

3. Crnogorska konferencija kliničke hemije i laboratorijske medicine

sa međunarodnim učešćem

3. CG LABMED

KNJIGA SAŽETAKA



u organizaciji
**Crnogorskog društva kliničke hemije
i laboratorijske medicine**

Bar, Crna Gora
29. – 31. Maj, 2025. godine

Naučni odbor:

- dr sc. med. - ph **Tanja Antunović**
- dr med. **Jelena Boljević**
- dr med. **Ivana Milašević**
- dr med. **Olja Mandarelo**
- dr med. **Nevena Terzić Stanić**
- dr med. **Ivana Jovanović**
- mr ph **Najdana Gligorović Barhanović**
- dr sc. med. **Marina Jakšić**
- dr med. **Vanja Puletić**
- prof. dr **Danica Popović**

Recenzenti:

- dr sc. med. - ph **Tanja Antunović**
- dr sc. med. **Marina Jakšić**
- dr med. **Jelena Boljević**

Sadržaj:

Laboratorijska endokrinologija 3

Napredne dijagnostičke i terapijske strategije u poremećajima trombocita 11

Laboratorija budućnosti 18

Skrining novorođenčadi 24

Laboratorijski menadžment: vodič ka efektivnoj i uspješnoj laboratorijskoj djelatnosti 30

Gastrointestinalni i hepatični biomarkeri / Biomarkeri rijetkih metaboličkih poremećaja 32

Molekularna dijagnostika u istraživanju i kliničkoj praksi 42

Protočna citometrija: Ključni alat u modernoj hematologiji 47

Oksidativni stres 54

Alergologija / Imunologija 63

Ostali sažeci 69

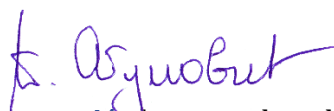
Indeks autora 89



Treća Crnogorska konferencija kliničke hemije i laboratorijske medicine (3. CG LabMed), kao i prethodne dvije, doprinijeće daljem razvoju kliničke biohemije i laboratorijske medicine u našoj zemlji, pružajući priliku za umrežavanje, edukaciju i promociju najviših standarda u struci. Ova konferencija, sa svojim međunarodnim učešćem, predstavlja krunu naših napora da u Crnoj Gori okupimo vodeće stručnjake iz oblasti kliničke biohemije i laboratorijske medicine, kako iz naše zemlje, tako i iz regiona.

Posebno nas raduje odziv kolega sa katedri biohemije širom regiona, čime smo ostvarili našu želju da stvorimo platformu za razmjenu najnovijih naučnih saznanja i najboljih praksi. Kroz bogat i raznovrstan program, uspjeli smo da povežemo različite dijagnostičke oblasti sa kliničkim implikacijama, naglašavajući ključnu ulogu laboratorijske medicine u savremenoj zdravstvenoj zaštiti.

Vjerujemo da će ova Knjiga sažetaka biti vrijedan resurs, pružajući uvid u dijagnostičku praksu u regionu, inovativna istraživanja i studije slučaja koje će inspirisati nove ideje i podstaći dalju saradnju.


Tanja Antunović, dr sc. med. – ph,

Crnogorsko društvo kliničke biohemije i laboratorijske medicine,
predsjednica

LABORATORIJSKA ENDOKRINOLOGIJA

Laboratorijski markeri u dijagnostici Gravesove bolesti, od TSH do TRAb

Jelena Boljević¹

¹Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Graves-ova bolest je autoimuna bolest tiroidne žlijezde koja je vodeći uzrok hipertireoze. Dijagnostika ove bolesti se temelji na kombinaciji kliničkih simptoma, radioloških ispitivanja i, posebno, laboratorijskih markera. Pravovremena i precizna dijagnoza ključna je za adekvatno liječenje i prevenciju komplikacija, a laboratorijski markeri igraju nezamjenjivu ulogu u dijagnostici Graves-ove bolesti.

Početna procjena obično uključuje mjerenje nivoa tireotropina tj. tireostimulirajućeg hormona (TSH), kao i određivanje slobodnih frakcija hormona štitaste žlijezde, slobodnog tiroksina (fT4) i slobodnog trijodtironina (fT3). Kod Graves-ove bolesti, karakteristično je suprimirano lučenje i niska koncentracija TSH zbog prisutnih antitijela na TSH receptor (TRAb – TSH *receptor antibodies*) i najčešće stimulacije tireoidne žlijezde tireostimulirajućim antitijelima (TSAb). Odnos fT3/fT4 takođe može pružiti dodatne informacije.

Od posebne važnosti su antitijela na tireoidnu peroksidazu (TPOAb) i tireoglobulin (TgAb), koja su često prisutna, ali nisu specifična samo za Graves-ovu bolest. Međutim, detekcija antitijela na TSH receptor smatra se visoko specifičnim labo-

ratorijskim markerom Graves-ove bolesti i ima ključnu ulogu u potvrdi dijagnoze, posebno u atipičnim slučajevima ili kada klinička slika nije jasna. Različite vrste TRAb antitijela, uključujući stimulirajuća (TSAb), blokirajuća (TBAb) i neutralna, mogu imati različite kliničke implikacije.

Upravo zbog navedenog, TRAb antitijela postaju centralni dijagnostički marker jer su specifična za Graves-ovu bolest i omogućuju jasnu diferencijaciju u odnosu na druge oblike tireotoksikoze, poput toksičnog adenoma ili subakutnog tireoiditisa. Osim dijagnostičke vrijednosti, prisutnost i titar TRAb antitijela korisni su u predviđanju toka bolesti i procjeni rizika od relapsa nakon prestanka terapije. Novije metode, poput treće generacije imunohemijskih testova, omogućuju visoku osjetljivost i specifičnost u detekciji TRAb, čime se dodatno unapređuje dijagnostički algoritam. Pravilna interpretacija laboratorijskih markera zahtijeva sveobuhvatan pristup koji uzima u obzir kliničku sliku, komorbiditete i druge parametre. Razumijevanje uloge svakog pojedinog laboratorijskog markera u kontekstu Graves-ove bolesti ključno je za pravovremeno postavljanje dijagnoze, praćenje terapijskog odgovora i dugoročnu kontrolu bolesti.

Ključne riječi: autoimuna bolest, TRAb, imunohemijski testovi

Tiroidna 'klackalica' i imunomodulacija u trudnoći

Sanja Medenica^{1,2}

¹Odjeljenje za endokrinologiju, Interna klinika, Klinički centar Crne Gore

²Medicinski fakultet, Univerzitet Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Fiziologija štitaste žlezde u trudnoći je izmenjena. Trudnoća uzrokuje dodatne metaboličke zahteve i hormonske izmene što rezultira i potrebom za određivanjem trimester-specifičnih referentnih vrednosti za tireotropin i tiroidne hormone za lokalnu populaciju. Štitasta žlezda igra ključnu ulogu u regulisanju metabolizma i rasta, a njeni hormoni utiču na brojne fiziološke procese tokom gestacije. Poremećaji tiroidne funkcije u trudnoći mogu imati značajne implikacije na zdravlje majke i fetusa, te je blagovremeno lečenje istih neophodno. Subklinička hipotireoza može uticati na koncepciju i ishode trudnoće, mada je njen klinički značaj i dalje predmet debate.

Tiroidna autoimunost odnosi se na prisustvo tiroid-specifičnih antitela. Folikularna tečnost je mikrosredina esencijalna za maturaciju jajne ćelije. Ostaje kontroverzno da li prisustvo tiroidne autoimunosti utiče na imunološko mikro-okruženje u folikularnoj tečnosti, s obzirom da postoji značajan imunološki disbalans u folikularnoj tečnosti ovih žena posebno sa aspekta povezanosti tiroidne autoimunosti i infertiliteta. Pokazana je različita ekspresija proteina i profil metaboloma u folikularnoj tečnosti kod tiroidne autoimunosti, koji su zajedno sa mikroRNK prepoznati kao novi biomarkeri. Primena levotiroksina kod eutiroidnih žena sa tiroidnom autoimunošću je tema diskusije u brojnim publikacijama, mada rezultati velikih

studija pokazuju da upotreba levotiroksina u ovoj populaciji nije rezultirala višom stopom živorođenosti ili nižom stopom spontanih pobačaja. Jasno su definisane one kategorije žena kod kojih se može očekivati benefit terapije.

Redovno praćenje i odgovarajući tretman su neophodni za minimiziranje rizika povezanih sa poremećajima tiroidne funkcije u trudnoći. Ovo ističe važnost ranog otkrivanja i lečenja kako bi se optimizovali ishodi zdravlja majke i fetusa.

Ključne riječi: tiroidna disfunkcija, trudnoća, tiroidna autoimunost, folikularna tečnost, imunomodulacija

Praktični pristup endokrinim hipertenzijama

Sanja Borožan¹

¹Interna klinika, Odjeljenje za endokrinologiju, Klinički centar Crne Gore; Podgorica, Crna Gora

Hipertenzija i dalje predstavlja jedan od najznačajnijih globalnih zdravstvenih izazova 21. vijeka, sa prevalencijom od $\approx 40\%$ u odrasloj populaciji. Iako većina osoba sa povišenim krvnim pritiskom pati od esencijalne hipertenzije ($\approx 85\%$), neki pacijenti mogu imati jasnu osnovnu etiologiju (tzv. sekundarna hipertenzija), najčešće endokrinu ($\approx 10\%$), kao posljedicu prekomjerne proizvodnje hormona u sklopu disfunkcije jedne ili više endokrinih žlijezda.

Iako je endokrina hipertenzija relativno česta u opštoj populaciji, zbog nedovoljno razvijene svijesti među kliničarima,

najčešće ostane neprepoznata ili se dijagnostikuje sa zakašnjenjem od prosječno 3–5 godina od pojave simptoma, što rezultira komplikacijama u vidu oštećenja ciljnih organa (kardiovaskularne bolesti, progresivna bubrežna slabost) i, u krajnjoj instanci, prijevremenim mortalitetom.

Kroz tri specifična klinička slučaja, u ovom preglednom radu apostrofiraju se optimalni algoritmi testiranja kod sumnje na najčešće endokrine hipertenzije kao i adekvatan terapijski postupak po postavljanju dijagnoze. Multidisciplinarni pristup i implementacija novih biohemijskih i vizuelizacionih metoda su imperativ u savremenom kliničkom pristupu endokrinim hipertenzijama uzimajući u obzir da je pravovremena dijagnoza osnovnog oboljenja ključna za potencijalno izlječenje ili optimalnu kontrolu hipertenzije.

Ključne riječi: endokrina hipertenzija, algoritmi testiranja, terapija

Značaj laboratorijske dijagnostike u proceni metabolizma glukokortikoida

Aneta Randelović Živković¹

¹Centar za laboratorijsku dijagnostiku, Univerzitetski Klinički centar Vojvodine, Novi Sad, Srbija

Laboratorijska dijagnostika ima centralnu ulogu u proceni metabolizma glukokortikoida, koji su ključni hormoni u regulaciji brojnih fizioloških procesa, uključujući metabolizam, imunološki odgovor i reakciju na stres. Glavni predstavnik ove grupe hormona je kortizol, koji se luči u ritmu koji zavisi od

doba dana, stresa i homeostatskih potreba organizma. S obzirom na to da poremećaji u lučenju glukokortikoida mogu dovesti do ozbiljnih kliničkih stanja, kao što su Kušingov sindrom, Adisonova bolest i funkcionalni poremećaji nadbubrežnih žlezda, precizna laboratorijska evaluacija je od izuzetnog značaja.

U okviru laboratorijske dijagnostike koriste se različiti pristupi: određivanje ukupnog i slobodnog kortizola u serumu, analiza kortizola u 24-časovnom urinu koja predstavlja pouzdanu metodu za procenu ukupne dnevne produkcije kortizola (ova metoda eliminiše uticaj trenutnih fluktuacija u nivou hormona i korisna je u dijagnostici stanja hiperprodukcije kortizola), određivanje kortizola u salivi, posebno uzetog u kasnim večernjim satima (odražava slobodni, biološki aktivni kortizol i koristi se u otkrivanju poremećaja ritma lučenja, kao što je izostanak pada koncentracije u večernjim satima kod Kušingovog sindroma). Pored toga, primena dinamskih testova, kao što su supresioni test sa niskom dozom deksametazona i stimulacioni test sa ACTH, omogućava funkcionalnu procenu nadbubrežne osovine.

Kombinovanjem statičkih i dinamskih testova dobijaju se pouzdane informacije o statusu glukokortikoidne aktivnosti u organizmu. Time se omogućava rano otkrivanje i pravilno upravljanje endokrinim poremećajima, što je ključno za prevenciju komplikacija i unapređenje kvaliteta života pacijenata. Laboratorijska dijagnostika tako predstavlja nezamenljiv alat u savremenoj endokrinološkoj praksi.

Ključne riječi: glukokortikoidi, laboratorijska dijagnostika

Povezanost varijacija u genu za Klotho protein, fibroblastnog faktora rasta 23 (FGF23) i parametara mineralno-koštanog metabolizma kod bolesnika na hemodijalizi

Tatjana Cvetković¹, prof. dr

¹Biohemijski institut, Medicinski Fakultet, Univerzitet u Nišu, Niš, Srbija

Poremećaji mineralno koštanog metabolizma kod hronične bolesti bubrega povezani su sa kalcifikacijom aorte, kardio-vaskularnim događajima, većim mortalitetom i progresijom osnovne bolesti. Paratiroidni hormon (PTH)-vitamin D osovina su osnov za razumevanje mineralnog metabolizama, ali nedavno otkriće fibroblastnog faktora rasta 23 (FGF23) i njegovog koreceptora za Klotho protein daje novi uvid u patofiziologiju mineralnog metabolizma, regulisanje metabolizma vitamina D i fosfatnog bilansa na nivou bubrega preko FGF23-kost-bubreg osovine. Početno povećanje FGF23 je prvi biohemijski dokaz za poremećaj mineralne homeostaze u ranoj hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji (HBI), što dovodi do ranog pada nivoa vitamina D. Pored svojih efekata na fosfor, vitamin D i PTH, FGF23 takođe smanjuje transkripciju Klotho gena u bubregu. FGF23 - Klotho može da se koristi ne samo kao pokazatelj za procenu retencije fosfata već i kao prediktor mortaliteta. Klotho može sprečiti vaskularne kalcifikacija na najmanje dva načina: membranski Klotho obezbeđuje fosfaturičnu aktivnost FGF23 i sprečava hiperfosfatemiju, dok sekretorni Klotho inhibira unos fosfata u vaskularne glatko

mišićne ćelije nezavisno od FGF23. Polimorfizam u promotornom regionu gena Klotho G395A povezan je sa hipertenzijom, aterosklerozom, metaboličkim sindromom, koštanom gustinom, polom i pušenjem.

Kod 140 pacijenata na hemodijalizi i 80 kontrola određivani su koncentracije kalcijuma, fosfora, alkalne fosfataze (AF), PTH, vitamina D, FGF23, a Klotho protein i genski polimorfizam G-395A *Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) metodom. Kod G395A polimorfizma najzastupljeniji genotip je bio GG kod 66.15% bolesnika, GA kod 31.54% i AA kod 2.31%. Zastupljenost G alela je bila 81.92%, a A alela 18.08%. Nije dokazana povezanost polimorfizma sa koncentracijom kalcijuma, fosfora, PTH, vitamina D ili FGF23, ali je u korelaciji sa starošću preko 65 godina i ženskim polom. FGF23 korelira sa koncentracijom fosfora.

Koštano-bubrežno-paratiroidno-endokrina osa, uz Klotho i FGF23, mogli bi da postanu glavna meta za terapijske postupke. Dalja istraživanja će utvrditi da li farmakološka manipulacija aktivnošću FGF23 može biti od koristi u tretmanu vaskularnih i/ili mekotkivnih kalcifikacija.

Ključne riječi: fibroblastni faktor rasta 23, hemodijaliza, metabolizam kostiju

NAPREDNE DIJAGNOSTIČKE I TERAPIJSKE STRATEGIJE U POREMEĆAJIMA TROMBOCITA

Izazovi u dijagnostici i liječenju TMA - tromboznih mikroangiopatija

*Danilo Radunović¹, Ivana Radunović¹, Vladimir Prelević¹, Filip
Tomović¹, Tanja Antunović², Milena Dapčević³, Zoltán
Prohászka⁴*

*¹Klinika za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju, Klinički centar Crne
Gore, Podgorica, Crna Gora*

*²Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne
Gore, Podgorica, Crna Gora*

*³Interna klinika, Odjeljenje za hematologiju, Klinički centar Crne Gore;
Podgorica, Crna Gora*

*⁴Semmelweis University, Dept. of Internal Medicine and Hematology,
Research Laboratory*

Uvod: Hemolitičko-uremijski sindrom (HUS) je akutno, fulminantno oboljenje koje karakteriše trombocitopenija, mikroangiopatska hemolitička anemija i akutna bubrežna insuficijencija. HUS se obično javlja kod djece nakon infekcije, tipično bakterijama koje proizvode šiga toksin (npr. *Escherichia coli* O157:H7), ali se može javiti i kod odraslih. Dijagnoza zahtjeva dokazivanje karakterističnih abnormalnosti u laboratorijskim nalazima, uključujući direktni antiglobulinski test negativnu hemolitičku anemiju. Dijagnostika atipičnog HUS-a se obavlja u specijalizovanim laboratorijama i terapijski pristup pacijentu zavisi od toga.

Metode: Vrste liječenja, dijagnostički postupci i ishodi kod pacijenata sa HUS-om u Kliničkom centru Crne Gore u proteklim godinama.

Rezultati: U protekle dvije godine, sedam pacijenata sa potvrđenim HUS-om liječeno je u jedinicama intenzivne njege Kliničkog centra Crne Gore. Tri pacijenta su imala tipični HUS uzrokovan *Escherichia coli* bakterijom koja produkuje šiga toksin (STEC) nakon gastroenteritisa, sa blažim simptomima, ali sa akutnom bubrežnom insuficijencijom (AKI).

Četiri pacijenta su imala atipični HUS, svi sa teškim simptomima, AKI i multiorganskom insuficijencijom (MOF). Pacijenti sa atipičnim HUS-om su liječeni kontinuiranom renalnom nadomjesnom terapijom, u kontinuiranom veno-venskom hemodijafiltracija modalitetu (CRRT-CVVHDF) radi zbrinjavanja AKI i uklanjanja inflamatornih citokina i faktora komplementa. Hemoperfuzija sa *Oxyris* membranom je korišćena za uklanjanje medijatora sepse. Dodatno, svi pacijenti su podvrgnuti terapijskoj izmjeni plazme (TIP) sa šest sesija svježe smrznute plazme zbog koagulopatije i trombocitopenije. Primijenjeni su intravenski kortikosteroidi, rehidracija, antibiotici širokog spektra i suportivna terapija.

Jedna pacijentkinja je razvila atipični HUS tokom trudnoće, uspješno je liječena CRRT-om, TIP-om i kortikosteroidima, postizujući remisiju bolesti i oporavak bubrega. Drugi pacijent je razvio transfuzijom izazvano akutno oštećenje pluća (TRALI) nakon sedam TIP sesija, zahtijevajući neinvazivnu ventilaciju (NIV) radi respiratorne stabilnosti.

U četiri slučaja atipičnog HUS-a, konvencionalna terapija je bila neuspješna, što je zahtijevalo biološko liječenje

ravulizumab-om, primijenjeno u inicijalnim i kontrolnim intervalima.

Prije hitne terapijske izmjene plazme, uzeti su uzorci krvi za testiranje komponenti sistema komplementa i genetskih poremećaja regulatora sistema komplementa, koji su nakon adekvatne obrade u laboratoriji Kliničkog centra Crne Gore poslati u specijalizovanu laboratoriju u Budimpešti (*Semmelweis University, Research Laboratory*). Protočna citometrija je takođe urađena u Kliničkom centru Crne Gore kako bi se isključila akutna leukemija (AL) i paroksizmalna noćna hemoglobinurija (PNH).

Rezultati iz istraživačke laboratorije u Budimpešti su nam dali uvid u: aktivnost ADAMTS13 metaloproteaze, ukupnoj aktivnosti komplementa, ukupnoj aktivnosti komplementa klasičnog puta (hemolitički test), alternativnom putu (WIELISA-Alt), komplementu C3, komplementu C4, antigenu faktora H, antigenu faktora I komplementa, antigenu faktora B komplementa, anti-faktor H IgG autoantitijelima, C1q antigenu (mg/L), anti-C1q IgG autoantitijelima, sC5b-9 (terminalnom litičkom kompleksu komplementa), haptoglobinu i genetskoj analizi. Genetska analiza je identifikovala 3-4 mutacije po pacijentu povezane sa HUS-om, uključujući polimorfizme gena CFH i C3. U slučaju HUS-a povezanog sa trudnoćom, zabilježene su delecije CFHR1 i CFHR4.

Svi pacijenti liječeni ravulizumab-om primali su profilaksu moksifloksacin-om radi prevencije meningokoknih infekcija, s obzirom na odsustvo prethodne vakcinacije. Prevencija infekcija ostaje primarni izazov u zbrinjavanju ovih slučajeva.

Zaključak: Brza i efikasna dijagnoza komponenti HUS-a i saradnja između laboratorija i klinika, kao i izbor terapija u skladu sa dobijenim rezultatima, mogu rezultirati velikim uspjehom u liječenju ove još uvijek visoko letalne bolesti.

Ključne riječi: trombozna mikroangiopatija, hemolitičko-uremijski sindrom, dijagnoza, liječenje

Tretman imunološke trombocitopenije udružene sa malignitetom

Milena Dapčević¹

¹Odjeljenje za hematologiju, Interna klinika, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Trombociti su krvne ćelije esencijalne za hemostazu. Potiču od megakariocita u koštanoj srži i razvijaju se kroz proces trombopoeze. U normalnim okolnostima broj trombocita se kreće od 150000 do 350000 u mcl, a životni vijek im je od 7 do 10 dana. Trombopoetin (TPO) je hormon koji se primarno proizvodi u jetri, bubrezima i koštanoj srži, a reguliše proizvodnju trombocita stimulacijom proliferacije i diferencijacije megakariocita.

14 Imunološka trombocitopenija je autoimuna bolest uzrokovana IgG antitrombocitnim antitijelima, a karakterisana niskim brojem trombocita, purpurom i hemoragijskim epizodama, uz uredan broj leukocita i normalan nivo hemoglobina.

Primarna imuna trombocitopenijska purpura (ITP) se razvija bez poznatog uzroka, dok se sekundarna ITP povezuje sa reakcijama na lijekove, autoimunim bolestima kao što je sistemski eritemski lupus (SLE), malignitetima i infekcijama.

International Working Group (IWG) definiše nekoliko kliničkih faza ITP:

1. novodijagnostikovana
2. perzistentna
3. hronična
4. refraktorna

Dijagnoza se postavlja metodom isključivanja poznatih uzroka trombocitopenije.

Imunološka trombocitopenija može biti povezana sa limfoproliferativnim poremećajima ili solidnim tumorima. Neophodna je sistematska evaluacija odgovora na terapiju iz publikovane literature da bi se odredio adekvatan terapijski pristup ITP povezanoj sa malignitetom.

Prva terapijska linija, steroidi +/- imunoglobulini, pokazala se prema podacima iz literature manje uspješnom od druge linije (splenektomija, rituximab, TPO agonisti (TPO-RA)).

Ukupni odgovor (OR) nakon prve linije kretao se oko 50%, što je u poređenju sa primarnom ITP značajno slabiji odgovor (kreće se oko 80%). OR nakon primjene rituximaba (primjenjivan kod LPD) kretao se oko 70%, dok su TPO-RA dostizali OR i preko 90%, što je slično kao kod primarne ITP.

ITP povezana sa malignitetom prema podacima iz literature ima nezadovoljavajući odgovor na prvu terapijsku liniju.

Ključne riječi: imunološka trombocitopenija, malignitet, liječenje

Određivanje funkcije trombocita – kome, kada i kako?

Anamarija Bogić¹

¹Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Trombociti su aktivni sudionici u procesu primarne i sekundarne hemostaze, odnosno igraju glavnu ulogu u zaustavljanju krvarenja. Građa i sastav trombocita ključni su u procesu stvaranja primarnog trombocitnog ugruška djelovanjem agonista (poput adenzin difosfata (ADP-a), kolagena, adrenalina, trombina) koji dovode do adhezije, aktivacije, promjene oblika, degranulacije i agregacije trombocita. Razumijevanje funkcije trombocita ključno je u dijagnostici poremećaja krvarenja, a laboratorijski testovi trebaju se koristiti ciljano, u skladu s kliničkom slikom i sumnjom na određeni poremećaj. Određivanje funkcije trombocita omogućuje prepoznavanje nasljednih (Glanzmann-ova trombastenija, Bernard-Soulier-ov sindrom) i stečenih poremećaja funkcije trombocita (uremija, bolesti jetre, primjena lijekova poput aspirina, *nonsteroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID), tienopiridina) koji mogu dovesti do pojačanog krvarenja. Određenim testovima funkcije trombocita moguće je pratiti učinkovitost antitrombocitne terapije kako bi se provjerilo djeluje li lijek kako treba, te postoji li rezistencija na lijek ili potreba za prilagodbom doze lijeka.

U ovom će predavanju, prema međunarodnim preporukama biti pojašnjen dijagnostički pristup kod sumnje na poremećaje funkcije trombocita uz racionalno korištenje laboratorijskih testova. Poseban naglasak bit će na laboratorijske metode za određivanje funkcije trombocita, njihova načela rada, prednosti i nedostatke, tumačenje rezultata, te važnost pripreme pacijenata za uzorkovanje uz ostale predanalitičke zahtjeve za izvođenje testova funkcije trombocita. Od dostupnih testova funkcije trombocita na tržištu najdetaljnije će se opisati vrijeme krvarenja po Ivy-u, testovi za ispitivanje kapaciteta primarne hemostaze koji se temelje na agregaciji trombocita pod tlakom sličnim u arterijama upotrebom analizatora funkcije trombocita PFA-200 i testovi koji se temelje na agregaciji trombocita poput optičke i impedancijske agregometrije trombocita te lumiagregometrije trombocita. Istaknut će se važnost uzimanja pravilne anamneze, evaluacije tipa krvarenja, pravilnog tumačenja probirnih testova, te prikazati razlike između nasljednih i stečenih poremećaja funkcije trombocita upotrebom optičke agregometrije trombocita, koja se smatra zlatnim standardom za procjenu funkcije trombocita. Kroz prikaze slučajeva ukazat će se na važnost pravilnog tumačenja laboratorijskih pretraga u diferencijalnoj dijagnostici poremećaja funkcije trombocita.

Ključne riječi: trombociti, dijagnostika

LABORATORIJA BUDUĆNOSTI

Uloga digitalizacije u optimizaciji procesa rada u medicinskim laboratorijama

Snežana Jovičić¹

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

Digitalizacija ili digitalna transformacija kliničkih laboratorija predstavlja proces koji podrazumeva korišćenje digitalnih tehnologija za prikupljanje podataka, automatizaciju procesa, uspostavljanje trendova i obeležavanje boljih poslovnih odluka. Uspešna digitalizacija unutar laboratorije zahteva povezivanje što više procesa, instrumenata, ljudi, sistema i potrošnog materijala. Iz ovog povezanog laboratorijskog okvira mogu se izgraditi automatizovani tokovi rada koji poboljšavaju produktivnost. Ključnu ulogu u ovom procesu imaju digitalne tehnologije – Internet stvari (*Internet of Things*, IoT), veštačka inteligencija (*Artificial Intelligence*, AI) i mašinsko učenje (*Machine Learning*, ML), koje pomeraju fokus medicinskih biohemičara sa rutinskog na složeniji i sadržajniji rad. U ovom procesu transformacije, orijentisanom na implementaciju naprednih tehnologija i digitalno zdravlje, kvalitet ostaje u centru pažnje smanjenjem frekvencije pojave laboratorijskih grešaka i eliminisanjem nepotrebnih testiranja. Sa druge strane, *demand management*, odnosno upravljanje zahtevima za laboratorijskim ispitivanjima, i konsultacije u vezi sa rezultatima laboratorijskih testova postaće osnovne komponente opterećenja kliničke laboratorije. Pored kontrole

kvaliteta i većina ostalih zahteva za implementaciju laboratorijske medicine zasnovane na vrednostima u kliničkoj praksi zahteva implementaciju digitalizacije. Njen direktan doprinos je integracija centralizovanog i decentralizovanog testiranja. Dalje, digitalizacija medicinskih laboratorija i dijagnostike uopšte neminovno vodi oslobađanju laboratorijske dijagnostike iz svog “silosa” i implementaciji integrisane dijagnostike. Razbijanjem “silosa” i obezbeđivanjem integrisanih izveštaja kroz procese digitalizacije, glavne dijagnostičke discipline (laboratorijska medicina, radiologija i patologija) mogu da se integrišu u jedinstvena dijagnostička odeljenja. To bi trebalo da omogući bolju interpretaciju dijagnostičkih podataka i implementaciju personalizovane medicine. Takođe, postoji potreba da se laboratorijsko testiranje poveže sa tokom lečenja pacijenata i da se proceni njegov uticaj na nishodne zdravstvene ishode, uključujući kliničke, operativne, ekonomske i druge domene. Implementacija digitalizacije u medicinskim laboratorijama i zdravstvenom sistemu u celini bi trebalo da to omogući.

Ključne riječi: digitalizacija, medicinske laboratorije

Podatci kao izvor novih znanja u digitalnom dobu

Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

¹Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

²Katedra za biomedicinsku informatiku, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci; Rijeka, Hrvatska

Digitalna transformacija u 21. stoljeću zahvaća sve aspekte privatnog i profesionalnog života. Iz tog je izraza fokus većine usmjeren na riječ „digitalna“ koje sažima tehnologiju, komunikaciju, procese, proizvode i postupke digitalne tehnologije, međutim daleko je važnije i složenije usmjeriti se na riječ transformacija. Transformacija predstavlja promjene u načinu rada, pristupa problemima, oblikovanju problema, njihovom rješavanju te iskorištenju promjene u smislu napretka i stvaranja dodane vrijednosti i novih znanja. Izazov digitalnog doba upravo je u prilagodbi i promjeni, a dobitak ne samo u unaprjeđenju postojećih nego i stjecanju novih znanja.

U središtu digitalne transformacije, kao i informatičke znanosti jest podatak. Medicinska znanost je kumulativna, proizvodi stoljećima podatke o bolesnicima, prikuplja ih, obrađuje i usustavljuje čineći znanje koje učimo i primjenjujemo u suvremenoj medicini za dobrobit života. Danas, kao nikada u povijesti moguće je iz podataka crpsti nova znanja. Laboratorijska medicina prednjači u količini proizvedenih podataka te primjeni tehnologije u načinu njihova dobivanja tj. mjerenja.

Pojedinačni podatak nema znatnu vrijednost, međutim obradom podataka nastaju informacije, a usustavljanjem informacija gradi se znanje. Postupci obrade podataka pri tome mogu dati posve nova znanja čime skupovi podataka postaju vrijedan medij za istraživanja. Kako analiza bioloških uzoraka daje podatke i informacije od ključne vrijednosti za donošenja medicinskih odluka, tako analiza skupova podataka daje informacije koje mogu značajno doprinijeti znanosti. Pri tome je nužno u tom procesu voditi računa o kvaliteti podataka i o odgovornosti spram podataka te tehnologijama i tehnikama koje omogućuju njihovu analizu. Kako je za laboratorijsku analizu ključna kvaliteta uzoraka, tako je za analizu podataka ključna njihova kvaliteta.

Put od osnovnih analiza baza podataka postavljenjem jednostavnih pitanja, preko BI (engl. *business intelligence*) alata, prepoznavanja obrazaca (engl. *pattern recognizing*), modela strojnog učenja (engl. *machine learning*) do umjetne inteligencije (AI, engl. *artificial intelligence*) vodi prema novim otkrićima, ali i pomoći u svakodnevnom radu u laboratorijskoj medicini. Primjere nalazimo u protokolima autovalidacije, refleksnim i reflektivnim analizama, sustavima za medicinsko odlučivanje, optimizaciji laboratorijskih procesa pri potpunoj automatizaciji, procesima u upravljanju zalihama, dokumentima, itd.

Proces digitalne transformacije nije pojava koja je pred nama, već smo u nju duboko zagazili. Kako bi uspješno iskoristiti alate koji su nam na raspolaganju nužno je prihvatiti nove pristupe, iskoristiti podatkovne resurse, razumjeti i naučiti ih koristiti te se povezati u multidisciplinarne timove

koji će omogućiti znatno poboljšanje laboratorijske djelatnosti na dobrobit struke i pacijenata.

Ključne riječi: digitalna transformacija, društvo, medicinske laboratorije

Inovacije u laboratorijskoj logistici - gdje smo mi?

Tamara Knežević¹

¹Biohemijska laboratorija, Opšta bolnica "Blažo Orlandić", Bar, Crna Gora

Posljednjih tridesetak godina desile su se velike promjene u laboratorijama širom svijeta kao što su inovacije u dizajnu analiza, manuelno izvođenje hemijskih reakcija je zamijenjeno automatskim procesima, a u novije doba automatizacijom su obuhvaćene preanalitička i postanalitička faza procesa rada.

Razvoj tehnologija na globalnom planu donio je novine i u laboratorije. Jedna od njih je upotreba dronova u transportu uzoraka pacijenata. Dronovi se koriste za transport uzoraka u urgentnim stanjima kada je potrebno što ranije dobiti rezultat testiranja, a transport konvencionalnim vidovima ne omogućuje adekvatnu brzinu dostave uzoraka.

Takođe, koriste se i koboti (kolaborativni roboti) koji su dizajnirani da rade sa čovjekom za razliku od industrijskih robota. Koboti obavljaju sortiranja uzoraka, skidanje i stavljanje čepova na epruvete, transportuju uzorke i vrše

ponavljajuće radnje omogućujući osoblju vrijeme za kompleksnije zadatke.

Hibrid Lab automation (HLA) je novi koncept organizacije rada u laboratorijama koji ukazuje da za adekvatan odgovor dijagnostičkim zahtjevima nije dovoljna samo upotreba tehnoloških dostignuća već saradnja i dopunjavanje ljudskih resursa i tehnologija.

Jedan od primjera HLA je i pneumatski transportni sistem (PTS) koji postoji već duži niz godina u Evropi, a od maja 2022. godine i u Crnoj Gori. Opšta bolnica u Baru je kao jedan od učesnika INTEREREG IPA-CBC projekta prekogranične saradnje sa Hrvatskom i Bosnom i Hercegovinom instalirala kasetni PTS. Sistemom cijevi povezana su sva odjeljenja, apoteka, Zavod za transfuziju i Biohemijska laboratorija. Do najudaljenije tačke uzorak putuje nepuna dva minuta.

Vršena su brojna ispitivanja da li PTS utiče na kvalitet uzorka. Istraživanje koje smo mi sprovedi nije pokazalo statističku značajnu razliku u kvalitetu uzorka koji je transportovan PTS u odnosu na netransportovan.

Značaj PTS je višestruk: brža dostava uzoraka u laboratoriju i samim tim je kraće vrijeme izdavanja nalaza, smanjuje se mogućnost prenosa uzročnika infektivnih bolesti, a medicinski tehničari dobijaju više vremena za obavljanje drugih poslova na odjeljenjima.

Ključne riječi: laboratorijska logistika, inovacije

23

SKRINING NOVOROĐENČADI

Organizacija i provođenje novorođenačkog probira u Republici Hrvatskoj

Ksenija Fumić^{1,2}

¹Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

²Medicinski fakultet, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu; Zagreb, Hrvatska

Novorođenački probir za određenim rijetkim metaboličkim i drugim prirođenim bolestima je sustav organiziranog traganja u cjelokupnoj novorođenačkoj populaciji neke zemlje s ciljem njihova prepoznavanja prije nego izazovu posljedice po zdravlje djeteta. Takav dijagnostički pristup nije samo laboratorijski test, već složen program, za čije je uspješno funkcioniranje potrebna odgovarajuća podrška državnih ustanova, koordinirani rad velikog broja zdravstvenih djelatnika kao i suradnja roditelja.

Novorođenački probir u Republici Hrvatskoj obavezna je mjera zdravstvene zaštite svakog novorođenčeta. Probir je centraliziran i provodi se u Kliničkom bolničkom centru Zagreb gdje pristižu uzorci suhe kapi krvi na filtarskom papiru iz sva 32 rodilišta. Započelo se 1978. godine probirom na fenilketonuriju, 1985. godine dodana je konatalna hipotireoza, a 2017. godine uvođenjem tehnologije tandemske spektrometrije masa probir je proširen na još šest rijetkih nasljednih metaboličkih poremećaja: nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze srednjih lanaca, nedostatak 3-OH-acil-CoA-dehidrogenaze

dugih lanaca, nedostatak acil-CoA-dehidroge-naze vrlo dugih lanaca, nedostatak karnitinskog nosača, izova-leričku aciduriju i glutarnu aciduriju tipa I. Od 2023.godine u probir je uvrštena i spinalna mišićna atrofija.

Organizacijski se proces novorođenačkog probira može podijeliti na: prijeanalitičke postupke, analitički dio i postupke nakon pozitivnoga novorođenačkog probira. Pri tome svaka zemlja ima svoje specifičnosti. Međutim, jedino dobro organizirano i usklađeno djelovanje na sve tri razine može u konačnici donijeti dobrobiti novorođenčetu, njegovoj obitelji i društvu u cjelini.

Ključne riječi: neonatalni skrining, Hrvatska

Neonatalni skrining za SMA: kako pravovremena dijagnoza menja život

Miloš Brkušanin¹

¹Centar za humanu molekularnu genetiku, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu , Beograd, Srbija

Biohemijski neonatalni skrining u Republici Srbiji započeli su 1980-ih godina, uvođenjem testiranja na fenilketonuriju i kongenitalni hipotiroidizam. Ovaj program je proširen 2021. godine uključivanjem cistične fibroze. Ključni iskorak u razvoju neonatalnog skrininga dogodio se iste godine, pokretanjem inicijative za implementaciju prvog genetičkog skrininga u novorođenačkom periodu – skrininga na spinalnu mišićnu atrofiju (SMA). Skrining na SMA je centralizovan u Centru za humanu molekularnu genetiku Biološkog fakulteta u Beogradu,

ustanovi koja se bavi istraživanjem i dijagnostikom SMA od 1997. godine. Iako Biološki fakultet nije deo zdravstvenog sistema, Vlada Republike Srbije ga je zvanično imenovala kao jedinu nacionalnu instituciju sa kapacitetom i stručnim znanjem potrebnim za sprovođenje skrininga na SMA.

Ideja o uvođenju skrininga na SMA bila je zasnovana na naučno potvrđenoj činjenici da rana terapijska intervencija ima najznačajniji efekat ukoliko se primeni u najranijim fazama bolesti, pre pojave simptoma. Proces implementacije je obuhvatio tehničku validaciju testa, saradnju sa udruženjima pacijenata i zdravstvenim radnicima, sprovođenje pilot projekta i pregovore sa nadležnim državnim institucijama. Pilot projekat je rezultirao pravovremenim otkrivanjem SMA kod tri presimptomatska novorođenčeta, čime je potvrđena klinička i javnozdravstvena opravdanost uvođenja ovog skrininga. Na osnovu ovoga, 15. septembra 2023. godine, skrining na SMA zvanično je postao deo nacionalnog programa neonatalnog skrininga. Do danas je testirano više od 95.000 novorođenčadi, a bolest je dijagnostikovana kod deset beba koje su blagovremeno dobile odgovarajuću terapiju. Nije zabeležen nijedan lažno negativan rezultat.

Uvođenje skrininga za SMA predstavlja primer uspešne saradnje akademske zajednice, udruženja pacijenata i farmaceutskih kompanija, uz podršku državnih institucija, u cilju unapređenja zdravstvene zaštite novorođenčadi. Ovaj skrining ne samo da je poboljšao ishode za decu sa SMA i njihove porodice, već je otvorio put ka daljoj ekspanziji genetičkog skrininga u neonatalnoj praksi u Srbiji, označavajući početak nove ere u savremenoj neonatalnoj medicini.

Ključne riječi: neonatalni skrining, spinalna mišićna atrofija, Srbija

Važnost sprovođenja neonatalnog skrininga na fenilketonuriju

Božica Kecman¹

¹Odeljenje za ispitivanje i lečenje metaboličkih bolesti, Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta, Beograd, Srbija

Pod hiperfenilalaninemijom se podrazumeva povišena koncentracija fenilalanina preko 120 $\mu\text{mol/L}$ (2 mg%), dok je fenilketonurija bolest koja nastaje kao posledica povišenih vrednosti fenilalanina. Nastaje usled poremećaja u hidrosilaciji aminokiseline fenilalanina u tirozin. Kao posledica poremećaja funkcije enzima fenilalanin hidrosilaze dolazi do povećanja koncentracije fenilalanina i njegovih metabolita u tkivima i njihovog oštećenja, prevashodno centralnog nervnog sistema. Klinička slika nelečenih pacijenata sa fenilketonurijom zavisi od koncentracije fenilalanina u krvi i likvoru i dužine trajanja ovog poremećaja. Odlikuje je zaostajanje u psihomotornom razvoju, epilepsija, psihijatrijski poremećaji, kao i poremećaji u ponašanju.

Zahvaljujući neonatalnom skriningu bolest se dijagnostikuje blagovremeno. Organizovani skrining na ovu bolest u Republici Srbiji se sprovodi od 1983. godine. Radi određivanja koncentracije fenilalanina u krvi do 2006. godine primenjivan je test bakterijske inhibicije (Gatri test), potom spektrofotometrijsko

merenje do 2019, od kada se koristi fluorometrijska metoda određivanja fenilalanina u krvi.

Evropske preporuke iz 2017. godine sugerišu da treba uvesti dijetu sa smanjenim unosom fenilalanina svakom novorođenčetu koje ima fenilalanin preko 360 $\mu\text{mol/L}$ (6 mg%). Osnovni ciljevi lečenja su: sprečiti nakupljanje prekomerenog fenilalanina u krvi strogom kontrolom unosa prirodnih proteina odnosno fenilalanina, zamena prirodnih proteina koji su uklonjeni iz ishrane mešavinom aminokiselina bez fenilalanina, kao i postizanje normalnog rasta, razvoja i uhranjenosti.

Sprovođenje novorođenačkog skrininga na fenilketonuriju je preduslov za ranu, već u prvim danima života, primenu dijetе sa smanjenim unosom fenilalanina kako bi se sprečilo ireverzibilno oštećenje mozga. Adekvatno pridržavanje dijetе omogućava normalan mentalni razvoj obolele dece, a potom i dobar kvalitet života kao odrasle osobe.

Ključne riječi: neonatalni skrining, fenilketonurija

15 godina novorođenačkog skrininga na kongenitalni hipotireoidizam u Crnoj Gori

Jelena Jovović¹

28

¹Institut za bolesti djece, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Neliječeni kongenitalni hipotiroidizam (KH) dovodi do intelektualnih poteškoća. Brza dijagnoza skriningom novoro-

đenčadi (NS) kao i rano i adekvatno započinjanje liječenja dovodi do potpuno normalnog neurokognitivnog razvoja u odrasloj dobi.

U Crnoj Gori nacionalnim programom skrininga na hipotireozu koji je započet 2007. godine, obuhvaćena su sva porodilišta u državi, a skrining se sprovodi mjerenjem vrijednosti tireostimulišućeg hormona.

Početni tretman KH je levotiroksin, 10-15 mcg/kg dnevno. Cilj liječenja je održavanje eutiroidnog stanja, tj. normalnih vrijednosti TSH uz slobodni tiroksin u gornjoj polovini referentnog opsega specifičnog za uzrast, tokom prve 3 godine života. Ostaju kontroverze u vezi procjene disfunkcije štitne žlijezde u posebnim populacijama, uključujući nedonošćad ili novorođenčad sa malom težinom i novorođenčad sa prolaznom ili blagom KH, trizomijom 21 ili centralnim hipotiroidizmom.

Samo skrining novorođenčadi nije dovoljan da spriječi neželjene ishode KH u pedijatrijskoj populaciji. Pored NS, liječenje KH zahtijeva blagovremenu potvrdu dijagnoze, tačnu interpretaciju ispitivanja funkcije štitaste žlijezde, efikasan tretman i dosledno praćenje. Ljekari treba da razmotre hipotireozu u odnosu na kliničke simptome, čak i ako su rezultati NS testa štitaste žlijezde normalni. Kada su prisutni klinički simptomi i znaci hipotireoze (kao što su velika zadnja fontanela, veliki jezik, pupčana hernija, produžena žutica, konstipacija, letargija i/ili hipotermija), indikovano je mjerenje serumskog tireostimulišućeg hormona i slobodnog tiroksina, bez obzira na rezultate NS.

Gljučne riječi: kongenitalni hipotireoidizam, neonatalni skrining, terapija

LABORATORIJSKI MENADŽMENT: VODIČ KA EFEKTIVNOJ I USPJEŠNOJ LABORATORIJSKOJ DJELATNOSTI

Vještine i alati upravljanja savremenom kliničkom laboratorijom: izazovi i strategija za uspjeh

Nevena Terzić Stanić¹

*¹Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne
Gore, Podgorica, Crna Gora*

Menadžment (*management*) je riječ engleskog porijekla, što u prevodu znači rukovođenje, odnosno upravljanje poslovnom aktivnošću kroz proces planiranja, organizovanja, vođenja i kontrole, sa ciljem postizanja i ostvarenja definisanih ciljeva poslovnog sistema.

Upravljanje savremenom kliničkom laboratorijom obuhvata širok spektar aktivnosti ključnih za nesmetan svakodnevni rad. U konačnom, svaka klinička laboratorija ima za cilj blagovremeno pružanje pouzdanih, preciznih i tačnih rezultata ispitivanja, na osnovu kojih se donose odluke o daljem liječenju i njezi pacijenata.

30 Ove aktivnosti se kreću od koordinacije svakodневnih laboratorijskih operacija, upravljanja resursima i finansijama, planiranja i analize podataka, usmjeravanja, razvoja i motivisanja zaposlenog osoblja, implementacije novih metoda, tehnologija i digitalnih alata, osiguravanja usklađenosti sa svim relevantnim propisima i standardima, rukovođenja sistemom

menadžmenta kvalitetom i održavanja visokog nivoa bezbjednosti u laboratoriji.

Upravljanje laboratorijom obuhvata i manje opipljive, ali jednako važne zadatke, kao što je njegovanje tradicije i pozitivne laboratorijske kulture sa olakšanom komunikacijom kako među članovima stručnog tima tako i sa kolegama kliničarima.

Rukovodioci savremenih kliničkih laboratorija imaju izazov i zadatak da razvijaju strukturalne puteve ekološke održivosti i teže ka implementaciji programa zelene laboratorije.

Efikasno upravljanje laboratorijom ne samo da održava laboratoriju organizovanom, već pokreće inovacije, obezbjeđuje usklađenost sa bezbjednosnim i regulatornim standardima i omogućava laboratoriji da optimizuje proces rada i dostigne svoj puni potencijal.

Ključne riječi: menadžment, klinička laboratorija

GASTROINTESTINALNI I HEPATIČNI BIOMARKERI / BIOMARKERI RIJETKIH METABOLIČKIH POREMEĆAJA

Značaj nivoa žučnih kiselina u kliničkoj praksi

Damir Muhović^{1,2}

*¹Interna klinika, Odjeljenje za gastrenterohepatologiju, Klinički centar
Crne Gore, Podgorica, Crna Gora*

²Medicinski fakultet, Univerzitet Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Jetra uklanja žučne kiseline iz portalne cirkulacije zbog prisustva transportera žučnih kiselina na sinusoidnoj membrani hepatocita. Visoka efikasnost ekstrakcije (klirens prvog prolaza je 75–90%) je razlog za niske nivoe ukupnih žučnih kiselina (TBA) u perifernoj krvi (2–10 mmol/L) u poređenju sa portalnim koncentracijama žučnih kiselina (60–80 mmol/L). Bilo kakvo smanjenje efikasnosti ekstrakcije uzrokovano smanjenjem protoka krvi u jetri i/ili oštećenjem hepatocelula ili bilo kakvim urušavanjem funkcije jetre, rezultiraće povećanjem nivoa ukupnih žučnih kiselina u serumu.

Nivoi TBA u serumu ili plazmi su osjetljivi indikatori funkcije jetre kod svih vrsta, odražavajući i sintezu, sekreciju i reapsorptivne funkcije jetre. Stoga će testiranje TBA u serumu pomoći u otkrivanju promjena u funkciji jetre prije formiranja uznapredovalih kliničkih znakova bolesti kao što je ikterus. Ova rana osjetljivost je veoma važna u kliničkoj dijagnozi jer omogućava liječenje prije nego što dođe do ozbiljnijeg oštećenja jetrinog tkiva. Studije na ljudima sa različitim

bolestima jetre, pokazale su da se serumski TBA može koristiti za procjenu hepatične disfunkcije, sa vrijednim informacijama koje ne pružaju konvencionalni testovi sa nivoima serumskih enzima jetre kao što su alanin aminotransferaza (ALT) i aspartat aminotransferaza (AST). Važno je razlikovati informacije koje pružaju enzimi jetre (ALT, AST) i TBA. ALT i AST su enzimi koji se oslobađaju iz oštećenih ćelija jetre i stoga su indikatori integriteta hepatocelula. TBA je indikator funkcije jetre. Međutim, test neće pružiti definitivnu dijagnozu primarnog problema, već samo ranu potvrdu da postoji hepatobilijarni deficit. Stoga, kada pacijent dobije žuticu, koristi od testiranja TBA opadaju osim ako se ne koriste za praćenje odgovora na liječenje.

Postoji dokazana veza nivoa TBA sa različitim bolestima gastrointestinalnog trakta: inflamatornom bolesti crijeva, disbiozom, karcinomom želuca, zatim sa hepatobilijarnim bolestima: intrahepatičnomolestazom u trudnoći, primarnim bilijarnim holangitisom i primarnom bilijarnom cirozom, sa metaboličkim bolestima: insulinskom rezistencijom i dijabetes melitusom, kardiovaskularnim bolestima i metaboličkim sindromom, kao i neurodegenerativnim bolestima.

Ključne riječi: žučne kiseline, klinički značaj

Laboratorijsko praćenje maligniteta gastrointestinalnog trakta – poznati i novi biomarkeri

Anđelka M. Isaković¹

¹Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Gastrointestinalni (GI) karcinomi, uključujući kolorektalni i karcinome želuca i jetre, značajan su deo globalnog opterećenja mortalitetom i morbiditetom povezanim sa malignim bolestima. Uprkos napretku u radiološkoj dijagnostici i terapijskim modalitetima, mnogi GI karcinomi se i dalje dijagnostikuju u uznapredovalim stadijumima, što značajno ograničava efikasnost lečenja. Biomarkeri – merljivi pokazatelji patoloških procesa, igraju sve važniju ulogu u ranoj dijagnostici, proceni prognoze i praćenju terapijskog odgovora, kao dopuna postojećim dijagnostičkim metodama.

Nekoliko biomarkera iz krvi se rutinski koristi u kliničkoj praksi. Karcinoembrionalni antigen (CEA) često se koristi za dijagnostiku i praćenje kolorektalnog karcinoma (CRC), dok CA 19-9 i alfa-fetoprotein (AFP) služe kao pokazatelji za pankreasne, gastrične i karcinome jetre. Kod hepatocelularnog karcinoma (HCC), kombinacije kao što su AFP sa des- γ -karboksiprotrombinom (DCP) i AFP-L3 povećavaju dijagnostičku preciznost. Ipak, mnogi od ovih markera imaju ograničenja u pogledu specifičnosti i senzitivnosti, što podstiče potragu za pouzdanijim alternativama.

Novi biomarkeri nude obećavajući napredak u laboratorijskom praćenju GI karcinoma. Cirkulišuća tumorska DNK

(ctDNA), koja sadrži genetske i epigenetske promene specifične za tumor, sve više dobija na značaju kao neinvazivna metoda za detekciju i praćenje bolesti, posebno kod CRC-a. Egzozomski biomarkeri, uključujući mikroRNK (npr. miR-21, miR-1246) i duge nekodirajuće RNK, pokazali su potencijal u proceni progresije tumora, postojanja metastaza i rezistencije na terapiju. Takođe, proteinski markeri kao što su glipikan-3 (GPC3) i Goldžijev protein 73 (GP73) ispituju se kao precizniji pokazatelji za dijagnostiku HCC.

Nove klase biomarkera, uključujući cirkularne RNK, male nukleolarne RNK i mikrobiotske pokazatelje poput *Fusobacterium nucleatum*, proširuju spektar molekularne dijagnostike. Oni nude nove uvide u biologiju tumora i potencijal za personalizovan pristup u lečenju karcinoma.

Iako obećavaju, ovi biomarkeri zahtevaju dodatnu kliničku validaciju kroz opsežne studije. Njihova uspešna integracija u kliničku praksu mogla bi da značajno unapredi ranu dijagnostiku, stratifikaciju rizika i terapijsko praćenje ishoda GI karcinoma, što bi dovelo do boljih ishoda lečenja pacijenata.

Ključne reči: GI karcinomi, biomarkeri, praćenje

Antinuklearna antitijela - klasifikacija, nomenklatura, značaj

Tamara Jovičević¹

¹Odjeljenje za imunologiju, Centar za genomsku medicinu i imunologiju, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Antinuklearna antitijela (ANA) čine heterogenu populaciju autoantitijela specifičnih za raznovrsne intracelularne antigene. Postoji tendencija da se u skorijoj budućnosti istorijski naziv antinuklearnih antitijela zamijeni prikladnijim nazivom anti ćelijskih antitijela (*anti cell antibodies*) s obzirom da u datu grupu spadaju i klinički relevantna antitijela specifična za pojedine citoplazmatske antigene.

Od vremena njihovog otkrića, koje se povezuje sa objašnjenjem fenomena lupus (LE) ćelija 50-tih godina prošlog vijeka do danas, tehnika indirektne fluorescencije (IIF) na Hep2 supstratu opstaje kao primarna metoda za detekciju ANA i predstavlja najčešću i primarnu laboratorijsku dijagnostičku metodu kod sumnje na sistemske bolesti vezivnog tkiva. Uprkos razvoju brojnih savremenih (automatizovanih) tehnologija za detekciju autoantitijela, od 2009. godine, preporukom ACR (*American College of Rheumatology*) „ANA Task Force“, „stara metoda“ IIF na Hep2 supstratu predstavlja „tehniku zlatnog standarda“ za analizu ANA, kao idealan skrining metod visoke senzitivnosti. Dihotomni rezultat (pozitivna/negativna) ANA IIF metodom je integrisan u dijagnostičke i klasifikacione kriterijume nekoliko sistemskih bolesti.

Metoda podrazumijeva inkubaciju ispitivanog seruma sa Hep2 (humani epiteliom) ćelijama fiksiranim na mikroskopskoj pločici, dodavanje antiimunoglobulinskih antitijela obilježenih fluoresceinom (FITC) nakon prethodnog pranja pločica u cilju eliminacije nevezanih antitijela i evaluaciju obrasca fluorescencije u ćelijama primjenom fluorescentnog mikroskopa. Pored obrasca, bitan je intenzitet fluorescencije/titar ANA kojim se procjenjuje relativna količina antitijela.

Hep2 IIF obrazac reflektuje topografsku distribuciju ciljnih antigena lokalizovanih u različitim organelama ćelija u pojedinim fazama ćelijskog ciklusa, što indirektno ukazuje na samu specifičnost detektovanog autoantitijela. Do 2000-tih godina opisano je oko 50 obrazaca asociranih sa do 100 različitih antitijela. Više različitih antitijela može da bude asocirano sa jednim obrascem; nerijetko kod jednog pacijenta više prisutnih ANA rezultira pojavom kombinovanih i mješovitih obrazaca. Pošto je IIF obrazac indikator postojanja određenih specifičnih ANA, ukoliko su dostupni, potrebno je sprovesti dalje potvrdne testove za njihovu identifikaciju.

Glavni nedostaci IIF metode na Hep2 supstratu su heterogenost i varijabilnost u prepoznavanju i opisivanju obrazaca rezultata ANA od strane različitih laboratorija, kako zbog samih tehničkih karakteristika metode, karakteristika Hep2 supstrata različitih proizvođača, tako i zbog ljudskog faktora (ekspertiza/subjektivnost). U cilju harmonizacije procesa/načina kojim laboratorija obezbjeđuje klinički relevantnu informaciju o ANA IIF testu, u skladu s ISO 15189, 2014. godine na 12. radionici o autoantitijelima i autoimunosti u Sao Paolu, od strane članova Komiteta za standardizaciju

autoantitijela (ASC), pri Internacionalnoj uniji imunoloških društava (IUIS), formirana je „ICAP“ Inicijativa (*International Consensus on Antinuclear Antibodies Patterns*).

Kontinuiranim radom kroz 7 ICAP radionica, postignut je konsenzus o nomenklaturi i klasifikaciji 30 Hep2 IIF obrazaca, sa novim sistemom kodiranja istih odgovarajućim alfanumeričkim AC (*anti cell*) kodom, grupisanih u 4 glavne grupe: negativni (n=1), jedarni (n=15), citoplazmatski (n=9) i mitotski (n=5). Data nomenklatura je organizovana u klasifikaciono stablo dostupno na ICAP-ovom website (www.anapatterns.org). Uz svaki obrazac prikazana je slika, opis njegovih elemenata, asocijacija sa potencijalnim antitijelima sa preporukom za dalje testiranje komercijalno dostupnih antitijela i klinički značaj koji mora biti interpretiran u kontekstu očekivane bolesti. Pored definisanja Hep2 IIF obrazaca, ICAP daje preporuke o tehničkim aspektima dijagnostičkog postupka i o načinu izvještavanja rezultata testa.

Harmonizacija u terminologiji ANA IIF Hep2 nalaza (definisani obrasci) i standardizacija izražavanja rezultata kliničarima su preduslovi za povećanje dijagnostičke vrijednosti testa, a kvalitetna komunikacija sa kliničarima ključ pozitivnog ishoda datog dijagnostičkog postupka.

Ključne riječi: antinuklearna antitijela, klasifikacija, značaj

Imunološka dijagnostika u autoimunskim bolestima jetre

Marija Gavranović Mandić¹

*¹Odjeljenje za imunologiju, Centar za genomsku medicinu i
imunologiju, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora*

Autoimunski hepatitis (AIH) predstavlja jedinstven i veoma kompleksan klinički i dijagnostički entitet. U samom patološkom mehanizmu nastanka bolesti leži poremećaj u okviru imunskog sistema, tj. autoimunost, međutim sledstveno jedan od stubova u dijagnostičkom protokolu su imunološki testovi različitih vrsta.

Tema ovog izlaganja je analiza i razjašnjavanje izvođenja imunoloških testova za autoimunski hepatitis na Odjeljenju imunologije, Kliničkog Centra Crne Gore, sa osvrtom na indikacije, klinički značaj i performansu.

Nivo upotrebe ovih testova (ANA, ASMA, ANCA, anti LKM1, -LC1, -SLA antitijela, liver profil imunoblot), pojedinačno ili u kombinaciji zavisi od broja upućenih zahtjeva od strane različitih specijalista, ali isto tako i od procjene specijaliste imunologije nakon odrađenih skrining testova. Racionalna upotreba ovih testova dovodi do boljeg krajnjeg ishoda, tj. višeg stepena poklapanja između suspektih i dokazanih slučajeva autoimunskog hepatitisa. Takođe, navedene činjenice važe i za primarni bilijarni holangitis (PBC), koji spada u oboljenja jetre imunske etiologije, rijetko koincidentno sa AIH. U odnosu na važeće preporuke za postavljanje dijagnoze AIH, u našoj dijagnostičkoj paleti su zastupljeni svi preporučeni testovi.

Neophodno se kontinuirano i objektivno voditi principima dobre laboratorijske prakse, ali na osnovu jasnih i verifikovanih kliničkih indikacija, u okviru zvaničnih dijagnostičkih protokola. Nivo saradnje specijalista na najvišem nivou zdravstvene zaštite dozvoljava podešavanje protokola individualnim slučajevima kada je u pitanju ovo rijetko oboljenje.

Ključne riječi: bolesti jetre, autoimunost, dijagnostika

Dijagnoza i praćenje naslednih metaboličkih poremećaja

Biljana Luković¹

¹Biochemical Sciences, Inherited Metabolic Disease Laboratory, Synnovis, St Thomas' Hospital, London, UK

Nasleđeni metabolički poremećaji (NMP) predstavljaju širok spektar rijetkih genetskih bolesti koje uzrokuju poremećaje metabolizma.

Rijetke bolesti su istovremeno životno ograničavajuće i životno ugrožavajuće i disproporcionalno afektiraju djecu. 75% rijetkih bolesti se javlja u dječjem uzrastu a više od 30% djece umire prije pete godine (gov.uk/government/publications/uk-rare-diseasesframework).

Klinička prezentacija je različita i nespecifična pa tačna i pravovremena dijagnoza je ključna za efikasno liječenje i poboljšanje ishoda liječenja. Kod novorođenčadi predstavljaju poseban izazov jer se javljaju kao akutne, životno ugrožavajuće krize koje zahtijevaju hitnu i specifičnu intervenciju.

Laboratorija za nasledne metaboličke bolesti u St Thomas' bolnici se rutinski bavi dijagnostikovanjem pacijenata kod kojih se sumnja da imaju metaboličke poremećaje i monitoringom pacijenata sa već potvrđenom dijagnozom. U sklopu laboratorije je uključen i nacionalni skrining novorođenčadi u kom se između ostalih oboljenja radi i skrining na šest naslednih metaboličkih bolesti. Multi-disciplinarni pristup je integralni dio liječenja i dijagnostike u St Thomas' bolnici.

Analitičke tehnike kao što su tečna hromatografija sa tandem masenom spektrometrijom (LCMS/MS) kao i gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC-MS) igraju ključnu ulogu u dijagnostici i praćenju NMP. Ove tehnike nude visoku osjetljivost i specifičnost, omogućavajući precizno profilisanje biomarkera koji je od suštinskog značaja za početnu dijagnozu, praćenje liječenja i dugoročno metaboličko upravljanje pacijentima.

Prezentacija se fokusira na klinički i laboratorijski pristup dijagnozi i praćenju metaboličkih poremećaja i na nekoliko rijetkih bolesti koje se dijagnostikuju i prate svakodnevno u laboratoriji: fenilketonuriju (*Phenylketonuria* (PKU)) bolest s mokraćom mirisa javorovog sirupa (*Maple Syrup Urine Disorder* (MSUD)), poremećajima oksidacije masnih kiselina kao i profilom aminokiselina i acilkarnitina.

Ključne riječi: metabolički poremećaji, hereditet

MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA U ISTRAŽIVANJU I KLINIČKOJ PRAKSI

Analiza genetičkih varijanti povezanih sa povećanim rizikom i najznačajnijim kliničkim i biohemijskim pokazateljima dijabetesa tipa 2

Tamer Bego¹

¹Katedra za farmaceutsku biohemiju i laboratorijsku dijagnostiku, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Dijabetes tipa 2 (T2D) je poligenska bolest, a brojne studije su identificirale genetske lokuse uključene u patofiziologiju ove bolesti. Ovo je prva studija koja je istražila utjecaj gena koji su u literaturi predloženi kao kandidati za T2D u populaciji Bosne i Hercegovine. Odabrane varijante kandidatskih gena koje smo analizirali u našoj studiji povezane su s disfunkcijom i smanjenjem mase β ćelija, dok su neke varijante povezane s gojaznošću. U ovoj studiji ispitali smo utjecaj odabranih polimorfizama kandidatskih gena na rizik od razvoja T2D-a i njihovu povezanost s kliničkim i biohemijskim pokazateljima bolesti.

Studija je obuhvatila 638 pacijenata s T2D i predijabetesom i 360 zdravih ispitanika kao kontrolnu grupu regrutovanih u Kliničkom centru Univerziteta u Sarajevu, Univerzitetskoj bolnici Kliničkog centra u Banjoj Luci i Općoj bolnici u Tešnju, oba spola, starosti od 40 do 65 godina. Genotipizacija

analiziranih polimorfizama izvršena je pomoću *MassArray Sequenom iPlex* platforme u saradnji sa *Centrom za dijabetes Univerziteta Lund* (Malmo, Švedska), te RT-PCR metodom u saradnji sa *Odsjekom za kliničku hemiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Ljubljani* (Ljubljana, Slovenija) i *Kliničkim centrom Karlovog univerziteta* (Hradec Kralove, Češka).

Rezultati studije potvrdili su korelaciju analiziranih genskih polimorfizama sa najznačajnijim kliničkim i biohemijskim pokazateljima dijabetesa tipa 2, posebno sa markerima glikemijske kontrole, markerima inzulinske rezistencije i statusom β -ćelija pankreasa, kao i sa markerima upale i gojaznosti.

Ključne riječi: Dijabetes tipa 2, genetičke varijante, predispozicija, biomarkeri.

Značaj PRC analize za detekciju BRAF mutacija

Erdal Ajanović¹

¹*Centar za Patologiju, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora*

Hromozom 7 je nosioc BRAF gena koji vrši kodiranje citoplazmatskog proteina serin/treonin kinaze čija glavna aktivnost se odvija u signalnim putevima ćelije. Ukoliko dođe do mutacije u BRAF genu samim tim se javlja kontinuirana aktivnost serin/treonin kinaze što ima za posledicu nekontrolisanu proliferaciju ćelija i nastanak tumorskog tkiva.

Dokazano je da glavni uzrok nastanka mutacija izazvan UV zračenjem ali i djelovanjem drugih faktora rizika spoljašnje sredine. Mutacija V600E je najčešće detektovana mutacija u BRAF genu (oko 50 % slučajeva) i to BRAF V600E (80 %) i BRAF V600K (5–30 %) kod metastatskog melanoma. Za dokazivanje prisustva BRAF mutacija nepohodno je izvršiti dijagnostičko testiranje da bi se utvrdilo koji pacijenti su kandidati za ciljanu terapiju metastatskog melanoma.

Tumori debelog crijeva i štitne žlijezde takođe mogu biti izazvani BRAF mutacijom. Sluznica usne šupljine i nosa, gastrointestinalni i urogenitalni trakt, očno dno i moždane ovojnice predstavljaju tkiva na kojima se pored kože mogu naći melanomske promjene. Testiranje se radi iz parafinskih uzoraka tumora.

Imunohistohemijsko bojenje je tehnika koja se zasniva na principu vezivanja specifičnog antitijela za protein na tkivnom presjeku i pomoću nje dobijaju se informacije o nivou ekprimiranosti proteina od interesa u datom tkivu.

PCR analize predstavljaju savremeniju metodu za ispitivanje prisustva mutacija za određeni gen, gdje se ispitivani DNK uzorak umnožava u duplikatu a nakon toga ispituje da li je tražena sekvenca dobijena umnožavanjem.

Upoređivanjem rezultata dobijenih imunohistohemijskim bojenjem i PCR analiziranjem dolazi se do zaključka da PCR analize imaju veći stepen pozitivnosti V600 mutacije u BRAF genu.

Ključne riječi: BRAF, parafinski uzorak tumora, V600, Imunohistohemija, PCR dijagnostika.

Regulacija gena i mikroRNK povezanih sa tumorima pod uticajem etarskih ulja – potencijal za terapiju kancera

***Kenan Preljević¹, Nina Petrović^{2,3}, Ivana Pašić², Ivana Z. Matić²,
Tatjana Stanojković², Svetlana Perović¹, Milorad Vlaović &
Sladana Krivokapić¹***

¹Univerzitet Crne Gore, Prirodno-matematički fakultet, Podgorica, Crna Gora

²Institut za onkologiju i radiologiju Srbije, Beograd, Srbija

³Institut za nuklearne nauke „Vinča“ – Nacionalni institut Republike Srbije, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Sekundarni metaboliti biljaka predstavljaju značajan izvor bioaktivnih molekula s potencijalnim antikancerogenim efektima. Poseban fokus je na etarskim uljima, čije komponente, poput fenilpropanoida (karvakrol, timol), monoterpenoida (alfa-terpineol) i seskviterpena (beta-kariofilen), pokazuju sposobnost regulacije ključnih molekularnih puteva u ćelijama kancera. Ove bioaktivne supstance mogu modulirati ekspresiju gena uključenih u invaziju i metastaziranje (MMP2, MMP9), angiogenezu (VEGFA), kao i regulaciju ćelijskog ciklusa i apoptoze (p53, Bcl-2, kaspaze).

Etarska ulja biljaka iz porodice Lamiaceae, poput vrsta roda Thymus i Satureja, poseduju kombinaciju komponenata koje djeluju sinergistički, utičući na genske mreže kroz modulaciju mikroRNK (miR-16, miR-34a, miR-21) i transkripcionih faktora poput NF-κB. Njihova sposobnost da povećaju efikasnost standardnih hemoterapeutika, smanjujući njihovu sistemsku toksičnost, otvara mogućnosti za njihovu integraciju u nove terapijske strategije. Dalja istraživanja su neophodna kako bi se

preciznije definisali mehanizmi djelovanja i potencijalna klinička primjena ovih prirodnih jedinjenja.

Ključne riječi: antikancerogeni potencijal, angiogeneza, prirodni produkti, terapijske strategije

PROTOČNA CITOMETRIJA: KLJUČNI ALAT U MODERNOJ HEMATOLOGIJI

Detekcija cirkulišućih tumorskih ćelija u multiplom mijelomu

Nada Kraguljac Kurtović¹, Marko Mitrović¹, Tijana Dragović Ivančević¹, Vesna Knežević¹, Aleksandra Sretenović^{1,2}, Andrija Bogdanović^{1,2}, Jelena Bila^{1,2}

¹Klinika za hematologiju, Univerzitetski klinički centar Srbije, Beograd, Republika Srbija

²Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Republika Srbija

Uvod: Dosadašnja istraživanja su pokazala da visoki nivoi cirkulišućih tumorskih ćelija (CTC), kod bolesnika na dijagnozi multiplog mijeloma (MM), predstavljaju rani marker agresivne bolesti.

Cilj rada: Ispitivanje je obuhvatilo nekoliko ciljeva:

- optimizacija metodologije multiparametarske protočne citometrije (MPC) za visoko senzitivnu detekciju CTC,
- utvrđivanje imunofenotipskih karakteristika CTC,
- utvrđivanje učestalosti pojave i nivoa CTC na dijagnozi,
- utvrđivanje korelacija između nivoa CTC i patobioloških karakteristika bolesnika.

Materijal i metode: Prospektivno ispitivanje je sprovedeno u grupi od 63 bolesnika sa de novo MM, pre primene terapije.

Uzorci nativne periferne krvi (Vacutainer-K2EDTA) su obeležavani primenom dve 8-kolorne kombinacije monoklonskih antitela za detekciju plazma ćelija. Merenje i analiza uzoraka je urađena na MPC BD FACSCantoI II / BD FACSDiva softver ver. 9.0. CTC su izražavane u relativnim (% CD45⁺ ćelija tj. % leukocita, Le) odnosno apsolutnim vrednostima (ćelije/ μ L), primenom metodologije dvostruke-platforme. U cilju visoko senzitivne detekcije i kvantifikacije CTC, prikupljano je ≥ 50 CTC / $\geq 3 \times 10^6$ CD45⁺ ćelija periferne krvi.

Rezultati: Analiza CTC je pokazala prisustvo imunofenotipskih aberacija u ekspresiji humanih leukocitnih molekula sa sledećom učestalošću: CD38^{low} (90%), CD38^{bright} (82%), CD45^{low} (92%), CD19^{neg} (100%), CD81^{neg/+low} (85%), CD56⁺ (77%), CD117⁺ (31%). Monoklonalna ekspresija clgk (82%) predominirala je u poređenju sa ekspresijom clg λ (18%) lanca. CTC su detektovane sa učestalošću od 62% (39/63 bolesnika), na prosečnom nivou detekcije od 0,002% (opseg, 0,001 – 0,005%). U proseku je bilo prikupljano 3476 CTC (opseg, 46 – 94679 ćelija) od prosečno analiziranih 3×10^6 Le (opseg, 0,2 – 5×10^6 Le). Prosečna vrednost detektovanih CTC je iznosila 0.401% Le (opseg, 0.000 – 18.033%) odnosno 36,6 ćelija/ μ L (opseg, 0.000 – 1749 ćelija/ μ L). Deo bolesnika u našoj grupi je imao vrednost CTC od ≥ 5 ćelija/ μ L (17,5%, 11/63). Ispitivanje korelacija između nivoa CTC i patobioloških karakteristika bolesnika, pokazalo je pozitivnu korelaciju sa kliničkim stadijumom ($p=0,002$) i stepenom infiltracije kostne srži ($p=0,004$).

Zaključak: Prisustvo ≥ 1 aberacija u ekspresiji humanih leukocitnih molekula na CTC (CD38^{low} CD138^{bright} CD19^{neg} CD81^{neg/+low} CD56⁺ CD117^{neg/+} CD45^{low} /SSC^{medium}), utvrđeno je

sa visokom učestalošću (100%) u našoj grupi bolesnika sa MM, što je omogućilo visoku specifičnost u njihovoj detekciji. CTC su detektovane sa učestalošću od 62%, uz postignutu prosečnu senzitivnost detekcije od 2×10^{-5} . Prosečna vrednost detektovanih CTC je iznosila 0.401% Le odnosno 36,6 ćelija/ μ l. Nivo CTC koji je povezan sa agresivnom bolešću je ispoljilo 17,5% bolesnika na dijagnozi. Utvrđene su pozitivne korelacije između nivoa CTC i kliničkog stadijuma bolesti odnosno stepena infiltracije kostne srži na dijagnozi MM.

Ključne reči: multipli mijelom, cirkulišuće plazma ćelije, imunofenotip, protočna citometrija

Značaj protočne citometrije u dijagnostici i monitoringu Paroksizmalne noćne hemoglobinurije (PNH)

Ivana Milašević¹

¹Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Paroksizmalna noćna hemoglobinurija (PNH) je rijedak, stečeni, nemaligni, klonski poremećaj hematopoetskih matičnih ćelija (HMC), sa inaktivirajućom somatskom mutacijom u PIGA (fosfatidil-inozitol N-glikan klase A) genu, varijabilnog kliničkog toka. PIGA gen, koji se nalazi na X hromozomu, kodira protein glikozil-fosfatidil-inozitol (GPI) – usidreni protein, neophodan za vezivanje velikog broja funkcionalnih proteina za površinu krvnih ćelija. Među njima su, u patogenezi PNH, posebno važni faktor ubrzanja raspada komplementa (CD55) i

membranski inhibitor reaktivne lize (CD59), oba regulatori aktivnosti komplementa, što PNH eritocite čini podložnim komplement posredovanoj lizi.

Kliničke manifestacije PNH uključuju ponavljane epizode dominantno intavaskularne hemolize, tromboze, posebno na neuobičajenim mjestima, ali i citopenije različitog stepena. Javljaju se kada mutirani klon dobije prednost u rastu i diferencira se, stvarajući zrele krvne ćelije koje imaju djelimični ili potpuni nedostatak GPI-usidrenog proteina.

Međunarodna interesna grupa za PNH (IPIG) je klasifikovala poremećaj u 3 podtipa: klasični PNH, PNH u kontekstu drugih primarnih poremećaja kostne srži i subklinički PNH.

Još ranih 1990-ih, protočna citometrijska (FC) detekcija ćelija kojima nedostaje ekspresija površinskih GPI - usidrenih molekula postala je metoda izbora za dijagnostikovanje i praćenje pacijenata sa PNH i srodnih poremećaja. Danas, primjena ove metode visoke rezolucije, u skladu sa trenutno važećim smjernicama, podrazumijeva PNH testiranje sve tri linije krvnih ćelija (eritrociti, neutrofili i monociti) i omogućava otkrivanje veoma malih PNH klonova i rijetkih GPI deficijentnih ćelija, sa visokom tačnošću i preciznošću, pri čemu je potrebno otkriti defekt najmanje dva GPI proteina u najmanje dvije ćelijske linije. Na taj način se omogućava kliničaru da postavi dijagnozu PNH i/ili sličnih poremećaja, klasifikuje poremećaj, procijeni rizik od progresije i prati odgovor na ordiniranu terapiju.

Iako se veličina klona PNH neutrofila koristila kao „zlatni standard“ i glavna ciljna populacija za procjenu veličine klona u leukocitima, uvijek bi trebalo testirati i monocite, radi što

preciznije procjene veličine klona. Klinička korisnost određivanja veličine klona je dobro uspostavljena i potrebno je izvještavanje kako pojedinačno, tako i ukupne veličine klona PNH eritrocita tipa II i III, dok je za neutrofile i monocite preporuka da se izvještava samo o ukupoj veličini PNH klona.

Rana i precizna dijagnoza PNH je imperativ, jer ima značajne kliničke implikacije na liječenje i prevenciju neželjenih događaja, a FC imunofenotipizacija je trenutno najinformativniji i najosjetljiviji test dostupan za dijagnozu i praćenje pacijenata sa PNH.

Ključne riječi: paroksizmalna noćna hemoglobinurija, protočna citometrija

Karakterizacija matičnih ćelija hematopoeze iz krvi pred autolognu transplantaciju matičnih ćelija hematopoeze

Tanja Antunović¹

¹Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Razvoj autologne transplantacije matičnih ćelija započeo je inteziviranjem istraživanja o krioprezervaciji i mogućnostima alogene transplantacije (alo-TMČH) nakon II svjetskog rata. ATMČH se počela zvanično primjenjivati od 1976, u početku kao ATMČH iz kostne srži. Danas se MČH mogu dobiti iz kostne srži (KS), periferne krvi (PK) ili iz krvi u pupčanoj vrpici (KPV), a imaju široku primjenu u liječenju hematoloških, onkoloških

ili imunoloških oboljenja. Prednosti matičnih ćelija iz PK u odnosu na matične ćelije iz KS u autolognim uslovima uključuju brži oporavak hematopoeze, bolju imunološku rekonstrukciju i relativno jednostavan proces prikupljanja. Periferne ćelije se prikupljaju pomoću aparata za aferezu nakon što se mobilišu iz kostne srži u perifernu krv. Trenutno se ova tehnika primjenjuje u više od 90% ATMČH i u približno 70% alo-TMČH.

MČH tipično eksprimiraju CD34 antigen na ćelijskoj membrani. U normalnim uslovima, koncentracija CD34⁺ ćelija u PK je od 0,01 do 0,07%, a u KS im je koncentracija obično manja od 1% normalnih mononuklearnih ćelija. Broj progenitorskih ćelija koje je potrebno infundirati da bi se postigao odgovarajući oporavak hematopoeze još uvijek je kontroverzan, međutim, minimum $2-5 \times 10^6$ CD34⁺ ćelija/kg tjelesne težine je potrebno za postizanje konzistentnog presađivanja.

Prediktivni faktori za efikasno prikupljanje uključuju: ukupan broj leukocita, monocita i limfocita, procenat cirkulišućih nezrelih ćelija granulocitne loze i broj CD34⁺ ćelija. Među ovim faktorima, praćenje koncentracije CD34⁺ ćelija u PK protočnom citometrijom najpouzdanija je metoda za predviđanje stope uspjeha/neuspjeha prikupljanja. Koncentracije dobijene leukaferozom direktno su u korelaciji s kvantifikacijom CD34⁺ ćelija u PK. Granična vrijednost za broj CD34⁺ ćelija u PK od ≥ 10 do $20 / \mu\text{L}$ obično se smatra razumnom graničnom vrijednošću za efikasno prikupljanje MČH.

Vijabilne CD34⁺ ćelije imaju kratak rok trajanja na sobnoj temperaturi, što komplikuje njihovo skladištenje i isporuku pacijentima. Da bi se prevazišao ovaj nedostatak, primjenjuje se krioprezervacija ćelija kako bi se očuvale žive ćelije nekoliko godina, pa čak i decenija. Precizno mjerenje vijabilnih CD34

pozitivnih (vCD34⁺) ćelija prije i nakon krioprezervacije važno je za uspješnu transplantaciju MČH. Ekspresija CD34 antigena na ćelijskoj membrani je u korelaciji sa formiranjem kolonijskih jedinica u ćelijskim kulturama, što se smatra prvim standardom za kvantifikaciju matičnih ćelija (test formiranja kolonijskih jedinica). Postojeće tehnike za brojanje CD34⁺ ćelija su: fluorescentna mikroskopija, protočna citometrija i citometrija fluorescentne slike. Princip svih metoda je sledeći: vezivanje fluorescentno obilježenog specifičnog anti-CD34 antitijela za CD34 antigen (CD34⁺ ćelije). Trenutno je protočna citometrijska analiza standardna metoda za brojanje CD34⁺ matičnih ćelija.

U poslednjih 50 godina ATMČH je postala rutinski dio terapijskih platformi za multipli mijelom i recidivirajuće non-Hodgkin limfome, a alo-TMČH najbolji kurativni tretman za većinu mijeloidnih maligniteta. Od februara ove godine ATMČH se radi i u Crnoj Gori a u planu je razvoj transplantacijskih procedura u pravcu alo-TMČH.

Ključne riječi: autologna transplantacija, matične ćelije hematopoeze, protočna citometrija, krioprezervacija

OKSIDATIVNI STRES

Biološka varijacija biomarkera oksidativnog stresa: kliničke implikacije

Tihomir Stojković¹

¹Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Oksidativni stres, definisan kao disbalans između stvaranja reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) i antioksidativnih mehanizama organizma, ima važnu ulogu u patogenezi mnogih bolesti, uključujući kardiovaskularna, neurodegenerativna i metabolička oboljenja. Marker oksidativnog stresa su brojni i mogu se razvrstati na markere lipidne peroksidacije – malondialdehid (MDA) i 8-izoprostani, markere oštećenja DNK – 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) i markere oksidacije proteina. Osim toga, status antioksidativne zaštite se procenjuje merenjem aktivnosti antioksidativnih enzima, kao što su superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutation peroksidaza (GPX), ili određivanjem ukupnog antioksidativnog kapaciteta (TAC) i drugih parametara. Sposobnost tih biomarkera da odraze oksidativno oštećenje i efikasnost antioksidativnih sistema čini ih privlačnim kandidatima za praćenje bolesti i terapijskog odgovora. Njihova primena u istraživanjima je česta, ali je klinička upotreba i dalje ograničena, između ostalog i zbog nepotpunog razumevanja biološke varijacije ovih biomarkera.

Na pouzdanost svakog rezultata u laboratorijskoj medicini utiče više različitih izvora varijacije, kao što su preanalitička, analitička i biološka varijacija. Podaci o biološkoj varijaciji, uključujući ocene njenih osnovnih komponenti – intraindividualne (CVI) i interindividualne (CVG) varijacije – ostaju oskudni, ali su od izuzetnog značaja za procenu korisnosti populacionih referentnih intervala (indeks individualnosti, II), tumačenje značaja promena u serijskim rezultatima kod jedne osobe (vrednost referentne promene, RCV) i za izradu specifikacija analitičkih performansi (APS).

U svakodnevnoj praksi kliničkih biohemičara i lekara, pravilna interpretacija laboratorijskih nalaza, uključujući i markere oksidativnog stresa, zahteva razumevanje njihove biološke varijacije. To podrazumeva i prepoznavanje potrebe za većim brojem dobro dizajniranih istraživanja u ovoj oblasti, kako bi se omogućila standardizacija i šira klinička primena ovih biomarkera.

Ključne riječi: biomarkeri, oksidativni stres, biološke varijacije

Značaj proteomike i oksidativni stres kod pacijenata lečenih metodom zamene bubrežne funkcije

Marko Baralić^{1,2}

¹Klinika za nefrologiju, Univerzitetski Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

²Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu; Beograd, Srbija

Proteomika je oblast molekularne medicine (MM) što je svrstava u bazičnu ili ekperimentalnu medicinu. Bazirana je na proučavanju interakcija, funkcije, sastava i strukture proteina (Prt) i njihovih ćelijskih aktivnosti, a posebno je značajna u oblasti terapija. U poređenju sa genomikom i ostalim “omiks” tehnikama, daje najpouzdanije informacije o strukturi i funkciji ćelija, njihovih intereakcija ali i funkcionisanja različitih organa i organskih sistema kao čitavog organizma.

Put od ekperimenta do otkrića potencijalno novih biomarkera i signalnih puteva primenljivih na humanim modelima značajno je dugačak. Mogu se detektovati različite promene na različitim Prt plazme (albuminu, fibrinogenu, transferinu i drugim) koji mogu biti potencijalni biomarkeri za predikciju ishoda bolesnika sa različitim stepenom bubrežnog oštećenja bilo u akutnoj ili hroničnoj bubrežnoj slabosti, ali i kod bolesnika lečenih različitim metodama zamene bubrežne funkcije usled terminalne bubrežne slabosti (peritoneumskom dijalizom (PD-om), hemodijalizom (HD-om) ili transplantacijom bubrega (Tx)).

Međutim, s obzirom na činjenicu da se ekspresija Prt menja u odnosu na vreme i uslove, smatra se značajno kompli-

kovanijom u poređenju sa genomikom. Procenjeno je da postoji skoro milion različitih Prt, a mnogi podležu modifikacijama, kao što je posttranslaciona modifikacija (PTM). Mnoge tehnike MM-e mogu detektovati promene na Prt uključujući gel tehnike elektroforeze, Western blot, masena spektroskopija i druge. Proteomika može analizirati ekspresiju Prt na različitim nivoima, omogućavajući procenu specifičnih kvantitativnih i kvalitativnih ćelijskih odgovora povezanih sa tim Prt. Pored mogućnosti pružanja informacija o molekularnim mehanizmima nastanka bolesti, moguće je i poređenje grupe obolelih i zdravih kontrola što je i učinjeno u brojnim istraživanjima koja su sprovedena u *Klinici za nefrologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije*, Institutu za primenu nuklearne energije i *Slovačke Akademije za hemiju* kod bolesnika lečenih kako HD-om tako i PD-om. Izvor Prt može biti iz seruma, ali i iz PD-e effluent-a čijim izmenama se može ukazati na promene peritoneumske membrane koja je od fundamentalnog značaja kod ove grupe bolesnika.

Ispitivanjem glikacije u oksidativno redukcionim reakcijama albumina (Alb) pokazano je da se Prt može nalaziti na granici između pro ili antioksidansa zbog čega je Alb izmenjen i neophodna je podrška antioksidansima. Ispitivanjem glikozilacije fibrinogena (fibr) pokazano je da krvni ugrušci nastali iz tako oksidativno izmenjenih fibrinogena su tvrdi i otporniji na dejstvo fibrinolitičkih sredstava, što je ovu grupu bolesnika u pandemiji SARS CoV-2 virusa činilo protrombogenom populacijom čime je postojala sklonost ka neželjenim trombogenim događajima.

Najnovijim ispitivanjima je pokazano da je glikozilacija transferina (tfn) niža u grupi PD bolesnika lečenih bezgluko-

znim rastvorima, što odgovara hiperferemiji i primeni nižih doza eritropoetin (EPO) preparata.

Ključne riječi: proteomika, oksidativni stres, transplantacija bubrega

Uloga oksidativnog stresa i inflamacije u patogenezi hepatične manifestacije metaboličkog sindroma

Aleksandra Klisić^{1,2}

¹Medicinski fakultet, Univerzitet Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

²Centar za laboratorijsku dijagnostiku, Dom zdravlja Glavnog grada, Podgorica, Crna Gora

Steatoza jetre, kao prisustvo akumuliranog sadržaja masti u jetri (>5% hepatocita), a u odsustvu prekomjerne upotrebe alkohola ili bilo kog drugog oboljenja jetre, predstavlja hepatičnu manifestaciju metaboličkog sindroma. Ovaj poremećaj usko je povezan sa insulinskom rezistencijom i drugim komponentama metaboličkog sindroma, kao što su abdominalna gojaznost, hipertenzija, dislipidemija.

Prekomjerni unos energetske hranjivih materija, nedostatak fizičke aktivnosti, kao i genetski faktori mogu doprinijeti nastanku i progresiji steatoze jetre.

Tačne podatke o prevalenci steatoze jetre je teško definisati, imajući na umu da ovaj poremećaj često ostaje neprepoznat od

strane kliničara jer je većina pacijenata asimptomatična i često imaju uredan nalaz rutinskih biohemijskih parametara u krvi.

Iako uzročno-posledični mehanizmi nisu do kraja istraženi, visoka prevalenca masne jetre (više od 30% populacije), kao i komplikacije koje kasnije mogu nastupiti, nameću potrebu za rasvetljavanjem procesa koji su u osnovi ovog poremećaja.

Smatra se da su oksidativni stres i inflamacija ključni pokretači patofizioloških procesa odgovornih za nastanak i progresiju steatoze jetre. Mitohondrije i endoplazmatski retikulum hepatocita preko enzima citohrom P450 predstavljaju primarno mjesto izvora reaktivnih vrsta kiseonika koji doprinose nastanku hepatičnih strukturalnih i funkcionalnih oštećenja. U centru svih ovih zbivanja je aktivacija NF- κ B signalnog puta što dovodi do pojačane transkripcije proinflamatornih gena i, samim tim, pojačane inflamacije. Pojačana inflamacija doprinosi daljoj progresiji oksidativnog stresa, pri čemu se stvara začarani krug između inflamacije i oksidativnog stresa.

Rasvjetljavanje složenih patofizioloških procesa koji doprinose nastanku i progresiji steatoze jetre je od suštinskog značaja za otkrivanje senzitivnijih i specifičnijih biomarkera za dijagnozu i liječenje ove bolesti.

Ključne riječi: oksidativni stres, inflamacija, patogeneza, hepatična manifestacija metaboličkog sindroma

Redoks skorovi: uloga u dijagnostici različitih bolesti i korak ka personalizovanoj suplementaciji

Jelena Kotur-Stevuljević¹

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

Oksidativni eustres je hemijski mehanizam koji postoji u organizmu i deo je fizioloških procesa kojima se održava homeostaza. U stanju bolesti dolazi do razvoja povećane količine slobodnih radikala (reaktivnih kiseonikovih jedinjenja) uz najčešće istovremeni utrošak antioksidativne zaštite. To dovodi do razvoja procesa koji nazivamo oksidativni distres koji ima toksično i oštećujuće delovanje. Postavlja se pitanje kako izmeriti stres u našem organizmu, proceniti mehanizme zaštite od njega i da li je moguće nekom egzogenom suplementacijom i/ili promenom načina ishrane neutralisati štetne posledice njegovog delovanja. Određivanje redoks statusa organizma određivanjem koncentracija ili aktivnosti njegovih pojedinačnih komponenti je komplikovana procedura koja obuhvata određivanje prooksidanasa (reaktivnih jedinjenja kiseonika), produkata njihovog delovanja (prooksidansima oštećenih biomolekula), činilaca antioksidativne zaštite i to enzimskih i neenzimskih. Kada se odrede predstavnici svih ovih elemenata redoks statusa da bi se dobijeni rezultat razumeo i u skladu sa tim dijagnostikovala potencijalna deficijencija nekog od elemenata redoks sistema korisno je izračunati redoks skorove koristeći Z-skor statistiku. Na ovom predavanju će biti prikazan način za izračunavanje i primeri sledećih redoks skorova kod različitih grupa bolesnika

i zdravih osoba: prooksi skor, antioksi skor, oksi skor, skor prooksidanasa, skor oksidativno izmjenjenih biomolekula, skor neenzimske i skor enzimске antioksidativne zaštite. Ovakav način analize dobijenih rezultata omogućava precizniju suplementaciju ispitanika shodno njihovog zdravstvenom i nutritivnom statusu, kao i potrebama odnosno životnim navikama.

Ključne reči: redoks status, redoks skorovi, oksidativni stres, antioksidativna zaštita.

Dijagnostički potencijal uzoraka pljuvačke

Radivoj Jadrić¹

¹Katedra za medicinsku biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Pljuvačka, vrlo često zanemarena biološka tečnost, ključna je u oralnom zdravlju i cjelokupnoj dobrobiti po čovjeka. To nije samo lubrikant koji pomaže u probavi i gutanju. Posljednjih godina pljuvačka je postala vrijedan dijagnostički alat u medicini, budući da sadrži riznicu informacija. Bogata je biomarkerima koji mogu odražavati i oralno, ali i sistemsko zdravlje ispitanika/pacijenta. Od otkrivanja oralnih bolesti poput bolesti desni i maligniteta usne šupljine do sistemskih bolesti poput dijabetesa, zatim testiranja na infekciju HIV-om, pljuvačka može dati vrijedan dijagnostički doprinos.

No, ono što testiranje pljuvačke čini još privlačnijim je neinvazivna priroda prikupljanja uzoraka. Za razliku od uzorkovanja za pretrage krvi, koje znaju biti bolne i stresne,

analiza pljuvačke je jednostavnija i bezbolna. Prilična jednostavnost prikupljanja, zajedno s obiljem informacija koje se mogu dobiti pretragama pljuvačke, čini je idealnim alatom za rano otkrivanje, te praćenje bolesti. U svijetu u kojem rano otkrivanje može značiti razliku između života i smrti, neinvazivne dijagnostičke metode poput testiranja pljuvačke nisu samo važne, već i ključne. Smanjuju nelagodu i tjeskobu povezane s tradicionalnim dijagnostičkim metodama, potičući više ljudi da se testiraju i rano uoče potencijalne zdravstvene probleme. Dakle, sljedeći put kada se pomisli na pljuvačku, treba se prisjetiti da to nije samo pljuvačka. To je moćan dijagnostički alat sa potencijalom da unaprijedi laboratorijsku dijagnostiku, a kroz to i čitav zdravstveni sistem.

Kroz prezentaciju će se dati uvid u mogućnosti upotrebe pljuvačke i njenog dijagnostičkog potencijala, te neka od vlastitih iskustava i planirane projekte autora prezentacije i suradnika sa Univerziteta u Sarajevu – Medicinskog fakulteta.

Ključne riječi: pljuvačka, dijagnostički potencijal

Značaj određivanja specifičnih IgE antitijela na rekombinantne alergene

Irena Barać¹

¹Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Alergijska oboljenja spadaju u najčešće bolesti savremenog doba. Brojna istraživanja pokazuju da oko 25% ukupne svjetske populacije boluje od neke alergijske bolesti. Tokom poslednjih nekoliko decenija došlo je do trostrukog porasta pojave alergija, a vjeruje se i u tendenciju daljeg rasta u svim starosnim kategorijama, naročito u dječjoj populaciji.

Alergijska reakcija predstavlja pretjeranu, nesvrshodnu i nespecifičnu reakciju organizma na neki stimulus ili supstancu, koja inače ne bi trebalo da bude štetna po organizam.

Alergija je najčešća od četiri forme preosjetljivosti i formalno se naziva reakcijom preosjetljivosti tipa I, (tzv. rana preosjetljivost) i karakteriše se proizvodnjom specifičnih IgE antitijela na strane, bezopasne proteine iz okoline koji se nazivaju alergeni.

Dijagnoza alergijskih bolesti započinje iscrpnom anamnezom i uvidom u kliničke simptome pacijenta, a nastavlja se izvođenjem kožnog prick testa i određivanjem ukupnih i specifičnih imunoglobulina E (sIgE) u krvi uz pokušaj identifikacije uzročnog alergena. Određivanje koncentracije ukupnih i

specifičnih IgE antitijela na pojedinačne alergene čini osnovu laboratorijske alergološke dijagnostike.

Konvencionalna tradicionalna dijagnostika za dokazivanje sIgE antitijela primjenjuje nativne alergenske ekstrakte koji sadrže brojne komponente, molekule (proteine, glikoproteine, polisaharide, lipide i druge) od kojih su samo neke odgovorne za alergijsku reakciju, a velika većina nevažna i za alergijsku reakciju i za dijagnozu alergija.

Potreba za što boljom standardizacijom alergenskih ekstrakata dovela je do razvoja molekularnih alergenskih komponenti, tj. pročišćenih alergenskih ekstrakata.

Molekularne alergenske komponente mogu biti dobro definisani visoko pročišćeni pojedinačni alergeni koji se izoluju iz prirodnih alergenskih izvora ili su u pitanju rekombinantni alergeni dobijeni rekombinantnom DNA tehnologijom.

Primjena pojedinačnih molekula alergena najavila je novu eru dijagnostike alergija, definisanu sa više naziva: komponentna dijagnostika (engl. *component resolved diagnostics* (CRD)), molekularna dijagnostika alergija (engl. *molecular allergy diagnosis* (MAD)) kao i precizna molekularna dijagnostika alergija (engl. *precision allergy molecular diagnostic applications* (PAMD)).

Razvoj molekularne alergologije donio je napredak u obilježavanju i standardizaciji alergenskih ekstrakata s formiranjem detaljnijeg zakonodavnog okvira za njihovu pripremu, bolju dijagnostičku osjetljivost za molekule koji izostaju u ekstraktu zbog malih količina i/ili su smanjene stabilnosti, precizniju dijagnozu alergija razlikovanjem primarne alergijske senzibilizacije i ukrštene reaktivnosti.

Osim toga, određivanje slgE na rekombinantne alergene predstavlja i osnovu alergenske imunoterapije, omogućava personalizovani pristup pacijentu, sigurnije i optimalno liječenje, praćenje efikasnosti i učinkovitosti terapije sa ciljem poboljšanja kvaliteta života pacijenata koji pate od kompleksnih alergijskih reakcija.

Ključne riječi: specifična IgE antitijela, rekombinantni alergeni

Bronhijalna hiperreaktivnost. Put u psihosomatski disbalans na krilima urednih biohemijsko- laboratorijskih analiza

Aleksandar Zekić¹

¹Infektivno odjeljenje, Kliničko bolnički centar Kotor, Kotor, Crna Gora

Bronhijalna hiperreaktivnost (BHR) je preosjetljivost bronhija nespecifične ili specifične etiologije. Manifestuje se nadražajnim kašljem, bronhospazmom, pacijent ne diše punim plućima, iskašljava žilav sadržaj.

U osnovi poremećaja je stalna upala disajnih puteva izazvana različitim stimulansima, poremećaj ravnoteže cikličnog adenozin monofosfata (cAMP) i cikličnog guanozin monofosfata (cGMP) i predominacija aktivnosti n. vagusa.

Dijagnostika podrazumijeva: alergološke prik kutane testove na inhalatorne i nutritivne alergene sa osvrtom i na

alergene prašine, buđi, dlake kućnih ljubimaca, aspergillus; spirometriju (osvrst na *Mean expiratory flow* (MEF)) i bronhoprovokacione testove.

Prik kutane probe mogu biti negativne, spirometrija uredna, sIgE uredni, ali nas to ipak ne treba zavarati da se ne radi o BHR. Zato treba uraditi i bronhoprovokativni test. Vrijednost smanjenog *forced expiratory volume 1* (FEV 1) ispod 12% posle bronhoprovokacije govori u prilog BHR a skoro sigurno i astme.

U našoj alergološkoj ambulanti od 158 testiranih pacijenata prik kutanim testovima, kod oko 45% njih posle svih urađenih pretraga (nije rađen bronhoprovokativni test jer nije dostupan u Crnoj Gori) je posumnjano da se radi o BHR, što govori u prilog učestaloj patologiji ovog oboljenja. Takođe, na BHR treba uvijek posumnjati kod pacijenata koji imaju i po nekoliko upala pluća u toku godine, a pri tom nemaju drugih bolesti.

Rezultati dijagnostičkih ispitivanja iz naše alergološke ambulante ukazuju na potencijalno visoku prevalenciju simptoma povezanih s BHR-om, te naglašavaju potrebu za razmatranjem dostupnosti sveobuhvatnih dijagnostičkih alatki za ovo stanje. Međutim, odsustvo bronhoprovokativnog testiranja kao zlatnog standarda u dijagnostici BHR-a predstavlja značajno ograničenje u potvrđivanju dijagnoze.

Ključne riječi: bronhijalna hiperreaktivnost, astma

Celijakija – klinički kameleon

Marija Friščić¹

¹Institut za bolesti djece, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Celijačna bolest je autoimunska oboljenja koje je izazvano unošenjem glutena kod genetski predisponiranih osoba. Učestalost u opštoj populaciji je oko 1%. Kod oboljelih od celijakije, unos glutena iz pšenice, raži i ječma pokreće hronično zapaljenje sluznice tankog crijeva. To dovodi do smanjenja funkcije tankog crijeva sa znakovima malapsorpcije. Dugo se mislilo da je celijakija rijetko oboljenje od kojeg obolijevaju djeca, ali sada znamo da se javlja u bilo kojem uzrastu.

Karakteristični klinički simptomi bolesti, kao što su dijareja i sindrom malapsorpcije, nijesu više najčešće forme bolesti. Atipični simptomi i tihe forme bolesti su sve češće. Na osnovu kliničke slike, pacijenti se dijele u dvije grupe: simptomatska i asimptomatska. Simptomatska celijačna bolest se prezentuje gastrointestinalnim ili ekstraintestinalnim simptomima. Dijareja, nadutost, bolovi u stomaku, opstipacija, povraćanje su najčešći simptomi digestivnog trakta. Anemija, iscrpljenost, umor, bolovi u zglobovima, neadekvatno napredovanje, gubitak tjelesne mase, nizak rast su najčešći ekstraintestinalni simptomi. Simptomi su obično posljedica kombinacije zapaljenjskog procesa, nutritivnog deficita izazvanog nedovoljnom apsorpcijom hranljivih materija i autoimunskom reakcijom na enzim tkivne transglutaminaze. Celijačna bolest može biti i potpuno asimptomatska, i tu razlikujemo latentnu i potencijalnu formu.

Sa ovim širokim spektrom simptoma, celijakija je pravi kameleon, koju je nekad izuzetno teško dijagnostikovati.

Ključne riječi: celijakija, dijagnostičke dileme

OSTALI SAŽECI

Odnos kortizola i DHEA (DHEAS) kao potencijalni biomarker stresa i mogući uzrok neplodnosti

Vesna Radonjić¹

¹*Biohemijsko-hematološka laboratorija, Kliničko bolnički centar Kotor, Kotor, Crna Gora*

Uvod: Žene sa neplodnošću prijavljuju povišen nivo anksioznosti i depresije, pa je jasno da neplodnost izaziva stres. Još iz biblijskih vremena se pretpostavljalo da stres može ometati plodnost. Ovo postavlja jedno od najznačajnijih pitanja odnosa uma i tela: da li neplodnost izaziva stres, ili stres uzrokuje neplodnost? Odgovor do sada nije jasan; veza između stresa i neplodnosti možda nema jasan uzrok i posledice. Kortizol i dehidroepiandrosteron (DHEA) (najčešći oblik u cirkulaciji je dehidroepiandrosteron sulfat (DHEA-S)) su hormoni koji proizvode nadbubrežne žlezde i oba mogu uticati na otpornost na stres, funkciju mozga i ponašanje jedan naspram drugog, održavajući homeostazu organizma.

Cilj: Procena odnosa između kortizola i DHEA-S (CDR) u različitim starosnim grupama i grupi žena u fertilnoj dobi sa problemom infertiliteta.

Materijal i metode: Ispitano je ukupno 80 zdravih žena (od 10–60 godina), podeljenih u 5 starosnih grupa. Svim ispitanicama je određivan nivo kortizola i DHEA-S u okviru sistematskog pregleda. Većina je imala potomstvo ili bez jasne želje da

ga ostvare u skoroj budućnosti. Testirana je i grupa od 30 žena u fertilnoj dobi od 20–40 godina, podeljena u dve starosne grupe koje su započinjale ispitivanje zbog infertiliteta duže od 1 godine. Krv je uzorkovana u 8h ujutro posle perioda mirovanja od 30 min. Kortizol i DHEA-S određivani su na aparatu: *cobas® e 411*, metodom elektrohemiluminiscencije (ECLIA). Dobijeni podaci su upoređeni statističkim metodama: analiza varijanse i studentov t-test.

Rezultat: Analizom varijanse između starosnih grupa ispitanica u kontrolnoj grupi, dobijamo statistički značajnu razliku u srednjim vrednostima za DHEA-S, sa konstatnim padom sa starošću, kao i odnosa kortizola i DHEA-S koji raste, jer su vrednosti kortizola tek u najstarijoj grupi više. Poređenjem kontrolne grupe iste starosne dobi sa grupom ispitanica sa problemom infertiliteta dobijamo statistički značajno više vrednosti CDR ($p < 0.001$) i niži DHEA-S ($p < 0.001$).

Zaključak: Integracijom hormonskih procena i intervencija u kliničkoj praksi, kroz suplementaciju pregnolona ili psihoterapije, otvaraju se mogućnosti za poboljšanje dijagnostičke tačnosti, terapijskih strategija i ukupnog ishoda kod pacijentkinja opterećenih infertilitetom.

Ključne reči: kortizol, DHEA-S, stres, infertilitet

Autoaglutinacija eritrocita i njeni efekti na parametre krvne slike kod hladnih aglutinina – prikaz slučaja

Jelena Boljević¹, Ivana Milašević¹, Mirjana Pejović¹, Tatjana Đurović¹

¹Centar za Kliničko-laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne Gore

Bolest hladnih aglutinina (*Cold agglutinin disease (CAD)*) je rijetko oboljenje koje se odlikuje prisustvom na hladnoću senzitivnih antitijela, najčešće IgM klase i autoantitijela koja se aktiviraju na temperaturi ispod 30 °C. Navedena antitijela su usmjerena protiv eritrocita (I antigen ili Pr antigen) uzrokujući njihovu posledičnu aglutinaciju i hemolizu tj. autoimunu hemolitičku anemiju. CAD može biti primarna, još uvijek nepoznatog porijekla ili sekundarna koja se pojavljuje kao pratilac drugih stanja (infekcija, ostalih autoimunih bolesti ili maligniteta).

Pacijentkinja, 63 godine starosti, upućena od strane izabranog ljekara sa dijagnozom D59 (*Anaemia haemolytica acquisita*) javlja se kao ambulantni pacijent sa uputom za određivanje krvne slike (KS) i biohemijskih analiza. Parametri KS rađeni na analizatoru *XN 3100*, proizvođač *Sysmex*, su sledeći: eritrociti $0.55 \times 10^{12}/L$, hemoglobin 114 g/L, hematokrit 0.063, MCV 114.5 fL, MCH 207.3 pg, MCHC 1810 g/L, RDW-SD 54.2 fL, RDW-CV 22.4%, leukociti $9.58 \times 10^9/L$, trombociti $369 \times 10^9/L$ uz komentar od strane analizatora *RBC agglutination? Turbidity/HGB interf?* Pregledom krvnog razmaza uočena je izrazita aglutinacija eritrocita i pojava gubitka centralnog

rasvjetljenja zbog preklapanja ćelija. Inspekcijom je isključeno postojanje lipemije pa je usled sumnje na prisustvo hladnih aglutinina odrađeno zagrijavanje uzorka za KS u vodenom kupatilu na 37 °C tokom 60 minuta. Ponovljeni parametri KS redom: 3.46; 114; 0.353; 102.0; 32.9; 323; 54.8; 15.1; 12.02; 396. Ostali odrađeni parametri: SE 9 mm/h, urea 3.0 mmol/L, kreatinin 52 μ mol/L, CRP 1.0, LDH 630 IU/L; AST i ALT u referentnom opsegu kao i RF.

S obzirom da hladni aglutinini dovode do aglutinacije eritrocita očekivano je da njihov broj, kao i vrijednost hematokrita prilikom određivanja parametara KS budu smanjeni, uz nepromijenjene vrijednosti hemoglobina, pa je logično da se najveće promjene odražavaju na parametar MCHC (u našem primjeru 1810 g/L prije zagrijavanja i 323 g/L posle zagrijavanja uzorka) koji bude umjereno do izrazito povišen.

Ključne riječi: Hladni aglutinini, IgM antitijela, eritrociti, MCHC

Uticaj performansi hematoloških analizatora na interpretaciju broja leukocita i NRBC u perifernoj krvi novorođenčadi – prikaz slučaja

Marija Femić¹, Ivana Milašević¹, Marija Friščić²

¹Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne Gore

²Odjeljenje za laboratorijsku dijagnostiku, Institut za bolesti djece, Klinički centar Crne Gore

Nucleated Red Blood Cells (NRBC) predstavljaju nezrele forme eritrocita koje još uvijek sadrže jedro i u normalnim uslovima se ne nalaze u perifernoj krvi odraslih osoba za razliku od novorođenčadi kod kojih je njihovo prisustvo normalno u prvim danima života. Određivanje NRBC vrši se na hematološkim brojačima (diferencijalno brojanje zahtijeva WNR kanal u kojem se razdvajaju bazofili i NRBC-ovi), ali moramo imati na umu da neki hematološki brojači nemaju mogućnost određivanja njihovog broja pa ih prilikom određivanja svrstavaju u leukocite, čime se dobija veći broj leukocita u odnosu na realni.

Novorođenče majke koja ima nedostatak enzima glukoza-6-fosfat dehidrogenaze je nakon rođenja i inicijalno odrađene krvne slike u Centru za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog centra Crne Gore metodama impedance i fluorescence na analizatoru Sysmex XN-3100, (eritrociti $2,39 \times 10^{12}$, leukociti $31,30 \times 10^9$, trombociti 97×10^9) premješteno u Institut za bolesti djece gdje su rezultati krvne slike bili sledeći: eritrociti $2,83 \times 10^{12}$, leukociti $110,63 \times 10^9$, trombociti 103×10^9 .

Analizator u Institutu za bolesti djece kojim je vršeno određivanje, takođe metodama impedance i fluorescence je *Sysmex XL350*.

Zbog velikog broja leukocita i sumnje na akutnu leukemiju poslat je zahtjev da se odradi i protočna citofluorimetrija. Rezultati protočne citofluorimetrije su pokazali da su populacije limfocita (17,6% leukocita), neutrofila (70,3% leukocita), monocita (6,3%) i mijeloblasta (0,68% leukocita) bile u referentnom opsegu za dati uzrast čime je isključena dijagnoza akutne leukemije.

Nakon konsultacija sa ordinirajućim kliničarem i između laboratorija uvidjelo se da se broj leukocita dobijen određivanjem u dvije laboratorije istog dana značajno razlikovao. Došlo se do zaključka da je analizator u laboratoriji Instituta za bolesti djece populaciju NRBC mjerio kao populaciju leukocita (limfocita), čime se objašnjava velika razlika u vrijednostima leukocita između dvije laboratorije.

Iz navedenog vidimo važnost poznavanja performansi analizatora na kojem radimo u svakodnevnoj praksi čime se smanjuje mogućnost sumnje na pogrešne dijagnoze, ali i broj zahtijeva za dodatnim i specifičnim laboratorijskim analizama.

Ključne riječi: hematološki analizator, interferencija, limfociti, nukleisani eritrociti

Interferencija paraproteina sa određivanjem direktnog bilirubina – prikaz dva slučaja

Tanja Antunović¹, Ivana Jovanović¹, Rima Khammash Nišavić¹

*¹Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne
Gore, Podgorica, Crna Gora*

Analitičke greške u ukupnom procesu testiranja (*total testing process* (TTP)) su tokom poslednjih decenija svedene na minimum zahvaljujući naprednijim analizatorima i boljim reagensima, zatim unapređenjem rada medicinskih laboratorija kroz njihovu akreditaciju, praćenju kvaliteta rada internim i eksternim kontrolama analitičkog procesa. Međutim, individualne karakteristike uzorka (matriksa) mogu i dalje dovesti do netačnih rezultata zbog interferencija sa analitom / analitičkom procedurom.

Dijagnostička obrada dva pacijenta u razmaku od par mjeseci u *Centru za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog centra Crne Gore* (CKLD KCCG) pokazala je neobične rezultate direktnog bilirubina. Koncentracija totalnog bilirubina kod oba pacijenta je bila u referentnom opsegu (6,9 $\mu\text{mol/L}$, 8,8 $\mu\text{mol/L}$) dok su vrijednosti direktnog bilirubina kod oba pacijenta bile višoj od vrijednosti totalnog bilirubina (16,7 $\mu\text{mol/L}$, 24,4 $\mu\text{mol/L}$). Pacijentkinja 1 (76 godina) smještena na Odjelenju hematologije KCCG, imala je visoku koncentraciju proteina (105 g/L) uz nizak nivo albumina (26 g/L), snižen GFR (56 mL/min/1,73m²) i anemiju (hemoglobin 86 g/L). Koncentracija kalcijuma je bila u referentnom opsegu, kao i broj trombocita. Pacijent 2 (65 godina)

smješten u *Centru za digestivnu hirurgiju KCCG*, imao je takođe hiperproteinemiju sa hipoalbuminemijom (proteini 114 g/L, albumin 25 g/L) praćene anemijom (hemoglobin 101 g/L) uz normalan broj trombocita i normalne koncentracije kreatinina i kalcijuma.

Uzorci oba pacijenta tretirani su polietilen glikolom (PEG) u odnosu 1+1. Nakon određivanja direktnog bilirubina iz supernatanta zaključeno je da su koncentracije istog kod oba pacijenta u referentnom opsegu i sledljive koncentracijama direktnog bilirubina (3,5 $\mu\text{mol/L}$, 4,3 $\mu\text{mol/L}$). U svakoj narednoj dijagnostičkoj obradi pacijenata vrijednost direktnog bilirubina se nije izvještavala jer se procjenilo da ista nema kliničku važnost, a pažljivo su se pratile koncentracije totalnog bilirubina i indeks ikteričnosti (HIL).

Daljom dijagnostičkom obradom (elektroforeza, imuno-fiksacija) pacijentkinje 1 u CKLD zaključeno je da je koncentracija paraproteina 71,9 g/L (48,6% koncentracije proteina) i da se radi o IgM lambda paraproteinu. Konačna dijagnoza pacijentkinje 1 bila je Waldenstromova makroglobulinemija. Pacijent 2 nije dalje dijagnostički obrađivan zbog letalnog ishoda.

Interferencija paraproteina sa određivanjem drugih parametara opisana je u literaturi za različite parametre i razne tehnike (spektrofotometrija, turbidimetrija, nefelometrija, rjeđe imunohemija). Najčešće interferencije paraproteina opisane su u određivanju totalnog i direktnog bilirubina, mokraćne kiseline, fosfata, natrijuma, kreatinina, C reaktivnog proteina (CRP), HDL-holesterola, vankomicina.

Neophodno je dobro poznavati metodologiju svakog testa koja se koristi u laboratoriji, nikada ne zaboraviti moguće interferencije u određivanju i uvijek koristiti neku od metoda za dokazivanje interferencije i dobijanje što preciznijeg rezultata (npr. serijska dilucija, precipitacija PEG-om).

Ključne riječi: interferencija, analitička faza testiranja, PEG precipitacija, paraprotein

Mikroalbuminurija - skrining

Aleksandra Stefanović Tomić¹, Biljana Dapčević¹

¹JZU Dom zdravlja Herceg Novi, Herceg Novi, Crna Gora

Mikroalbuminurija predstavlja izlučivanje malih količina albumina u urin, i to između 30 i 300 mg/24h, a ukazuje na povećanu stopu kardiovaskularnih bolesti (srčanih, cerebrovaskularnih i perifernih vaskularnih bolesti) i smrtnosti, kako kod bolesnika sa hipertenzijom i diabetes melitusom (DM), tako i u opštoj populaciji.

Istraživanje je rađeno u *Centru za laboratorijsku dijagnostiku JZU Doma zdravlja Herceg Novi*, od oktobra 2023. godine do aprila 2024. godine kao početna faza skrininga koja je izdvojila pacijente sa mikroalbuminurijom u jednom uzorku urina, kod pacijenata koji su se u tom periodu dijagnostički obrađivali u Centru. Odabir pacijenata je vršen na osnovu starosne dobi (rođeni prije 1960. godine) i / ili radne dijagnoze na uputu koji su donijeli prilikom posjete (hipertenzija, DM, kardiovaskularna oboljenja. Uzorak izbora je bio prvi jutarnji urin. Mikroalbumin u uzorcima određivan je test trakama

(*Micral*, proizvođača *Roche*) čiji je princip rada zasnovan na imunološkom testu koji koristi zlatom obilježena monoklonska antitijela sa hromogenim indikatorom, koja su specifična za humani albumin. Rezultat se dobija 1 minut nakon uranjanja trakice u urin u trajanju od 5 sekundi i poređenjem dobijene jačine boje hromogena sa skalom koja ima 4 nivoa:

- Bez obojenja - normalna koncentracija albumina u urinu;
- Blago ružičasto obojenje - mikroalbuminurija u koncentraciji većoj od 20 mg/L;
- Tamnije ružičasto obojenje - mikroalbuminurija u koncentraciji od 50 do 100 mg/L;
- Jako ružičasto obojenje - mikroalbuminurija u koncentraciji većoj od 100 mg/L.

Testirano je 550 uzoraka od čega je 118 (21,45%) dalo pozitivan rezultat na prisustvo albumina u urinu.

Mikroalbuminurija je stanje koje je potrebno ozbiljno shvatiti. 80% pacijenata sa DM tip 2 ima i hipertenziju i čak 1/3 njih će razviti renalnu bolest, a 25% osoba već prilikom postavljanja dijagnoze ima i mikroalbuminuriju. Kada se kod pacijenata nađe pozitivan nalaz mikroalbumina u urinu, potrebno je ponoviti testiranje za 3 do 6 mjeseci, a ukoliko se i tada nađe pozitivan nalaz potrebno je pristupiti korekciji antihipertenzivne i antidijabetične terapije, redovno kontrolisati krvni pritisak, smanjiti tjelesnu masu i dnevni unos proteina.

U početnoj fazi našeg istraživanja je nađeno da je čak 21,45% testiranih uzoraka bilo pozitivno na mikroalbuminuriju i da su to zapravo novootkrivena stanja poremećaja rada bubrega.

Pozitivno je bilo 118 uzoraka, od čega 71 sa vrijednošću mikroalbuminurije od preko 20 mg/L, 29 sa vrijednošću mikroalbuminurije od 50 do 100 mg/L i 18 pacijenata sa vrijednošću od preko 100 mg/L. Najveći broj pacijenata bio je u ranoj fazi oštećenja rada bubrega kada bi trebalo da se pristupi korektivnim mjerama i time da se pokuša sačuvati bubrežna funkcija.

Ključne riječi: mikroalbuminurija, skrining, bubrežne bolesti

Laboratorijska diferencijacija proteinurije: od elektroforeze i algoritama do značaja odnosa alfa-1-mikroglobulina i albumina sa kreatininom u urinu – rana dijagnostika Dentovog sindroma, prikaz slučaja

Tanja Antunović¹, Bojana Obradović¹, Branko Lutovac²

¹Centar za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

²Institut za bolesti djece, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Nedovoljno napredovanje odojčadi i djece do 3. godine života predstavlja kompleksan klinički i dijagnostički izazov, često zahtijevajući sveobuhvatan laboratorijski pristup. Proteinurija može biti rani indikator različitih patoloških stanja, uključujući rijetke genetske poremećaje poput Dentovog sindroma. Ovaj rad prikazuje laboratorijski pristup diferencijaciji proteinurije kod djeteta sa inicijalnim simptomima nedovoljnog napredovanja u tjelesnoj masi i visini.

U početnoj fazi dijagnostike, kod pacijenta muškog pola u životnoj dobi od 2 godine je urađena analiza urina koja je uključivala elektroforezu i imunofiksaciju proteina radi kvalitativne i kvantitativne procjene proteinskog profila. Dodatno, primijenjeni su različiti dijagnostički algoritmi (prema *Lothar Thomas*-ovim vrijednostima odlučivanja) sa izračunavanjem indeksa selektivnosti proteinurije. U cilju preciznije kvantifikacije glomerularne i tubularne disfunkcije, određivan je odnos koncentracije albumina i alfa-1-mikroglobulina u urinu i koncentracije kreatinina. Analizirani su uzorci drugog jutarnjeg urina, 24-časovnog urina i seruma.

Rezultati elektroforeze i imunofiksacije proteina urina (koncentracija proteina iz 24h urina 1,61 g/L) pružili su uvid u tip proteinurije: mješovita, glomerularno-tubularna proteinurija sa sledećim profilom proteina iz urina izdvojenim uz pomoć specifičnih antitijela: makroglobulini, mikroglobulini, teški lanci imunoglobulina G, M, A, i poliklonalni laki lanci imunoglobulina κ i λ . Koncentracije albumina (281,1 mg/L), alfa-1-mikroglobulina (196,0 mg/L), RBP (84,7 mg/L) i IgG (77,30 mg/L) iz drugog jutarnjeg urina (koncentracija proteina – 1,95 g/L) su bile visoke, dok su koncentracije beta-2-mikroglobulina, transferina i alfa-2-makroglobulina bile u referentnom opsegu. Dijagnostički algoritmi sa indeksom selektivnosti pomogli su u razlikovanju glomerularnog i tubularnog oštećenja. Odnos alfa-1-mikroglobulina i IgG sa albuminom iz urina ukazivao je na mješovitu proteinuriju – neselektivnu glomerularnu i tubularnu, što je potvrđeno izračunavanjem indeksa selektivnosti proteinurije (klirens IgG/klirens transferina). Određivanje odnosa alfa-1-mikroglobulina i albumina prema kreatininu u urinu ukazivalo je na tubulointersticijalnu nefropatiju.

Konačna dijagnoza Dentovog sindroma postavljena je na osnovu genetskih analiza.

Laboratorijska diferencijacija proteinurije korišćenjem elektroforeze, algoritama selektivnosti i kvantifikacije specifičnih proteina poput alfa-1-mikroglobulina i albumina u odnosu na kreatinin, predstavlja značajan doprinos ranoj dijagnostici kompleksnih pedijatrijskih stanja kao što je Dentov sindrom. Integracija ovih laboratorijskih nalaza sa kliničkom slikom i genetskim potvrdama ključna je za pravovremenu i preciznu dijagnozu.

Ključne riječi: laboratorijska diferencijacija proteinurije, elektroforeza proteina urina, algoritmi, alfa-1-mikroglobulin, Dentov sindrom

Uticaj lijekova na rezultate biohemijskih i toksikoloških urinskih analiza

Jana Đapić Šavelić¹, Bojana Obradović¹, Marija Femić¹

¹Centar za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku, Klinički centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Uvod: Laboratorijska analiza urina je nezamjenjiv dijagnostički alat u kliničkoj praksi, ali i u forenzičkoj toksikologiji. Osim što se koristi u dijagnostici mnogih patoloških stanja, urin je ključni biološki materijal za detekciju psihoaktivnih supstanci (PAS). Lijekovi mogu uticati na tačnost obje vrste analiza – hemijskom interferencijom, fizičkim promjenama u uzorku ili stvaranjem metabolita koji imaju sličnu hemijsku strukturu kao PAS.

Metodologija: U radu je sproveden pregled dostupne naučne i stručne literature iz oblasti kliničke biohemije i farmakologije, sa ciljem identifikovanja lijekova koji imaju uticaj na najčešće korišćene biohemijske i toksikološke analize urina. Posebna pažnja posvećena je lijekovima koji utiču na parametre poput proteina, glukoze, ketona, bilirubina, kao i onima koji mogu uzrokovati pogrešnu detekciju supstanci poput tetrahidrokanabinola (THC), kanabisa, amfetamina, opioda i benzodiazepina u standardnim skrining testovima.

Rezultati: Utvrđeno je da veliki broj lijekova, uključujući rifampicin, metadon, ibuprofen, efedrin, antidepresive, mogu značajno uticati na rezultate urinskih analiza. Zabilježeni su slučajevi lažno pozitivnih rezultata na THC, amfetamine i benzodiazepine, što može imati opsežne posljedice, kliničke i pravne. Identifikovani su i opisani mehanizmi djelovanja kojim lijekovi mijenjaju boju urina, interferiraju sa test trakama, utiču na izlučivanje supstanci.

Zaključci: S obzirom na sveprisutnu farmakoterapiju, poznavanje njenog potencijalnog uticaja na laboratorijske nalaze je od ključne važnosti za pravilnu dijagnostiku i donošenje odluka u kliničkoj i pravnoj praksi. Preporučuje se uvođenje protokola za identifikaciju potencijalnih interferencija u svakodnevnoj laboratorijskoj praksi, kontinuirana edukacija medicinskog kadra o ovoj problematici, kao i primjena naprednih analitičkih metoda za preciznu identifikaciju i kvantifikaciju ispitivanih supstanci.

Ključne riječi: lijekovi, interferencija, toksikološke analize, biohemijske analize, urin

Uticaj dužine dijaliziranja na parameter mineralno koštanog metabolizma kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi

Aleksandra Stefanović Tomić¹, Biljana Dapčević¹

¹JZU Dom zdravlja Herceg Novi, Herceg Novi, Crna Gora

Hronična bubrežna insuficijencija (HBI) je progresivno i ireverzibilno oštećenje bubrega uz smanjenje broja funkcionalnih nefrona koje dovodi do potpunog gubitka bubrežne funkcije i potrebe za liječenjem hemodijalizom. Jedna od komplikacija koja se javlja u sklopu HBI je i poremećaj mineralno-koštanog metabolizma što vremenom dovodi do koštane bolesti.

Cilj istraživanja je bio procjena uticaja dužine dijaliznog staža na biohemijske parametre mineralno koštanog metabolizma kod pacijenata na hemodijalizi.

Istraživanje je obuhvatilo 35 pacijenata prosječne starosti 62.94 ± 14.85 godina, podjeljenih u 3 grupe u odnosu na dužinu dijaliznog staža (I grupa - do 5 godina, II grupa - 5 do 10 godina; III grupa - preko 10 godina).

Fosfor, kao najvažniji parameter kontrole mineralno koštanog metabolizma, je kod najvećeg broja ispitanika sve tri grupe povišen (I 2.14 ± 0.68 ; II 1.71 ± 0.63 ; III 2.08 ± 0.90), s tim što je prosjek vrijednosti u II grupi nešto niži, a među grupama nema statistički značajne razlike (I:II $p=0.1320$; I:III $p=0.8472$; II:III $p=0.3178$). Prosječne vrijednosti kalcijuma (Ca) su približno iste u svim grupama (I 2.42 ± 0.09 ; II 2.31 ± 0.41 ; III 2.42 ± 0.32), a među grupama nema statistički značajne razlike

(I:II $p=0,9283$; I:III $p=0.9568$; II:III $p=0.9938$). Prosječne vrijednosti proizvoda CaxP su sledeće: I 5.18 ± 1.61 ; II 3.87 ± 1.46 i III 5.09 ± 2.35 . I:III ($p=0.9173$) i II:III ($p=0.2220$) ne daju statistički značajnu razliku, dok je I:II sa $p=0.0660$, razlika granične statističke značajnosti. Paratireoidni hormon (PTH) je najniži u I grupi, dok je u II i III višiji, sa sličnim opsegom vrijednosti. (I 164.69 ± 175.56 ; II 440.11 ± 501.91 ; III 430.4 ± 498.80). Između II i III grupe nema statistički značajne razlike (II:III $p=0.9668$). Dok je razlika između I:II ($p=0.0559$) i I:III ($p=0.0611$) grupe granično statistički značajna. Alkalna fosfataza (ALP) je nešto viša kod ispitanika iz I grupe (I 103.93 ± 86.93 ; II 87.54 ± 49.95 ; III 72.70 ± 54.22). Među grupama nema statistički značajne razlike (I:II $p=0.6102$; I:III $p=0.3202$; II:III $p=0.5449$).

U današnje vrijeme je praćenje predijaliznih pacijenata takvo da se preduzimaju sve farmakološke mjere koje dovode do jako dobre kontrole brojnih parametara mineralno koštanog metabolizma i njihovog manjeg odstupanja od preporučenih vrijednosti nego što je to bilo ranije.

Našim istraživanjem smo pokazali da su vrijednosti fosfora povišene kod gotovo svih pacijenata u 3 ispitivane grupe. Mogući uzrok je nekomplijansa pacijenata (u kombinaciji ishrane bogate fosforom i neuzimanja preparata koji vezuju fosfor), ali i težak balans unosa dovoljne količine proteina i nivoa fosfora u serumu (potreban je unos preparata koji vezuje fosfor uz svaki obrok i međuobrok).

Vrijednosti kalcijuma su približno iste u svim grupama.

Vrijednosti PTH su niže kod pacijenata u I grupi u odnosu na pacijente u II i III, dok su vrijednosti ALP nešto višije u I u

odnosu na II i III grupu, a inače su vrijednosti ALP u korelaciji sa količinom hrane koju pacijenti unose. Takođe, kod pacijenata sa jako velikim skokom PTH, dolazi i do porasta ALP.

Ključne riječi: dijaliza, koštani metabolizam

Uticaj pneumatskog transportnog sistema (PTS) na kvalitet koagulacionih i hematoloških analiza

Tamara Knežević¹, Ardita Gjeka Veliu¹, Marija Zeković¹

¹Opšta bolnica "Blažo Orlandić", Bar, Crna Gora

Uvod: Automatizacija pomaže u poboljšanju operative efikasnosti laboratorije i smanjenju vremena obrade. Pneumatski sistemi cevi (PTS) automatizuju transport uzoraka između laboratorije i drugih delova bolnice. Prema dostupnim podacima uticaj PTS-a na kompletnu krvnu sliku (KKS) i koagulaciju je i dalje kontroverzan.

Cilj: Proučiti efekte transporta uzoraka pneumatskim sistemom cevi na parametre kompletne krvne slike i koagulacije kako bi se uporedili sa ručno dostavljenim uzorcima.

Metode: Korišćeno je 26 uparenih uzoraka zdravih pojedinaca za kompletnu krvnu sliku i 10 uparenih uzoraka za analizu koagulacije i izvršeno je poređenje između uzoraka poslatih putem pneumatskog sistema cevi i ručno dostavljenog sistema. Izvršeno je poređenje za broj eritrocita (RBC), leukocita (WBC), neutrofila (Ne), limfocita (Ly), monocita (Mo),

eozinofila (Eo) i bazofila (Ba) i broj trombocita (PLT). Upoređivani su D-dimer, fibrinogen, protrombinsko vreme (PT) i aktivirano parcijalno tromboplastinsko vreme (aPTT). Uzorci su poslani do najudaljenije stanice u bolnici, a zatim su vraćeni istim putem, prešavši put od 260 m. Brzina kretanja kapsule sa uzorcima je 3 m/s.

Rezultati: Hematološki parametri se nisu razlikovali značajno između uzoraka transportovanih PTS-om i ručno dostavljenih. Nije pronađen značajan efekat PTS-a u uzorcima D-dimera, fibrinogena, PT i aPTT u poređenju sa ručno dostavljenim uzorcima.

Zaključak: Uzorci koje smo koristili su uzorci krvi zdravih pojedinaca i pokazali smo da se uzorci za kompletnu krvnu sliku i koagulaciju mogu bezbedno transportovati putem pneumatskog transportnog sistema naše bolnice. Dalja ispitivanja bi bila transport uzoraka onkoloških pacijenata i ispitivanje uticaja PTS- na kvalitet uzorka.

Ključne riječi: pneumatski transportni sistem, kvalitet uzorka

Uticaj pneumatskog transportnog sistema na rezultate laboratorijskih analiza

86

Marija Zeković¹, Tamara Knežević¹, Ardita Gjeka Veliu¹

¹Opšta bolnica „Blažo Orlandić“ Bar

Pneumatski transportni sistem (PTS) omogućava brz transport uzoraka pomoću vakuma između laboratorije i

bolničkih odeljenja. Kako prilikom transporta usled naglih ubrzanja i vibracija može doći do narušavanja integriteta samog uzorka, sprovedi smo istraživanje s ciljem procene potencijalnog uticaja PTS-a na rezultate laboratorijskih analiza. U istraživanju je učestvovalo 26 zdravih dobrovoljaca. Analizirali smo sledeće parametre u uzorcima seruma: alanin aminotransferazu (ALT), aspratat aminotransferazu (AST) i laktat dehidrogenazu (LDH). U uzorcima plazme smo određivali ALT i AST.

Epruvete su nakon uzorkovanja transportovane po kuriru sa punkta do same laboratorije, a zatim je po jedna epruveta za svakog pacijenta transportovana pneumatskim sistemom pre centrifugiranja, dok je druga epruveta centrifugirana nakon završetka procesa koagulacije, bez prethodnog transporta pneumatskim sistemom. Cilj je bio da procenimo razlike u laboratorijskim rezultatima uzoraka, koji su bili podvrgnuti različitim metodama transporta.

Rezultati su pokazali statistički značajne razlike u vrednostima ALT i LDH u uzorku seruma između uzoraka transportovanih pneumatskim sistemom i onih koji nisu transportovani istim. Međutim, te razlike nisu klinički značajne, što znači da nisu uticale na donošenje dijagnostičkih i terapijskih odluka. Vrednosti AST nisu pokazale ni statistički ni klinički značajne razlike.

U uzorcima plazme nije bilo statističke razlike u vrednostima ALT i AST između uzoraka transportovanih PTS-om i onih koji nisu transportovani PTS-om.

Ovim istraživanjem smo zaključili da pneumatski transportni sistem može izazvati blage promene u vrednostima

ALT i LDH, ali te promene nemaju klinički značaj. Shodno tome, PTS se može smatrati efikasnom i pouzdanom metodom za transport uzoraka u zdravstvenim ustanovama.

Ključne riječi: pneumatski transportni sistem, kvalitet analize, aspartat aminotransferaza, alanin aminotransferaza, laktat dehidrogenaza

INDEKS AUTORA

Aleksandar Zekić, 65
Aleksandra Klisić, 58
Aleksandra Sretenović, 47
Aleksandra Stefanović Tomić, 77,
83
Anamarija Bogić, 16
Anđelka M. Isaković, 34
Andrija Bogdanović, 47
Aneta Ranđelović Živković, 7
Ardita Gjeka Velju, 85, 87

Biljana Dapčević, 77, 83
Biljana Luković, 40
Bojana Obradović, 79, 81
Božica Kecman, 27
Branko Lutovac, 79

Damir Muhović, 32
Danilo Radunović, 11

Erdal Ajanović, 43

Filip Tomović, 11

Irena Barać, 63
Ivana Jovanović, 75
Ivana Milašević, 49, 71, 73
Ivana Pašić, 45
Ivana Radunović, 11
Ivana Z. Matić, 45

Jana Đapić Šavelić, 81
Jelena Bila, 47

Jelena Boljević, 3, 71
Jelena Jovović, 28
Jelena Kotur-Stevuljević, 60

Kenan Preljević, 45
Ksenija Fumić, 24

Lidija Bilić-Zulle, 20

Marija Femić, 73, 81
Marija Friščić, 67, 73
Marija Gavranović Mandić, 39
Marija Zeković, 85, 87
Marko Baralić, 56
Marko Mitrović, 47
Milena Dapčević, 11, 14
Milorad Vlaović, 45
Miloš Brkušanin, 25
Mirjana Pejović, 71

Nada Kraguljac Kurtović, 47
Nevena Terzić Stanić, 30
Nina Petrović, 45

Radivoj Jadrić, 61
Rima Khammash Nišavić, 75

Sanja Borožan, 6
Sanja Medenica, 5
Slađana Krivokapić, 45
Snežana Jovičić, 18
Svetlana Perović, 45

Tamara Jovičević, 36

Tamara Knežević, 22, 85, 87

Tamer Bego, 42

Tanja Antunović, 11, 51, 75, 79

Tatjana Cvetković, 9

Tatjana Đurović, 71

Tatjana Stanojković, 45

Tihomir Stojković, 54

Tijana Dragović Ivančević, 47

Vesna Knežević, 47

Vesna Radonjić, 69

Vladimir Prelević, 11

Zoltán Prohászka, 11



cgdrustvokhlm@gmail.com

