd, biohemijsko-hematološka laboratorija, Beograd, Srbija*

³*Opšta bolnica »Sveti Luka«, Biohemijska laboratorija, Smederevo, Srbija*

Medicinske laboratorije imaju ključnu ulogu u postavljanju dijagnoze za brojne bolesti. Tačni rezultati testiranja su presudni za lekara, dok je evaluacija laboratorijskih karakteristika presudna za izdavanje tačnih rezultata. Laboratorijsko testiranje uključuju tri faze: pre-analitičku, analitičku i post-analitičku fazu. Greške koje se javljaju u svakoj fazi mogu negativno uticati na kliničku odluku. Zbog toga je važno analizirati i izračunati frekvenciju grešaka u svim fazama. U tu svrhu laboratorijski profesionalci mogu da koriste savremene alate za upravljanje kvalitetom, kao što je SixSigma. Sigma vrednost pokazuje koliko se često javljaju greške; što je veća vrednost sigma, manja je verovatnoća za pojavu greške odnosno lažnih re-

cholesterol-ester transfer protein were found, indicating disorders of the reverse cholesterol transport process. Biomarkers of dyslipidemia correlated with markers of OS in all examined groups. According to our experience, the results of advanced lipid and oxidative-stress status testing are able to identify individuals at higher risk for the development of CVD, who would benefit from more intensive primary prevention measures. Also, they can point out a residual risk in patients with clinically verified atherosclerosis and suggest the need of additional strategies in secondary prevention of CVD. In the light of new evidence, laboratory monitoring of dyslipidaemia treatment should be expanded by analysis of cholesterol synthesis and absorption markers. This is particularly important in order to recognise the patients who do not respond adequately to statins. In addition, our experience indicates the importance of OS status analysis in monitoring the effects of anti-oxidative supplementation, as a part of continuous cardiovascular prevention. Advanced lipid and oxidative-stress status analyses that are performed in our laboratory can be implemented as specialised profiles in other clinical-biochemical laboratories, making them more available to clinicians and patients.

APPLICATION OF SIX-SIGMA AND ECONOMY METHODS IN CLINICAL LABORATORY

*Nataša Bogavac-Stanojević¹,
Vesna Vuković Dejanović², Jasmina Ilić³*

¹*Department of Medical biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

²*Institute for Rehabilitation Belgrade, Biochemical-hematological laboratory, Belgrade, Serbia*

³*General Hospital »Sveti Luka«, Biochemical laboratory, Smederevo, Serbia*

Clinical laboratories have a critical role in the diagnosis of many diseases. From this point of view, accurate test results are crucial for physicians and the evaluation of laboratory performance is critical to maintaining accurate laboratory results. In medical laboratories, the total testing processes includes three phases: pre-analytical, analytical and post-analytical phases. Errors that occur in each phase may affect negatively on clinical decision. In this context, the total frequency of errors in all phases should be calculated. For this purpose, laboratory professionals can use modern quality-management tools such as Six Sigma. The sigma value indicates how often errors are likely to occur; the higher the sigma value,

zultata testa. Metoda sa niskim sigma vrednostima laboratoriju košta mnogo zbog izgubljenog vremena, truda i novca kako bi se održao kvalitet izdatih rezultata. Obično proizvođači ili dobavljači tvrde da njihovi testovi imaju odličan kvalitet. Međutim, jasni kriterijumi koji dokazuju ove tvrdnje nisu definisani. Laboratorijski profesionalci mogu da koriste sigma metriku koja podrazumeva jednostavna i minimalna izračunavanja. Sve što je neophodno za procenu kvaliteta analitičke faze jeste izračunavanje nepreciznosti i netačnosti metode. Svi ovi podaci su dostupni u rezultatima validacije metoda. Testovi sa malom cenom ali i malim kvalitetom (mala sigma vrednost) mogu uzrokovati pogrešnu dijagnozu, terapiju i posledično skupo dodatno ispitivanje. S druge strane, skupi laboratorijski testovi, ali sa visokim kvalitetom (velika sigma vrednost), mogu dovesti do ušteda ukoliko se spreči odlaganje terapije i naknadne skupe dijagnostičke procedure. Sprovedenje analize troškovne efikasnosti omogućava laboratorijskim profesionalcima da izaberu najkvalitetnije laboratorijske testove sa najmanjim troškovima. Uvođenje sigma metrike zajedno sa obračunom troškova u medicinskim laboratorijama je poželjno i isplativo.

the less likely error or false test results can be occur. A method with low sigma levels would cost a laboratory a lot of time, effort, and money to maintain the quality of test results. Usually, manufacturers or suppliers assert that their tests have excellent quality but the clear criteria that prove this information are not defined. Laboratory professionals can use sigma metric that involves simple and minimal calculations. All that is necessary for analytical phase's quality assessment is to calculate the method's imprecision and bias levels. All of these data are available in method validation studies. Test with low quality (low sigma value) and low associated costs, can lead to wrong diagnosis and therapy along with expensive follow-up testing. On the other hand, an apparently expensive test but with high quality (high sigma value) might turn out to be cost-saving if it averts delay of therapy and in future costly diagnostic procedures. Implementation of cost effectiveness analysis enables laboratory professionals to choose laboratory tests with best quality and lowest associate costs. The introduction of sigma metric together with cost calculation in the clinical laboratories would be convenient and cost-effective.

KVANTITATIVNI PCR – BUDUĆNOST ILI SADAŠNOST LABORATORIJSKE MEDICINE?

Miron Sopić

*Katedra za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu*

Kvantitativna PCR (qPCR) metoda predstavlja lančanu reakcije polimerizacije u kojoj se vrši umnožavanje željene sekvence DNK uz istovremeno praćenje količine nastalog produkta. Metoda se zasniva na merenju fluorescencije koja može poticati od interkalirajućih boja ili specifično dizajniranih oligonukleotidnih sekvenci (probe). Upotrebom qPCR metode moguće je detektovati vrlo male promene u sekvenci DNK kao što su tačkaste mutacije ili polimorfizmi. Svetski trendovi u medicini ukazuju na potrebu personalizovanog pristupa lečenju pacijenta, a detekcija suptilnih promena u sekvenci određenih gena može uticati na izbor terapije i/ili doze kod pojedinih pacijenata. Takona primer, ukoliko se kod pacijenata sa nesitnoćelijskim karcinomom pluća utvrdi prisustvo mutiranih oblika EGFR u terapiju se uvode inhibitori tirozinkinaze. Takođe, kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom smanjen odgovor na terapiju cetuksimabom i panitumumabom direktno je uslovljena postojanjem mutacije na KRAS genu. U cilju postizanja optimalnog terapijskog efekta tamoksifena, klopidogrela i varafinadanas se preporučuje genotipizacija CYP2D6, CYP2C19 vitamin K epoksi-

QUANTITATIVE PCR – FUTURE OR PRESENT OF LABORATORY MEDICINE?

Miron Sopić

*Department of Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Belgrade*

Quantitative PCR (qPCR) is polymerase chain reaction based method in which amplification process is monitored in real time utilizing fluorescent signal that is generated by either intercalating colors or specifically synthesized oligonucleotide sequences (probes). QPCR allows detection of small changes in DNA sequence such as point mutations and single nucleotide polymorphisms. Modern medicine underlines the importance of personalized approach to patients' treatment, and the detection of these subtle changes in specific genes can have a tremendous impact on the way the patients are being treated regarding choice of drugs or dosage regime. Thus, patients with non-small-cell lung carcinoma are currently being tested for mutations in epidermal growth factor receptor. If mutations are present patient is a good candidate for tyrosine-kinase inhibitor therapy. Also, in patients with colorectal carcinoma response to the therapy with cetuximab and panitumumab can be diminished if mutations in KRAS gene are present. Nowadays, in order to achieve optimum therapeutic effects of tamoxifen, clopidogrel or warfarin it is recommended to determine patients' genotype for

dereduktaznog kompleksa 1 (VKORC1), redom. Takođe, qPCR metoda u kombinaciji sa reakcijom reverzne transkripcije može se koristiti za kvantifikaciju RNK zbog čega se smatra korisnim alatom u dijagnostici određenih malignih i virusnih infektivnih oboljenja. Tako se kod pacijenata sa hroničnom mijeloidnom leukemijom ističe važnost rane detekcije i kvantifikacije BCR-ABL fuzionog transkripta kako bi se izbegla progresija bolesti i/ili relaps. Kontinuiran napredak tehnologije u ovoj oblasti svakako će doprineti široj primeni qPCR metode u kliničkoj praksi. Međutim, treba imati u vidu da konačan izazov u široj kliničkoj primeni qPCR metode predstavlja validacija radnih protokola, kontrola njihovog kvaliteta kao i adekvatna standardizacija. Prevažavanje tog izazova bi trebalo da postane imperativ svih novih istraživanja u ovoj oblasti.

NOVI BIOMARKERI INFLAMATORNIH BOLESTI PLUĆA

*Jasmina Ivanišević¹, Jelena Kotur-Stevuljević¹,
Aleksandra Stefanović¹, Zorana Jelić-Ivanović¹,
Violeta Vučinić-Mihailović²*

¹Katedra za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu

²Klinika za plućne bolesti,
Klinički Centar Srbije

Inflamatorne bolesti pluća kao što su opstruktivne bolesti vazdušnih puteva (astma, hronična opstruktivna bolest pluća (HOBP) i dr.) i intersticijske bolesti plućnog parenhima (sarkoidoza, idiopatska plućna fibroza (IPF) i dr.) mogu da dovedu do znatnog pogoršanja plućne funkcije. Danas se naglašava značaj određenih parametara među kojima su faktor rasta i diferencijacije – 15 (GDF-15), serumski amiloid A (SAA); hitotriozidaza (CHIT1) i YKL-40; periostin; p-kumaroilagmatini palmitoilkarnitin; i mikro RNK (miRNK) u dijagnozi i praćenju ovih bolesti. Rezultati pokazuju da GDF-15, bitan činilac u regulaciji inflamatornih i apoptotskih procesa i inicijaciji fibroze, je značajno povećan kod pacijenata sa HOBP kao i u akutnoj egzacerbaciji i da je nezavisni prediktor akutne egzacerbacije i neželjenih ishoda u HOBP. Rezultati dobijeni za SAA ukazuju da je on značajno povišen u sarkoidozi, ima ključnu ulogu u regulaciji granulomatozne inflamacije i nezavistan uticaj na smanjenje aktivnosti oksidantnih enzima. Pokazano je da su CHIT1 i YKL-40, enzimi koji učestvuju u tkivnom remodelovanju, značajno povećani u sarkoidozi, astmi, HOBP i IPF, da CHIT1 poseduje značajnu dijagnostičku osetljivost i specifičnost i da korelira sa kliničkim simptomima bolesti, radiografskim stadijumom i plućnom funkcijom, dok YKL-40 ima zna-

CYP2D6, CYP2C19 or VKORC1, respectively. On the other hand, qPCR can be combined with reverse transcription and used to quantify RNA, thus it can be very useful diagnostic tool for different malignant or viral infection diseases. For example, in patients with chronic myeloid leukemia early detection and quantification of BCR-ABL fusion transcript is crucial in order to prevent progression of the disease and/or relapse. Continues progress of the technology is resulting in stream of novel application of qPCR in clinical practice. However, it should be kept in mind that the ultimate challenge in qPCR wider utilization in everyday clinical practice lays within validation of workflows, their proper quality assessment and standardization. Overcoming this challenge should be an imperative for all new studies in this field of research.

NEW BIOMARKERS IN INFLAMMATORY LUNG DISEASES

*Jasmina Ivanišević¹, Jelena Kotur-Stevuljević¹,
Aleksandra Stefanović¹, Zorana Jelić-Ivanović¹,
Violeta Vučinić-Mihailović²*

¹Department of Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Belgrade

²Clinic for pulmonary diseases,
Clinical Centre of Serbia

Inflammatory lung diseases such as obstructive airways diseases (asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) etc.) and interstitial lung diseases (sarcoidosis, idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) etc.) may lead to significant impairment of pulmonary function. The importance of certain parameters among which growth and differentiation factor – 15 (GDF-15), serum amyloid A (SAA); chitotriosidase (CHIT1) and YKL-40; periostin; p-cumaroylagmatine and palmitoylcarnitine; and microRNA (miRNA) has been emphasized nowadays in diagnosis and monitoring of these diseases. Results showed that GDF-15, important factor in regulation of inflammatory and apoptotic processes and initiation of fibrosis, was significantly increased in COPD patients, in acute exacerbation of disease and predicted independently acute exacerbation and adverse outcomes in COPD. SAA was significantly elevated in sarcoidosis with key role in regulation of granulomatous inflammation and associated independently with decrease in antioxidant enzymes activity. Studies showed that CHIT1 and YKL-40, enzymes that participate in tissue remodeling, were increased in sarcoidosis, asthma, COPD and IPF; CHIT1 had significant diagnostic sensitivity and specificity and correlated with clinical symptoms of diseases, radi-

čajnu dijagnostičku osetljivost. Periostin, molekul koji povezuje proces remodelovanja vazdušnih puteva i inflamaciju posredovanu Th2 limfocitima i eozinofilima, je značajan biomarker astme jer je povećan u bolesti, povezan je sa debljinom bazalne membrane vazdušnih puteva, plućnom funkcijom i brojem eozinofila. P-kumaroilagmatin i palmitoilkarnitin imaju značajan potencijal u predviđanju fenotipa sarkoidoze jer učestvuju u fibroznom procesu. Različita ekspresija miRNK, molekula koji regulišu imunski odgovor i inflamaciju, je uočena kod pacijenata sa astmom, HOBP i zdravih osoba. Svi navedeni biomarkeri se karakterišu značajnim potencijalom za dijagnostiku i praćenje inflamatornih bolesti pluća, ali je potrebno još podataka da se utvrdi referentni opseg i cut-off vrednosti koje imaju kliničko-dijagnostički značaj.

ographic stage and pulmonary function whereas YKL-40 had significant diagnostic sensitivity. Periostin linking airway remodeling and Th2/eosinophilic inflammation, is important biomarker in asthma because of its increased levels in disease, relation to airway basement membrane thickness, pulmonary function, eosinophils count. P-cumaroylagmatine i palmitoylcarnitine had significant potential as predictors of sarcoidosis phenotypes because of their involvement in fibrosis. Different expression of miRNAs that regulate immune response and inflammation, was observed in patients with asthma, COPD and healthy subjects. All mentioned parameters are characterized by significant potential for diagnosis and monitoring of inflammatory lung diseases, but additional data are needed to establish reference values and cut-off points.

KVALITATIVNE KARAKTERISTIKE LIPOPROTEINA VISOKE GUSTINE KOD DECE SA HRONIČNIM BUBREZNIM BOLESTIMA

*Danijela Ristovski-Kornic²,
Aleksandra Stefanović¹, Jelena Kotur-Stevuljević¹, Vesna Spasojević-Kalimanovska¹,
Jelena Vekić¹, Milica Miljković¹,
Dušan Paripović³, Amira Peco-Antić^{3,4},
Zorana Jelić-Ivanović¹, Aleksandra Zeljković¹*

¹Institut za medicinsku biohemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

²Dom zdravlja, Pančevo

³Institut za nefrologiju, Univerzitetska dečija bolnica, Beograd, Srbija

⁴Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Hronične bolesti bubrega (HBB) su povezane sa povećanim rizikom za razvoj kardiovaskularnih oboljenja (KVB). HBB su praćene značajnim poremećajima u metabolizmu lipida, koje se ogledaju u promena kvalitativnih karakteristika lipoproteina visoke gustine (HDL). Cilj ove studije je bio ispitivanje raspodele lipoproteinskih čestica visoke gustine, kao i oksidativno-stresnog statusa kod dece sa HBB. U studiji je učestvovalo 19 dece u različitim stadijumima HBB i 19 dece nakon transplantacije bubrega. 40 zdrave dece, uparene po starosti i polu sa pacijentima je predstavljalo kontrolnu grupu ispitanika. Razdvajanje subfrakcija lipoproteinskih čestica je vršeno vertikalnom gradijent gel elektroforezom. Parametri oksidativnog stesa i antioksidativne zaštite su određeni spektrofotometrijski. Rezultati ovog istraživanja su ukazali na promene raspodele HDL čestica kod HBB pacijenata, uočena je veća učestalost malih HDL čestica koje su

QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF HIGH DENSITY LIPOPROTEINS IN CHILDREN WITH CHRONIC RENAL DISEASE

*Danijela Ristovski-Kornic²,
Aleksandra Stefanović¹, Jelena Kotur-Stevuljević¹, Vesna Spasojević-Kalimanovska¹,
Jelena Vekić¹, Milica Miljković¹,
Dušan Paripović³, Amira Peco-Antić^{3,4},
Zorana Jelić-Ivanović¹, Aleksandra Zeljković¹*

¹Department of Medical Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

²Health Center Pancevo

³Department of Nephrology, University Children's Hospital, Belgrade, Serbia

⁴Medical Faculty, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

Chronic kidney disease (CKD) is associated with increased risk for cardiovascular disease development. CKD is characterized by significant disturbances in lipoprotein metabolism, including alterations of high density lipoprotein particles (HDL). In pathology of CKD, increased inflammation and oxidative stress, HDL can progressively lose normal biological activities and be converted into dysfunctional HDL. The aim of this study was to assess oxidative stress status, lipoprotein subclasses distribution and functionality of HDL particles in children with chronic renal disease and children after renal transplantation. Our study group includes 19 children with different stage of CKD and 19 post-transplantation patients (PT). 40 healthy children were included in this study matched by age and by sex with patients. Separation of lipoprotein subclasses was performed by vertical gradient gel electrophoresis. Oxidative status param-

kod ovih pacijenata disfunkcionalne. Rezultati naših istraživanja ukazuju da su pacijenti sa HBB više izloženi oksidativnom stresu u odnosu na zdravu decu. Naši rezultati nisu pokazali statistički značajnu razliku u parametrima oksidativnog stresa između pacijenata sa HBB i PT pacijenata. Rezultati naše studije ukazuju na promenjenu distribuciju HDL čestica kod dece sa HBB, koja se poboljšava nakon transplantacije bubrega. Takođe, prema rezultatima ove studije, možemo preporučiti specifične parametre oksidativnog stresa kao relevantne markere funkcionalnosti HDL čestica.

eters were measured spectrophotometrically. We demonstrated increased prevalence of smaller HDL particles, which are in CKD and PT individuals most likely dysfunctional. Our results showed that renal disease patients were in a state of stronger oxidative stress compared with healthy children. We failed to find some statistically significant differences in parameters of oxidative stress status between CKD patients and PT patients. Results of this study demonstrated that children with CKD have impaired HDL distribution that is improved after kidney transplantation. Also, according with results of this study, we recommended specific oxidative stress parameters as a relevant markers of HDL functionality.

NEREGULARNE (INDIVIDUALNE) ANALITIČKE GREŠKE – NOVI KONCEPT U UPRAVLJANJU KVALITETOM U MEDICINSKIM LABORATORIJAMA

Svetlana Ignjatović

*Katedra za medicinsku biohemiju,
Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet i
Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija*

Bez obzira na činjenicu da su rezultati određivanja u medicinskim laboratorijama unutar zadatih granica prihvatanja unutrašnje kontrole kvaliteta ili spoljašnje procene kvaliteta rada, različiti problemi koji se odnose na samo analitičko određivanje mogu da dovedu do nekorektnih i pogrešnih rezultata. Ovi analitički problemi se odnose na individualne uzorke u kontrolisanom procesu i mogu da budu prisutni u toku pripreme i analiziranja uzorka, kao i u toku interpretacije rezultata, u imunoodređivanjima, odnosno određivanjima zasnovanim na vezivanju liganda, masenoj spektrometriji, tačnoj hromatografiji, elektroforezi, spektrofotometrijskim i enzimskim određivanjima. Polazeći od ovih činjenica u vokabilar menad mentom kvalitetom sugerise se uvođenje novog termina pod nazivom neregularna (individualna) analitička greška koji se definiše za pojedinačni uzorak kao netačnost (odstupanje od rezultata referentnog mernog postupka) rezultata testa koja je toliko visoka da ne može se da se objasni nesigurnošću merenja korišćenog rutinskog testa koji se koristi u okviru prihvaćenih granica odgovarajućih procesa sprovođenja kontrole kvaliteta rada. Neregularne analitička greške nastaju najčešće u imunoodređivanjima tako što uzrokuju unakrsne reakcije koje potiču od antireagens antitela (heterofilna antitela), antianalit antitela (na primer kod određivanja tiroidnih hormona ili tireoglobulina,

IRREGULAR (INDIVIDUAL) ANALYTICAL ERRORS – A NEW CONCEPT IN QUALITY MANAGEMENT IN MEDICAL LABORATORIES

Svetlana Ignjatović

*Department of Medical Biochemistry,
University of Belgrade, Faculty of Pharmacy and
Center for Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia*

Regardless of the fact that the results in medical laboratories within the given limits of acceptance of internal quality control or external quality assessment, various problems related to analytical processes can lead to incorrect and erroneous results. These analytical problems relate to individual samples in the controlled process and may be present during the preparation and analysis of the sample, as well as in the interpretation of results, in immunoassays or determinations based on ligand binding, mass spectrometry, liquid chromatography, electrophoresis, spectrophotometric and enzymatic determinations. Starting from these facts in vocabulary quality management, it is suggested to introduce a new term called the irregular (individual) analytical error that is defined for an individual sample as »an inaccuracy (which is the deviation from a reference measurement procedure result) of a test result that is so high it cannot be explained by measurement uncertainty of the utilized routine assay operating within the accepted limits of the appropriate processes quality control measurements.« Irregular analytical errors occur most frequently in immunoassays by causing cross-reactions that arise from anti-reagent antibodies (heterophilic antibodies), anti-analyte antibodies (for example in thyroid hormones or thyroglobulin assays, as well as due to the formation of analyte polymers in the case of macroprolactin). They may

kao i zbog formiranja polimera analita u slučaju makroprolaktina), mogu da potiču od jedinjenja koja nisu navedena od strane proizvođača, ili zbog interferencija u generisanju signala (npr. anti-rutenijumska antitela), visokih nivoa jedinjenja (npr. biotin kod imunoodređivanja koja koriste streptavidin/biotin), interferencije koje potiču od matriksa proteina (npr. zbog imunokompleksa ili reumatoidnih faktora, itd. Neregularne greške mogu da budu takve da se ponavljaju (npr. u slučaju antireagens antitela) ili da se javljaju sporadično (npr. greške zbog netačne zapremine pipetiranja zbog mehurića vazduha u uzorku).

also come from compounds that are not listed by the manufacturer, or from interferences of signal-generation (e.g. anti-ruthenium antibodies in electrochemiluminescence assays), or from high levels of biotin (Interference in the binding of the capture antibody to the solid phase in all streptavidin/biotin binding based immunoassays), or from matrix protein interferences (e.g. occupation of antibody binding sites by immune complexes, rheumatoid factors, para-proteins etc.). Irregular errors may be such as to repeat (e.g. in the case of anti-regens antibodies) or occur sporadically (e.g., errors due to inaccurate volume of pipetting due to air bubbles in the sample).

PRIMERI KLINIČKIH VINJETA U ENDOKRINOLOGIJI VEZANIH ZA NEREGULARNE ANALITIČKE GREŠKE

Miloš Žarković

*Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
Klinika za endokrinologiju, dijabetes i
bolesti metabolizma, KC Srbije, Beograd*

Neregularne analitičke greške su relativno česta pojava u kliničkoj praksi i zahtevaju odličnu saradnju lekara i biohemičara da bi se problem razumeo i rešio. Ukoliko kliničar ne posumnja na mogućnost neregularne analitičke greške, biće zaveden rezultati- ma i može da postavi pogrešnu dijagnozu. Sa druge strane, biohemičar, najčešće, ne može da detektuje problem bez informacije od kliničara. U ovom izla- ganju biće prokazani pacijenti kod kojih početne analize nisu odgovarale kliničkoj slici. Dodatna labo- ratorijska ispitivanja pokazala su postojanje neregul- larnih analitičkih grešaka, i omogućila postavljanje ispravnih dijagnoza.

EXAMPLES OF CLINICAL VIGNETTES IN ENDOCRINOLOGY RELATED TO IRREGULAR ANALYTICAL ERRORS

Miloš Žarković

*Faculty of Medicine, University of Belgrade
Clinic of Endocrinology, Diabetes and Diseases of
Metabolism, Clinical Centre of Serbia, Belgrade*

Irregular analytical errors are a relatively com- mon finding in clinical practices and require good collaboration of physicians and biochemists to under- stand and resolve the problem. If a clinician does not suspect the possibility of an irregular analytical error, he will be misled by the results and may make the wrong diagnosis. On the other hand, a biochemist, most often, cannot detect a problem without infor- mation from a clinician. In this presentation, patients in whom the initial analysis did not correspond to the clinical picture will be presented. Additional laborato- ry tests showed the existence of irregular analytical errors, and made possible to determine the correct diagnoses.

INTERFERENCIJE BIOTINA KAO UZROK INDIVIDUALNIH ANALITIČKIH GREŠAKA

Vera Lukić

*Odeljenje za laboratorijska ispitivanja,
Zavod za zdravstvenu zaštitu radnika
»Železnice Srbije«, Beograd, Srbija*

Biotin (vitamin B7, vitamin H) je kofaktor u brojnim reakcijama karboksilacije u ljudskom organizmu. Iako je deficijencija biotina retko stanje, suplementacija ovim vitaminom danas je česta pojava u sklopu raznih preparata koji se savetuju za poboljšanje zdravlja kože, kose i noktiju, mada se visoke doze preporučuju i kod multiple skleroze. Uneti biotin može uzrokovati interferencije u imunohemijskim testovima, što predstavlja ozbiljan problem ukoliko je pacijentima koji su na suplementaciji biotinom potrebno laboratorijsko određivanje npr. hormona, tumorskih markera, kardijalnih markera. Ukoliko se ti analiti određuju imunometrijskim testovima koji se zasnivaju na streptavidin-biotin kompleksu, interferencija biotina iz krvi pacijenta može dati netačne rezultate koji vode postavljanju pogrešne dijagnoze i ordiniranju neadekvatne terapije. U literaturi je poslednjih godina objavljeno više slučajeva postavljanja netačne dijagnoze hipertiroidizma uslovljenog ovom interferencijom, ali i hipoparatiroidizma. Opisan je i jedan slučaj sa letalnim ishodom, jer je usled interferencije biotina izmerena lažno niska koncentracija troponina. Uzimajući u obzir rastući broj prijava neželjenih događaja povezanih sa interferiranjem biotina u imunohemijskim testovima, Američka agencija za hranu i lekove (FDA) je u novembru 2017. Izdala upozorenje u vezi sa ovim problemom. S obzirom na moguće dramatične posledice, neophodno je da biohemičari imaju na umu da biotin treba smatrati važnim potencijalnim uzrokom individualnih analitičkih grešaka, kao i da znaju koji imunohemijski testovi su vulnerabilni na ovu vrstu interferencije. U komunikaciji sa ordinirajućim lekarima treba podsticati prijavljivanje laboratoriji svakog slučaja neslaganja između rezultata imunohemijskih testova i kliničke slike pacijenta, kako bi svaka individualna analitička greška bila pravovremeno otkrivena.

Ključne reči: biotin, interferencija, individualna analitička greška

BIOTIN INTERFERENCES AS THE CAUSE OF INDIVIDUAL ANALYTICAL ERRORS

Vera Lukić

*Laboratory Department,
Railway Health Care Institute,
Belgrade, Serbia*

Biotin (vitamin B7, vitamin H) is cofactor in many carboxylation reactions in humans. Although biotin deficiency is relatively rare condition, supplementation with this vitamin is common in general population because it is often found in different over-the-counter products labeled as beneficial for skin, hair and nails. High doses are also recommended in multiple sclerosis. Ingested biotin can cause immunoassay interference, making potentially serious problems if patients on biotin supplementation need laboratory measurement of hormones, tumor markers, and cardiac markers. If these analytes are measured by immunoassays employing streptavidin-biotin complex, interference from ingested biotin may cause erroneous test results which can further lead to misdiagnosis and inadequate therapy. Literature data from last few years describe cases of false diagnosis of hyperthyroidism or hypoparathyroidism caused by this interference. Also, there is one report of death-oucomewhen biotin interference caused falsely low troponin concentration. Considering increasing number of reported adverse events related to biotin interferences with laboratory tests, US Food and drug administration (FDA) announced warning on this issue in November 2017. Because of possible serious consequences, it is necessary that biochemists are aware that biotin is important potential cause of individual analytical errors and also to know which tests are vulnerable to this influence. Through communication with clinicians we should encourage reporting to laboratory each case of discrepancy between laboratory results and patient's clinical status, so that individual analytical errors can be promptly detected.

Key words: biotin, interference, individual analytical error

ANTITELA KAO UZROK INDIVIDUALNIH ANALITIČKIH GREŠAKA U IMUNODREĐIVANJIMA

Nada Milinković^{1,2}, Svetlana Ignjatović^{1,2}

¹Katedra za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet,
Univerzitet u Beogradu, Srbija

²Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Srbija

Visoka analitička specifičnost i osetljivost su karakteristike zbog kojih su imunodređivanja (IO) metode izbora za određivanje kompleksnih heterogenih molekula u rutinskim medicinskim laboratorijama. Međutim, osetljiva reakcija antigen-antitelo u kompleksnom biološkom matriksu, koja je u osnovi IO, može biti uzrok različitih interferencija ili analitičkih grešaka. Individualnu analitičku grešku karakteriše efekat supstance prisutne u pojedinačnom analiziranom uzorku koji za posledicu može imati izmenjenu merenu koncentraciju analita ili izmenjeno vezivanje antigen-antitelo. U ovom radu su detaljno analizirane različite vrste antitela koja mogu biti uzrok individualnih analitičkih grešaka u IO. U tom smislu su objašnjeni efekti koji su posledica interferencije svakog od pojedinačnih tipova antitela. Takođe, predloženi su protokoli koji mogu pomoći da se, u rutinskim medicinskim laboratorijama, individualne analitičke greške koje potiču od antitela, adekvatno procene (otkriju ili umanje). Individualna analitička greška u IO koja potiče od antitela je zavisna od analita i odnosi se na interakciju između sastojaka uzorka sa jednim ili više antitelom reagensa. Ovo podrazumeva ukrštenu reakciju antitela sa jedinjenjima koja su hemijski različita, ali strukturno slična kao i sama antitela (heterofilna antitela, humana anti-animalna antitela, autoanalit antitela, reumatoidni faktori i drugi proteini koji su karakteristični za pojedinca). Ove endogene substancemogu postojati u uzorcima zdravih osoba i bolesnika, a interferencija zavisi od karakteristika samog uzorka i jedinstvena je za pacijenta. Interferencije koje potiču od egzogenih faktora i mogu da budu uzrok slučajnih ili sistemskih analitičkih grešaka, mogu obično da se otkriju i preduprede upotrebom unutrašnje kontrole kvaliteta ili retrospektivno analizom rezultata spoljašnje kontrole kvaliteta. Suprotno od toga, endogene interferencije su skoro uvek sporadične i zavisne od samog uzorka, pa ih je i teže otkriti. Ukoliko ostanu neotkrivene, mogu dovesti do pogrešne interpretacije rezultata usled lažno pozitivne ili lažno negativne koncentracije analita ili izmenjene antigen-antitelo reakcije. Rutinske medicinske laboratorije treba pravovremeno da detektuju, analiziraju i prikažu odgovarajući izveštaj o individualnim analitičkim greškama u IO, koje su posledica endogenih antitela, kako bi smanjile dodatna klinička i laboratorijska ispitivanja ili sprečile

ANTIBODIES AS THE CAUSE OF INDIVIDUAL ANALYTICAL ERRORS IN IMMUNOASSAY

Nada Milinković^{1,2}, Svetlana Ignjatović^{1,2}

¹Department of Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy,
University of Belgrade, Serbia

²Center for medical biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia

Immunoassay (IA) is the method of choice for the determination of complex heterogeneous molecules in routine medical laboratories, due to high analytical specificity and sensitivity. However, the sensitive antigen-antibody reaction in the complex biological matrix, which is basically IA, can be the cause of the various interferences or analytical errors. An individual analytical error is characterized by the effect of a substance present in a single analyzed sample, which may result in a change in the measured concentration of an analyte or an altered binding of the antigen-antibody. In this paper, we analyzed in detail various types of antibodies, which can be the cause of individual analytical errors in IA. In this respect, we explained the resulting effects from the interference of each of the individual types of antibodies. Also, we proposed the protocols for routine medical laboratories, which could help adequate assessment (detect or reduce) for an individual antibody-related analytical error. An antibody-related individual analytical error in the IA is dependent on the analyte and refers to the interaction between the sample components with one or more reagent antibodies. This implies a cross-reactivity of antibody reaction with compounds that are chemically distinct but structurally similar to the antibodies themselves (heterophilic antibodies, human anti-animal antibodies, autoanalytic antibodies, rheumatoid factors, and other proteins that are characteristic for the individual). These endogenous substances can exist in samples of healthy persons and patients, and interference depends on the characteristics of the sample itself and is unique to the patient. Interferences that arise from exogenous factors and may be the cause of random or systemic analytical errors can usually be detected and prevented by the use of internal quality control or a retrospective analysis of the results of external quality control. Contrary, endogenous interferences are almost always sporadic and dependent on the sample itself, and are more difficult to detect. If they remain undetected, they can lead to misinterpretation of results due to false positive or false negative concentration of the analyte or altered antigen-antibody reaction. Routine medical laboratories should promptly detect, analyze, and present an appropriate report of antibody-related individual analytical errors in IA, in order to reduce additional clinical and labo-

ozbiljne kliničke posledice po pacijenta. Važna je komunikacija laboratorijskog osoblja i lekara u vezi kliničke sumnje o neslaganju između kliničkih i laboratorijskih podataka, čime se podiže svesnost o pogrešnom rezultatu pacijenta zbog interferencije antitela kao uzroka individualne analitičke greške u IO.

SEKVENCIRANJE NOVE GENERACIJE KAO OSNOVA ZA PERSONALIZOVANU MEDICINU

Sonja Pavlović

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu, Beograd

Personalizovana medicina, poznata kao genom-ska medicina ili egzaktna medicina, koristi informacije o interindividualnim razlikama u genima i proteinima, kako bi se obezbedio individualizovan pristup u dijagnostici, prevenciji i lečenju svakog pacijenta. Personalizovanu medicinu čini nekoliko stožera: dijagnostika na osnovu profila »omika« (genomika, epigenomika, transkriptomika, proteomika, mikrobiomika, metabolomika), molekularna, genska i ćelijska terapija, farmakogenomika, kao i prediktivna genetika, koja će dovesti do uspešnije implementacije preventivne medicine u medicinsku praksu. Napredak tehnologija na mnogim poljima, od genomike do bioinformatike, je otvorio širom vrata personalizovanoj medicini. Posebno su značajne metode za sveobuhvatnu analizu celog genoma i transkriptoma, koje obuhvataju sekvenciranje nove generacije (NGS). NGS se može koristiti za čitanje celog genoma (kompletne sekvence DNK pacijenta) ili samo egzona (kodirajuće sekvence DNK), a dizajnirani su i paneli za ciljano sekvenciranje određenih gena koji omogućavaju otkrivanje genetičkih varijacija karakterističnih za određene bolesti ili procese značajne za patogenezu bolesti. NGS omogućava i kompletnu analizu ekspresije gena, detekciju nekodirajućih, mikro RNK, kao i otkrivanje obrazaca metilacije DNK, pa je tako NGS doneo veliki napredak u praćenju epigenomskih promena tokom bolesti. Novom tehnologijom sekvenciranja se dolazi do ogromne količine podataka, sa velikom tačnošću, a za izuzetno kratko vreme. Prognoz egovore u prilog da će personalizovana medicina već u prvoj polovini 21. Veka biti primenjena u svakodnevnoj praksi lekara. Razvijena tehnologija NGS i bioinformatički programi koji koreliraju kliničke podatke i genomski, epigenomski i transkriptomski profil pacijenta, ohrabruju da su t eprognoze realne.

ratory tests or to prevent serious clinical consequences for the patient. Communication between laboratory staff and physicians about the clinical suspicion of disagreement between clinical and laboratory data is very important, thereby raising the awareness of the wrong result of the patient due to the interference of the antibody as the cause of an individual analytical error in the IA.

NEXT GENERATION SEQUENCING AS A BASIS FOR PERSONALIZED MEDICINE

Sonja Pavlović

Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, University of Belgrade, Belgrade

Personalized medicine, also called genome-based medicine and precision medicine, uses the information of interindividual differences in genes and proteins, to individualize diagnosis, prognosis and treatment for each patient. There are several cornerstones of personalized medicine: diagnosis based on »omics« profiling (genomics, epigenomics, transcriptomics, proteomics, microbiomics, metabolomics), molecular-targeted, gene and cell therapy, pharmacogenomic and predictive genetics, which leads to the implementation of preventive medicine in medical practice. Technological progress in various fields, from genomics to bioinformatics, has opened the door wide for personalized medicine. The application of high-throughput technology for whole genome and transcriptome analysis, such as next generation sequencing (NGS) is especially valuable. NGS can be used to sequence an entire genome (complete DNA sequence of a patient) or exons (coding DNA sequence) only. There are also panels for specific analysis of interest, including analysis of a small number of genes related to a certain disease or processes relevant for its pathogenesis. NGS is also used to quantify mRNAs for gene expression analysis, as well as to identify non-coding, micro RNAs and to analyze genome-wide DNA methylation, resulting in great improvement of understanding the role of epigenomic markers in various diseases. NGS technology generates large amounts of reliable data in a short period of time. It is expected that personalized medicine will be applied on an everyday basis in health care system by the middle of 21st century. The development of new technologies, such as NGS and bioinformatics that correlates genomic, epigenomic and transcriptomic profile of a patient and clinical data, indicate that we are getting closer to the era of personalized medicine.

MIKRO RNK: ZAŠTO I KAKO IH TREBA PROUČAVATI?

Barbara Ostanek

Katedra za kliničku biokemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

Mikro RNK (miRNK) su kratke, približno 22 nukleotida duge, jednolančane nekodirajuće RNK koje funkcionišu kao post-transkripcioni regulatori ekspresije gena. Oni dovode do represije procesa translacije ili do degradacije ciljane informacione RNK (iRNK). Regulatorni potencijal miRNK je ogroman, jer je do sada otkriveno 2588 različitih humanih zrelih miRNK molekula i jedna miRNK može regulisati nekoliko iRNK dok svaka iRNK može biti regulisana sa nekoliko miRNK zbog čega miRNK predstavljaju važan epigenetski mehanizam. MiRNK igraju važnu ulogu u razvoju i regulišu mnoge ćelijske procese. Uključene su u razvoj mnogih bolesti kao što su rak, dijabetes, neurodegenerativne, autoimune, kardiovaskularne bolesti i druge. Pored intracelularnih, postoje i ekstracelularne miRNK prisutne u plazmi i drugim telesnim tečnostima, što ukazuje na njihovu izuzetnu stabilnost. Intracelularne i lakše dostupne ekstracelularne miRNK su obećavajući biomarkeri za ranu dijagnozu bolesti, klasifikaciju, prognozu, izbor i praćenje lečenja u nekoliko bolesti i predstavljaju ciljna mesta terapijskog dejstva lekova. Ako je ekspresija miRNK molekula povećana u bolesti, može se smanjiti pomoću inhibitora miRNK, dok se deficit miRNK može nadoknaditi upotrebom miRNK. Nekoliko testova baziranih na miRNK za određene kancere već su dostupni i nekoliko terapija baziranih na miRNK su u razvoju. Za rutinsku kliničku upotrebu miRNK biomarkeri moraju biti validirani i replicirani. Ovo je posebno značajno za ekstracelularne miRNK, gde su česte neusaglašenosti između rezultata različitih studija. Razlozi za to uključuju:

- interindividualne varijacije (pušenje, fizička aktivnost, starost, komorbiditeti, lekovi)
- izbor tipa uzorka, vremena sakupljanja, obrade uzoraka
- razlike u izolaciji i kvantifikaciji miRNK (metod ekstrakcije, kontrola kvaliteta, metod kvantifikacije, normalizacija).

MiRNK su obećavajući biomarkeri, a naročito ekstracelularne miRNK koje predstavljaju potencijalne minimalno invazivne markere oboljenja. Pre njihovog uvođenja u rutinsku kliničku praksu potrebna su dalja istraživanja da bi se dobili validirani specifični podaci (potpisi) o bolesti. MiRNK obećavaju novu generaciju terapeutike, gde su garantovana dalja poboljšanja u njihovoj efikasnosti i bezbednosti.

MICRO RNA: WHY AND HOW TO STUDY THEM?

Barbara Ostanek

Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Micro RNAs (miRNA) are short, approximately 22 nucleotides long, single stranded noncoding RNAs that function as post-transcriptional regulators of gene expression. They cause either translational repression or degradation of target messenger RNA (mRNA). The regulation potential of miRNAs is enormous, since 2588 different human mature miRNAs have been discovered so far and one miRNA can regulate several mRNAs while each mRNA can be regulated by several miRNAs. Thus miRNAs represent an important epigenetic mechanism. miRNAs play an important role in development and regulate many cellular processes. Furthermore, they are involved in the development of multiple diseases including but not limited to cancer, diabetes, neurodegenerative, autoimmune and cardiovascular diseases. Besides intracellular there are also extracellular miRNA present in plasma and other body fluids, which show remarkable stability. Intracellular as well as more easily accessible extracellular miRNAs are promising biomarkers for early disease diagnosis, classification, prognosis, selection and monitoring of treatment in several diseases. Moreover, they represent therapeutic targets. Namely, miRNAs that are upregulated in diseases may be reduced using miRNA inhibitors, while miRNA deficiency can be overcome by addition of miRNAs. Few miRNAs based tests in certain cancers are already available and several miRNA based therapeutics are under development. For routine clinical use miRNA biomarkers must be extensively validated and replicated. This is especially challenging for extracellular miRNAs, where inconsistencies between different studies are common. Reasons for that include:

- interindividual variation not related to disease in question (smoking, physical activity, age, comorbidities, drugs)
- choice of sample type, time of collection, sample processing
- differences in miRNA isolation and quantification (method of extraction, quality control, method for quantification, normalisation).

In conclusion miRNAs are promising biomarkers, especially the extracellular miRNAs represent potential minimally invasive disease markers. Before their translation in routine clinical practice further studies are required to get validated disease specific signatures. miRNAs are promising new generation therapeutics, where further improvements in their efficacy and safety is warranted.

FARMAKOGENOMIKA U KONTROLI RAKA

Marija Hiljadnikova-Bajro

*Institut za primenjenu biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Univerzitet Ćirilo i Metodije,
Skoplje, Makedonija*

Kao drugi vodeći uzrok smrtnosti u svetu, odgovorne za 1 od 6 smrtnih slučajeva ili 8,8 miliona smrtnih slučajeva u 2015. godini, maligne bolesti postale su značajno opterećenje za ljudsko zdravlje. Statistike raka u svetu za 2012. godinu procenjuju incidencu vecu od 14000000. Na osnovu mortaliteta i statistika prevalence, procenjuje se da u svetu ima oko 33 miliona ljudi sa dijagnozom raka. Kako je rak bolest starenja i rizik od raka se povećava sa godinama, može se očekivati da će brzi razvoj medicine i farmacije produženjem životnog veka, neizbežno dovesti i do povećane incidence raka u budućnosti. Prema tome, očekuje se da će broj novih slučajeva porasti za oko 70% u naredne dve decenije, što zahteva dodatne pristupe u kontroli bolesti. Pojava molekularnih tehnika uvodi genetsku analizu u laboratorijsku procenu malignih bolesti i čini je vrlo perspektivnom. Primena genetske analize kod karcinoma obično je povezana s procenom rizika od naslednog kancera, ali klinička primena genetske analize danas podrazumeva i DNK testiranje germinativnih ćelija na nasledne karcinome, testiranje za postavljanje dijagnoze i praćenje stečenih maligniteta kao što su hematološki, kao i prognostičko i prediktivno farmakogenetsko testiranje. Ovaj rad se fokusira na biomolekularne mehanizme koji čine osnovu kliničke primene farmakogenetike u onkologiji, tj. prognostičkom DNK profilisanju kod tumora i prediktivnom DNK profilisanju germinativnih ćelija u lečenju karcinoma. FDA/EMA je odobrila nove obećavajuće markere i o njima će biti reči. Biće elaborirana genetička analiza EGFR, KRAS, ALK, BCR/ABL, KIT, BRAFV600E u pogledu njihove vrednosti u prognoziranju efikasnosti ciljanih antikancerogenih agenasa, kao i najnovijih pristupa u prevazilaženju otpornosti na lekove protiv raka, identifikovanjem odgovornih genetskih promena u malignim ćelijama. Pored toga, sumira se klinički značaj nekoliko markera, uključujući DPID, TPMT i UGT1A1 sa osvrtom na prognoziranje toksičnosti lečenja. PharmGKBdatabase će biti predstavljen kao resurs znanja za farmakogenomiku koji obezbeđuje pouzdane podatke koji se koriste za istraživanje ili kliničku primenu u skladu sa principima »precizne« medicine. U protekloj deceniji, biomolekularne analitičke tehnologije prešle su sa »singleplex« na »mutiplex« testiranje. Brzi razvoj sekvenciranja sledeće generacije je revolucionirao genomiku i učinio je dostupnijom, tako da se može očekivati da će razvoj molekularnih tehnologija uparenim sa bioinformatikom neminovno ubrzati otkrivanje novih

PHARMAKOGENOMICS IN CANCER MANAGEMENT

Marija Hiljadnikova-Bajro

*Institute for Applied Biochemistry, Faculty of
Pharmacy, University SS Cyril and Methodius,
Skopje, Republic of Macedonia*

Being the second leading cause of death globally and responsible for nearly 1 in 6 deaths or 8.8 million deaths in 2015, malignant diseases have become a formidable burden on human health. The 2012 worldwide cancer statistics estimates an incidence higher than 14000000. Based on the mortality and prevalence statistics, it is estimated that there are about 33 million people in the world alive diagnosed with cancer. As cancer is a disease of ageing and the risk of getting cancer increases with age, it can be anticipated that the rapid development of medicine and pharmacy leading to extended human lifespan will inevitably produce higher cancer incidence in future. Hence, the number of new cases is expected to rise by about 70% over the next two decades requiring additional efforts in management of the disease. The emergence of molecular techniques has introduced genetic analysis in laboratory evaluation of malignant diseases and made it quite promising in this regard. Application of genetic analysis in cancer management is usually associated with the risk evaluation in hereditary cancer, but clinical application of genetic analysis today implies germline DNA testing for hereditary cancer syndromes and testing for diagnosis and monitoring of acquired malignancies like the hematological ones, as well as prognostic and predictive pharmacogenetics testing. This work focuses on the biomolecular mechanisms underlying the clinical application of pharmacogenetics in oncology i.e. prognostic tumor DNA profiling and predictive germline DNA-profiling in cancer treatment. The FDA/EMA approved as well as novel promising markers will be addressed. The genetic analysis of EGFR, KRAS, ALK, BCR/ABL, KIT, and BRAFV600E will be elaborated regarding their value in prognosing the effectiveness of targeted anticancer agents, as well as the latest advances in avoiding anticancer drug resistance by identification of the responsible genetic alterations in the malignant cells. Furthermore, the clinical significance of several markers including DPYD, TPMT and UGT1A1 with relevance to predicting treatment's toxicity will be summarized. The PharmGKBdatabase will be presented as a pharmacogenomics knowledge resource providing reliable data to be used for research or clinical application in concordance with the principles of precision medicine. Within the last decade, biomolecular analytical technologies have shifted from singleplex towards mutiplex testing. The rapid development of the next generation sequencing has revolutionized genomics and made it more available, so it is can be anticipated that the

biomarkera u kontroli raka. Identifikacija robustnih farmakogenetskih markera značajno će uticati na trenutne farmakološke pristupe i pomoć u razvoju novih, efikasnijih i manje toksičnih tretmana.

development of high throughput molecular technologies paired with bioinformatics will inevitably speed up the discovery of new biomarkers in cancer management. Identification of robust pharmacogenetics markers will significantly impact the current pharmacological approaches and aid in development of new, more effective and less toxic treatments.

POLIMORFIZMI GENA ZA ADIPOCITOKINE I RIZIK ZA POJAVU KOLOREKTALNOG KARCINOMA

Ana Ninić¹, Marija Mihajlović¹, Miron Sopić¹,
Vesna Spasojević-Kalimanovska¹, Nataša
Bogavac-Stanojević¹, Željka Stjepanović²,
Aleksandra Stefanović¹, Ivan Jančić¹,
Dejan Zeljković³, Bratislav Trifunović³,
Aleksandra Zeljković¹

¹Univerzitet u Beogradu –

Farmaceutski fakultet, Beograd

²Medigroup Opšta bolnica, Beograd

³Klinika za Opštu hirurgiju, Vojno-medicinska
akademija, Beograd, Srbija

Mnoge epidemiološke studije su ukazale da postoji važna uloga gojaznosti u riziku i razvoju kolorektalnog karcinoma (CRC). Zajednička karakteristika gojaznosti i CRC-a je hronična subklinička inflamacija. Adipocitokini, sintetisani u masnom tkivu, imaju ulogu u razvoju i progresiji CRC-a koja i dalje nije u potpunosti jasna. Smanjeni nivoi adiponektina (ADIPOQ) u serumu su u korelaciji sa razvojem i progresijom kancera i u obrnutoj su korelaciji sa markerima inflamacije. Faktor nekroze tumora alfa (TNF α) stimuliše malignu proliferaciju ćelija i indukuje inflamatorne puteve koji stimulišu karcinogenezu. Iako rezistin (RETN) igra važnu regulatornu ulogu u inflamatornim bolestima, njegova uloga u metaboličkim poremećajima još uvek nije jasna. Cilj studije je bio da se utvrdi da li polimorfizmi pojedinačnog nukleotida (SNP) i koncentracije proteina adipocitokina predstavljaju prediktivne faktore rizika za pojavu CRC-a. Uzorci krvi 187 zdravih osoba i 105 pacijenata sa CRC-om su genotipizirani za ADIPOQ rs266729 (-11377C/G), RETN rs1862513 (-420C/G), TNF α rs1800629 (-308G/A) i adiponektinski receptor 1 rs7539542 (+10225C/G) polimorfizme. Koncentracije adipocitokina su određene ELISA testovima. Nije bilo značajnih razlika u distribuciji genotipova, za svaki od testiranih polimorfizama, između pacijenata sa CRC-om i kontrolne grupe. Multivarijantna logistička regresija je pokazala da su koncentracije rezistina nezavistan prediktor za pojavu CRC-a ($p < 0,05$) kada se testiraju u Modelu sa svim ispitivanim poli-

GENE POLYMORPHISMS FOR ADIPOCYTOKINES AND THE RISK FOR COLORECTAL CANCER DEVELOPMENT

Ana Ninić¹, Marija Mihajlović¹, Miron Sopić¹,
Vesna Spasojević-Kalimanovska¹, Nataša
Bogavac-Stanojević¹, Željka Stjepanović²,
Aleksandra Stefanović¹, Ivan Jančić¹,
Dejan Zeljković³, Bratislav Trifunović³,
Aleksandra Zeljković¹

¹University of Belgrade –

Faculty of Pharmacy, Belgrade, Serbia

²Medigroup General Hospital, Belgrade, Serbia

³Clinic for General Surgery,
Military Medical Academy

Many epidemiological studies indicated an important role of obesity in colorectal cancer (CRC) risk and development. The common hallmark of obesity and CRC is chronic subclinical inflammation. Adipose tissue-synthesized factors, known as adipocytokines, have roles in regulation of CRC development and progression which still remains controversial. Decreased adiponectin (ADIPOQ) serum levels correlate with cancer development and progression and are inversely associated with markers of inflammation. Tumour necrosis factor alfa (TNF α) stimulates malignant cells proliferation and induce the inflammatory pathways that enhance carcinogenesis. Although resistin (RETN) plays an important regulatory role in inflammatory diseases, its role in metabolic dysregulations is still unclear. We aimed to determine whether adipocytokines' single nucleotide polymorphisms (SNP) and protein concentrations represented predictive factors for CRC susceptibility. Blood samples from 187 apparently healthy persons and 105 patients with CRC were genotyped for ADIPOQ rs266729 (-11377C/G), RETN rs1862513 (-420C/G), TNF α rs1800629 (-308G/A) and adiponectin receptor 1 rs7539542 (+10225C/G) polymorphisms. Adipocytokines' concentrations were determined by ELISA tests. There were no significant differences in genotype distributions for each of tested SNPs between CRC patients and control subjects. Multivariate logistic regression analysis demonstrated independent prediction of protein RETN concentrations on CRC diagnosis ($p < 0.05$) when tested in

morfizmima. Potrebno je izvršiti obimna istraživanja koja uključuju analizu SNP-a i genske ekspresije adipocitokina kako bi se razjasnila povezanost adipocitokina i CRC-a.

Model with all genes SNPs as confounders. Extensive research which includes SNP and gene expression analysis of adipocytokines should be performed in order to clarify the nature of the association between adipocytokines and CRC risk.

GESTACIJSKI DIJABETES: INTEGRALNI ENDOKRINOLOŠKI PRISTUP

Đuro Macut

*Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti
metabolizma Kliničkog centra Srbije*

Gestacioni dijabetes se definiše kao bilo koji stepen glukozne intolerancije tokom trudnoće. Internacionalna asocijacija studijskih grupa za dijabetes i trudnoću (IADPSG) klasifikuje hiperglikemiju po prvi put nađenu tokom trudnoće, kao 'jasan dijabetes' ili 'gestacijski dijabetes melitus (GDM)'. Prevalenca GDM varira od 1–20%. GDM je udružen sa nepovoljnim neonatalnim i maternalnim sekvelama. Tokom normalne trudnoće, progresivna insulinska rezistencija (IR) se razvija sredinom trudnoće i progredira tokom trećeg trimestra. Hormonii adipokini koji se sekretuju iz placente, uključujući TNF- α , humani placentalni laktogeni humani placentalni hormon rasta, predstavljaju moguće uzroke IR u trudnoći. Uz navedeno, povećani estrogen, progesteron i kortizol tokom trudnoće doprinose poremećaju balansa glukoze i insulina. Najčešći faktori rizika za razvoj GDM su gojaznost, starija maternalna dob, ranija anamneza GDM, porodična anamneza za dijabetes ili sindrom policističnih jajnika. U ostale relativne rizike za razvoj GDM spadaju anamneza o rađanju velike bebe (težina na rođenju 4000 g), anamneza ponavljanih pobačaja i neobjašnjene mrtvorodenosti, anamneza esencijalne ili trudnoćom uzrokovane hipertenzije. IADPSG preporučuje za dijagnozu GDM postojanje jedne vrednosti glikemije preko granične vrednosti tokom 2h testa oralnog opterećenja glukozom (OGTT) sa 75 g glukoze, sprovedenog u 24–28 nedelji gestacije (glikemija na tašte 5.1 mmol/L, u 60. minutu 10 mmol/L i u 120. minutu 8.5 mmol/L). Osnovu lečenja GDM predstavlja glikemijska kontrola. Inicijalno lečenje GDM predstavlja promena stila života koja podrazumeva medicinsku nutritivnu dijetu i dnevno vežbanje. Od pacijentkinja se traži česta kontrola glikemije kod kuće kako bi se osiguralo postizanje glikemijskih ciljeva (samokontrola glikemije u krvi, SMBG). Dijeta predstavlja ključ u lečenju GDM jer održava željene glikemijske ciljeve u 80–90% slučajeva žena sa GDM. Ukoliko nije kontraindikovano, preporučuje se umereno dnevno vežbanje tokom 30 minuta. Ukoliko se navedenim merama ne postignu glikemijski ciljevi, treba započeti sa neinsulinskim antihiperglikemijskim

GESTATIONAL DIABETES: AN INTEGRATIVE ENDOCRINE APPROACH

Djuro Macut

*Faculty of Medicine, University of Belgrade
Clinic of Endocrinology, Diabetes and Metabolic
Diseases, Clinical Center of Serbia*

Gestational diabetes has been defined as any degree of glucose intolerance during pregnancy. The International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) classify hyperglycemia first detected during pregnancy as either 'overt diabetes' or 'gestational diabetes mellitus (GDM)'. The prevalence of GDM varies from 1–20%. GDM is associated with adverse maternal and neonatal sequelae. During normal pregnancy, a progressive IR develops beginning around mid-pregnancy, and progresses during the third trimester. Hormones and adipokines secreted from the placenta, including tumor necrosis factor (TNF)- α , human placental lactogen, and human placental growth hormone are possible causes of IR in pregnancy. In addition, increased estrogen, progesterone, and cortisol during pregnancy contribute to a disruption of the glucose insulin balance. The most common risk factors for the development of GDM are obesity, older maternal age, past history of GDM, strong family history of diabetes, and polycystic ovary syndrome. The other relative risk factors for the development of GDM includes history of delivering big baby (birth weight 4000 g), history of recurrent abortions, history of unexplained stillbirths, and history of essential hypertension, or pregnancy-related hypertension. IADPSG recommends for the diagnosis of GDM existence of one glucose value over the limit values for the 2h OGTT with 75 g of glucose performed at 24–28 weeks of gestation (fasting plasma glucose 5.1 mmol/L, 60. min glucose 10 mmol/L, and 120. min glucose 8.5 mmol/L). The cornerstone of GDM management is glycemic control. The initial treatment for GDM is lifestyle intervention, which include medical nutrition therapy and daily exercise. Patients are required to check their glucose level frequently at home to assure that the glycemic targets are achieved (self-monitoring of blood glucose, SMBG). If glycemic goals are not accomplished with these measurements, medical therapy should be initiated. Medical nutritional therapy is the keystone of treating GDM as it maintains desired glycemic goals in 80–90% of GDM women. If not contraindicated,

agensima (gliburid i metformin) ili terapiju insulinom. Inicijalno treba započeti lečenje bazalnim insulinom, dugodelujućim insulinskim analogom ili neutralnim protaminom Hagedorn (NPH) pre spavanja. U slučajevima gde je glikemija povećana posle obroka, treba primeniti brzodelujući insulin ili regularni insulin pre određenog obroka što se može prevesti u 4 injekcije na dan ukoliko su povećane glikemije našte i posle svakog obroka. Danas se prednost lečenju u trudnoći daje brzodelujućim analogima u odnosu na regularni insulin jer su oni udruženi sa manje rizika od hipoglikemije. Insulini lispro i aspart su odobreni za primenu u trudnoći.

moderate daily exercise for 30 minutes is recommended for a woman with GDM. If the medical nutrition therapy and exercise fail to achieve glycemic goals, non-insulin antihyperglycemic agents (glyburide and metformin) or insulin therapy. Initially, basal insulin, long-acting insulin analog, or neutral protamine Hagedorn (NPH) should be started before bedtime. In cases where glucose level is elevated following a meal, rapid-acting insulin, or regular insulin should be prescribed before that specific meal, and translated into a 4-injections-per-day regimen if both fasting and each postprandial glucose levels are elevated. Nowadays, rapid-acting insulin analogs are preferred over regular insulin in pregnancy as they are associated with less risk of hypoglycemia. Both lispro and aspart insulin are approved to be used in pregnancy.

PROCENA RIZIKA OD IZLOŽENOSTI ENDOKRINO- AKTIVNIM HEMIKALIJAMA

Biljana Antonijević

*Katedra za toksikologiju »Akademik Danilo
Soldatović«, Univerzitet u Beogradu
– Farmaceutski fakultet, Srbija*

Izloženost hemikalijama koje imaju potencijal da utiču na endokrini sistem i njihovi toksični efekti predstavljaju danas globalni problem. Mnoge supstance koje dospevaju u životnu sredinu usled antropogenih aktivnosti, uključujući industrijske proizvode, pesticide, perzistentne organske polutante i teške metale mogu delovati kao endokrini ometači (ED). ED se definišu primenom tri kriterijuma: prisustvo i) štetnog efekta kod intaktnog organizma ili (sub)populacije, ii) endokrine aktivnosti i iii) postojanje uzročno-posledične veze između prethodna dva kriterijuma. ED je egzogena supstanca ili smeša koja utiče na funkciju endokrinog sistema i posledično uzrokuje pojavu toksičnog efekta. Kritični efekat, njegov intenzitet, (i) reverzibilnost i potentnost ED predstavljaju neizostavne aspekte identifikacije i karakterizacije hazarda. EDs stupaju u interakciju sa estrogen, androgen ili sa tiroidnim hormonskim sistemom ili deluju na steroidogenezu (EATS). Mogu da se vežu za hormone receptore i dovedu do agonističkih efekata ili da blokirajuktivnost hormona (antagonistički efekat), ili mogu da utiču na sintezu, transport ili metabolizam hormona. Eksperimentalna ekspozicija ED je najčešće povezana sa pojavom reproduktivne i toksičnosti na rast i razvoj, kao i sa metaboličkim poremećajima uključujući smanjen fertilitet, seksualne i bihevioralne poremećaje, razvoj karcinoma reproduktivnih organa ženki, teratogenost i dr. Od posebnog interesa su razmatranja efekata nastalih usled izloženosti smešama ED, kao i razmatranje o postojanju i/ili relevantnosti

RISK ASSESSMENT OF EXPOSURE TO ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS

Biljana Antonijević

*Department of Toxicology »Academic Danilo
Soldatović«, University of Belgrade
– Faculty of Pharmacy*

Global concerns have been raised in recent years over the adverse effects that may result from exposure to chemicals that have the potential to interfere with the endocrine system. Many substances released into the environment through human activity including industrial (by)products, pesticides, persistent organic pollutants and heavy metals may act as endocrine disrupters (EDs). EDs are defined by three criteria: the presence of i) an adverse effect in an intact organism or a (sub)population; ii) an endocrine activity; and iii) a plausible causal relationship between the two. ED is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism. Critical effect, severity, (ir) reversibility and potency aspects are part of the hazard characterization of EDs. EDs interact with oestrogen, androgen, or thyroid hormone systems or affect steroidogenesis in vertebrates (EATS modalities). Such substances may be able to interact with hormone binding sites (i.e. by mimicking the relevant endogenous agonist), or block hormone action (i.e. act as an antagonist), or interfere with the hormone synthesis, transport or metabolism. Experimental exposure to EDs is typically linked to observations of reproductive and developmental toxicity, metabolic disorders i.e. reduced fertility, birth defects, sexual and behavioural developmental disorders and cancer of the reproductive organs in female offspring. Adverse health effects due to simultaneous

efekata niskih doza i ne-monotonog odnosa doze i odgovora. Broj trenutno dostupnih standardizovanih testova za EATS nije veliki, što ukazuje da je potrebno razviti noves strategije za ispitivanje i dobijanje odgovarajućih podataka za identifikaciju i procenu rizika od izloženosti endokrino-aktivnim supstancama.

EVROPSKI VODIČ ZA PROCENU RIZIKA U OBLASTI BEZBEDNOSTI HRANE

Ivan Stanković

*Katedra za bromatologiju, Farmaceutski fakultet
Univerziteta u Beogradu, Beograd*

U Evropskoj Uniji Uredbom (EC) No.178/2002 uveden je pristup bezbednosti hrane baziran na sistemu analize rizika koji se sastoji iz tri međusobno povezane komponente: procene rizika, upravljanja rizikom i komunikacije o riziku, aza naučnu procenu rizika na nivou EU formirano je Evropsko telo za bezbednost hrane (EFSA). Procena rizika uključuje četiri koraka: identifikaciju opasnosti, karakterizaciju opasnosti, procenu izloženosti i karakterizaciju rizika, ali se metodološki pristup razlikuje u zavisnosti od rizika koji se procenjuje (mikrobiološki rizici, prehrambeni aditivi, arome, enzimi, zagađivači, rezidue, GMO, nano materijali, endokrino aktivne supstance, alergeni, rizici usled nepravilne ishrane i dr.). EFSA je do sada pripremila preko 40 vodiča kojekoriste naučni paneli u svojoj metodologiji procene rizika, a koji definišu balansirane zahteve za generisanjefneophodnih podataka (izloženost, toksikološke i ostale studija i dr.) za procenu rizika, pri čemu se vodi računa i o dobrobiti životinja. Naučni komitet za hranu (SCF) EFSA-e pripremio je opšte vodiče kao što su vodiči za procenu rizika od proizvedenih nano materijala, od biljaka i biljnih preparata, sprovođenje 90-dnevnih studija oralne toksičnosti na glodarima, korišćenje naučnih ekspertiza u proceni rizika, primenu BMD pristupa u proceni rizika, biološku relevantnost podataka i težinu dokaza u naučnim procenama, izabrane uobičajene vrednosti i jedinice, procenu rizika od supstanci u hrani za odojčad mlađu od 14 meseci, identifikaciju endokrino aktivnih supstanci i dr. Naučni Paneli EFSA-e pripremili su posebne vodiče za specifične oblasti procene rizika kao što su prehrambeni aditivi, arome, enzimi, nutritivne supstance, mikorobiološki rizici, alergogenost, upotrebu probabilističke metodologije za modeliranje dijetarne izloženosti reziduama pesticida, zdravstvene izjave, novu hranu i dr. Vodiči EFSA-e se često koriste u proceni rizika i na nacionalnom nivou.

exposure to multiple EDs and the existence and/or relevance of low-dose effects and non-monotonic dose response in connection with endocrine activity are important issues that should be specifically addressed. Currently, not many standardised assays are available for EATS modalities which underline the need for the further development of testing strategies to generate adequate data for the identification and risk assessment of endocrine disrupting properties.

EUROPEAN GUIDELINES FOR RISK ASSESSMENT IN FOOD SAFETY

Ivan Stanković

*Department for Bromatology, Faculty of Pharmacy,
University of Belgrade, Belgrade*

In the European Union, Regulation (EC) No. 178/2002 introduced a new approach to food safety based on a risk analysis consisting of three interconnected components: risk assessment, risk management and risk communication. For scientific risk assessment at the EU level The European Food Safety Authority (EFSA) has been established. The risk assessment includes four essential steps: hazard identification, hazard characterization, exposure assessment and risk characterization, but the methodological approach varies depending on the risk being assessed (microbiological risks, food additives, flavorings, enzymes, contaminants, residues, GMOs, nanomaterials, endocrine disruptors, allergens, risks of inadequate nutrition, etc.). EFSA has prepared over 40 guidelines that are used by the scientific panels in their risk assessment procedures, which also define balanced requirements for generating necessary data (exposure, toxicology and other studies, etc.) for risk assessment, taking also into account the welfare of animals. The EFSA Scientific Committee for Food (SCF) has prepared general guidelines such as guidelines for risk assessment from engineered nano materials, plant and plant preparations, repeated-dose 90-day oral toxicity studying rodents, expert knowledge elicitation in risk assessment, use of the benchmark dose approach in risk assessment, biological relevance of data and weight of evidence in scientific assessments, selected default values and units, risk assessment of substances in food for infants under 14 months of age, identification of endocrine disruptors etc. The EFSA Scientific Panels have prepared guidelines for specific risk assessment areas such as food and feed additives, flavorings, enzymes, nutrient sources, biological risks, allergenicity, the use of a probabilistic methodology for modeling dietary exposure to pesticide residues, health claims, novel food etc. EFSA guidelines are also extensively used in risk assessment at the national level.

DUŽINA TELOMERA KAO BIOMARKER STARENJA, UČINAK SREDINE I ŽIVOTNIH NAVIKA

*Jelena Kotur-Stevuljević¹, Nataša Bogavac-Stanojević¹, Aleksandra Vukašinić¹,
Vesna Spasojević-Kalimanovska¹*

¹*Katedra za medicinsku biohemiju, Farmaceutski fakultet Univerzitet u Beogradu, Srbija*

Telomere su specifične DNK- proteinske strukture na krajevima hromozoma koje štite genom od degradacije nukleotida, rekombinacije, reparacije i među hromozomske fuzije. Kao posledica homeostatskih procesa u ćeliji, mali deo telomerne DNK se izgubi sa svakom deobom ćelije. Kada dužina telomere dostigne kritično nisku granicu ćelija podleže starenju, onkogenezi i/ili apoptozi. Skraćivanje telomera, bilo fiziološko ili izazvano patološkim stanjem ne mora biti nepovratno. Enzim telomeraza katalizuje povećanje dužine telomera. Različiti agensi udruženi sa određenim životnim navikama mogu da ubrzaju skraćivanje telomera ili pak da povećaju njihovu dužinu uticanjem na DNK čime utiču na dužinu i kvalitet života osobe, tako što dovode do razvoja različitih bolesti ili onkogeneze. Brzina kojom se telomere skraćuju može da ukaže na tempo starenja. Životne navike kao što su pušenje, nedostatak fizičke aktivnosti, gojaznost, stres, izlaganje zagađenjima mogu da budu okidači za ubrzano skraćivanje telomera, što može dovesti do razvoja kancera i ubrzanog starenja. Restriktivna dijeta, način ishrane koji favorizuje unos vlakana, antioksidanasa, bezmasnog mesa, proteina soje i redovno vežbanje imaju potencijal da uspore skraćivanje telomera a time i rizik od razvoja različitih bolesti i da uspore starenje. Oksidativni stres i inflamacija su opštmehanizmi koji se smatraju odgovornim za skraćivanje telomera. U nekim studijama je dokazano da povećan unos omega-3 masnih kiselina korelira pozitivno sa dužinom telomera i da se taj mehanizam odvija indukcijom nekoliko antioksidativnih enzima ovim konstituentima hrane. Takođe je utvrđeno da koncentracija vitamina D u krvi pozitivno korelira sa dužinom telomera leukocita i da se taj uticaj odvija inhibicijom inflamatornih mehanizama. U radu će biti prikazani rezultati koji pokazuju vezu između životnih navika, okruženja i dužine telomera i aktivnosti enzima telomeraze kod zdravih sredovečnih osoba, pacijenata sa akutnim infarktomiokarda i pacijenata sa kancerom pluća.

TELOMERE LENGTH AS A SENESCENCE BIOMARKER, INFLUENCE OF THE ENVIRONMENT AND LIFE-STYLE

*Jelena Kotur-Stevuljević¹, Nataša Bogavac-Stanojević¹, Aleksandra Vukašinić¹,
Vesna Spasojević-Kalimanovska¹*

¹*Department of Medical Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

Telomeres are specific DNA-protein structures at the chromosomal ends, which role is to protect genome from nucleotide degradation, recombination, unwanted reparation and fusion. As a consequence of different homeostatic processes in cells small telomeres' part are lost with every division. When telomeres became critically short cell goes to senescence, oncogenesis or apoptosis. Telomere shortening, physiological or pathological is not irreversible. Enzyme telomerase catalyzes the reaction of telomere lengthening. Different chemicals together with certain life habits could shorten or increase telomere length through the DNA changing, which in turn influences quality and life-expectancy of the subjects and different diseases development or oncogenesis. Rate of telomere shortening could predict senescence tempo. Life habits such as smoking, sedentary way of life, obesity, stress, pollution could be inducers of the faster telomere shortening which could also lead to cancer development and faster senescence. On the contrary, reductive diet, diet with high fiber content, high antioxidants content, lean meat, soya protein and regular moderate exercise have a potential to retard telomere shortening, and thus to decrease disease development risk. Oxidative stress and inflammation are general risks connected with telomere shortening. Several studies had reported that high content of omega-3 fatty acids in diet is in direct correlation with telomere length and this feature goes through the several antioxidant enzymes induction. Vitamin D concentration is also in positive correlation with leukocytes' telomere length and this activity is performed by inflammatory mechanisms inhibition. In this lecture we will explain the results showing relation between life style, environment and telomere length and telomerase activity in healthy middle-age subjects, acute myocardial infarction patients and lung cancer patients.