

**XV KONGRES
MEDICINSKE
BIOHEMIJE I
LABORATORIJSKE
MEDICINE**

NOVI SAD, 17–21. oktobar 2006.

**XV CONGRESS
OF MEDICAL
BIOCHEMISTRY
AND LABORATORY
MEDICINE**

NOVI SAD, 17–21. October 2006.

PLENARNE SEKCIJE

PLENARY SESSIONS

Sekcija 1
GENOM I PROTEOM

Session 1
GENOM AND PROTEOM

Jugoslav Med Biohem 25: 433–435, 2006

*Plenarne sekcije
Plenary sessions*

**MODULATORI TARGET MESTA GENOMSKE
I PROTEOMSKE REDOKS ĆELIJSKE
SIGNALIZACIJE U KANCEROGENEZI:
NOVE DIJAGNOSTIČKE I TERAPIJSKE
MOGUĆNOSTI**

D. Pavlović, G. Kocić, T. Jevtović Stoimenov

*Institut za biohemiju,
Medicinski fakultet Niš, Srbija*

U složenom putu prenosa signala kroz ćeliju delovanjem faktora spoljašnje sredine, pokreće se transmisija signala kroz specifičnu komunikaciju, interakciju protein-protein (fosforilacija, defosforilacija, asocijacija, disocijacija, oksidacija, glikacija, nitrozilacija, proteoliza) koja određuju biološki odgovor ćelije. Mnogi putevi prenosa signala kroz ćeliju kao što su JAK-STAT, MAP, PKC-kinazna kaskada, NF- κ B put transdukcije signala, podležu *down* regulaciji posredovanoj N-acetil-cisteinom i redukovanim glutationom, dok opadanje koncentracije GSH i prisutan redoks stres iniciraju njihovu aktivaciju. Aktivirani redoks signalni putevi su medijatori mitogenih efekata u kancerogenezi. Dve vrste gena, koji inače čine samo jedan mali deo genoma humane ćelije, ostvaruju ključnu ulogu u kancerogenezi. Disfunkcija protoonkogeni i tumor supresor gena dovodi do poremećaja u regulaciji puteva prenosa signala koji kontrolišu ćelijski ciklus, apoptozu, stabilnost genoma, diferencijaciju i morfogenezu. Promene u ovim važnim fiziološkim procesima odgovorne su ne samo za inicijaciju i promociju maligne transformacije ćelije već i za dalju progresiju tumora. Slobodni radikali i njihovi oksidativno modifikovani produkti dovode do aktiviranja kritičnih senzornih mesta u proteomu signalnih puteva koji kontrolišu ćelijsku proliferaciju, apoptozu i promenu ćelijskog fenotipa. Stoga je veoma važno definisanje terapijskih indikacija primene antioksidanata i drugih modulatora target mesta redoks ćelijske signalizacije genomike i proteomike kao složene mreže multifaktorijske onkogene kolaboracije u procesu kancerogeneze.

**REDOX CELL SIGNALING GENOMICS
AND PROTEOMICS TARGET PLACE
MODULATORS IN KANCEROGENESIS:
NEW DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC
POSSIBILITIES**

D. Pavlović, G. Kocić, T. Jevtović Stoimenov

*Institute of Biochemistry,
Faculty of Medicine, Niš, Serbia*

Within the complex process of signal transduction through the cell under the influence of external factors, signal transmission is initiated through a specific communication, protein-protein interaction (phosphorylation, dephosphorylation, association, dissociation, oxidation, glycation, nitrosylation, proteolysis), determining the biologic response of the cell. Many of the cellular signal transduction pathways, such as JAK-STAT, MAP, PKC-kinase cascade, NF- κ B signal transduction pathway, undergo down regulation mediated by N-acetyl-cystein and reduced glutathione, while the decline of GSH concentration and redox stress initiate their activation. Activated redox signaling pathways are the mediators of mitogenic effects in cancerogenesis. Two types of genes, comprising only a small part of the human cell genome, have a key role in cancerogenesis. Proto-oncogene and tumor suppressor gene dysfunction induce disturbances in the regulation of signal transmission pathways which control the cell cycle, apoptosis, genome stability, differentiation and morphogenesis. Alterations in these important physiologic processes are responsible not only for the initiation and promotion of malignant transformation of the cell, but for further tumor progression as well. Free radicals and their oxidatively modified products induce activation of critical sensory loci in the signal pathway proteoma, controlling cellular proliferation, apoptosis and cellular phenotype alteration. Therefore, it is vital to define the therapeutic indications for antioxidants and other modulators of target places of redox cell signaling genomics and proteomics as they are all part of a complex network of multifactorial oncogene collaboration in the process of cancerogenesis.

ANTIOKSIDATIVNI BIOMARKERI I KANCEROGENEZA

S. B. Pajović, Z. S. Saičić, S. Pejić,
J. Kasapović, V. Stojiljković, D. T. Kanazir

Laboratorija za molekularnu biologiju
i endokrinologiju, Institut za nuklearne nauke
»Vinča«, Beograd, Srbija

Nastanak kancera odvija se u tri glavne faze (inicijacija, promocija i progresija) koje uključuju oksidativni stres. Oksidativni stres definiše se kao narušavanje ravnoteže između nivoa prooksidanata i antioksidanata, u pravcu povećanja nivoa prooksidanata, što za posledicu ima nastanak ireverzibilnih oštećenja ćelija. Da bismo procenili nivo oksidativnog stresa u krvi pacijentkinja sa dijagnozom različitih formi transformacije uterusa, ispitivali smo nivo lipidne peroksidacije i aktivnost antioksidativnih enzima. Prikupljeni su uzorci krvi zdravih žena i pacijentkinja i u njima je određivana aktivnost enzima: superoksid dismutaze, katalaze, glutation peroksidaze, glutation reduktaze, kao i nivo lipidnih hidroperoksida. Rezultati pokazuju da promene ispitivanih parametara variraju u zavisnosti od vrste enzima i dijagnoze. Međutim, može se uopšteno reći da je zapaženo sniženje antioksidativne aktivnosti i povećanje nivoa lipidne peroksidacije. Pored toga, nivo lipidnih hidroperoksida je negativno korelisan sa aktivnošću superoksid dismutaze i glutation peroksidaze i pozitivno korelisan sa aktivnošću katalaze. Dobijeni rezultati takođe pokazuju da je narušavanje antioksidativnog statusa u krvi izraženije kod pacijentkinja sa premalignim (hiperplazija) i malignim (adenokarcinom) lezijama, u poređenju sa pacijentkinjama kod kojih su benigne promene uterusa dijagnostikovane kao polip ili miom.

ZNAČAJ »TISSUE MICROARRAY« TEHNIKE U DIJAGNOSTICI I PROGNOSTICI NE-HODGKINSKIH LIMFOMA, B ČELIJSKOG POREKLA

G. Marjanović¹, Lj. Veličković², V. Marjanović³,
L. Mačukanović-Golubović¹, M. Milenović¹

¹Klinika za hematologiju i kliničku imunologiju,
Klinički centar – Niš, Srbija

²Institut za patologiju, Klinički centar
– Niš, Srbija

³Klinika za dečiju hirurģiju i ortopediju,
Klinički centar – Niš, Srbija

Nova tehnologija »tissue microarray« (TMA) omogućava brzu i ekonomičnu analizu stotine markera na istom setu uzoraka. Najznačajniji nedostatak TMA tehnologije je mala količina tkiva koje se analizira, što je nepogodno kod heterogenih tkiva kao što su lim-

ANTIOXIDATIVE BIOMARKERS AND CANCEROGENESIS

S. B. Pajović, Z. S. Saičić, S. Pejić,
J. Kasapović, V. Stojiljković, D. T. Kanazir

Laboratory of Molecular Biology
and Endocrinology, Vinča Institute of
Nuclear Sciences, Belgrade, Serbia

Cancer development includes three major steps, initiation, promotion and progression, in which oxidative stress is involved. Oxidative stress is defined as an imbalance between the levels of prooxidants and antioxidants in favour of the former and resulting in irreversible cell damage. We examined the lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in women diagnosed with different forms of uterine cell transformations in order to evaluate the extent of oxidative stress in the blood of such patients. Blood samples of healthy subjects and gynecological patients were collected and subjected to assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and lipid hydroperoxides. The results show that alterations of the measured parameters vary with the enzyme type and diagnosis. However, both reduction in antioxidants and elevation of lipid peroxidation were observed in general. In addition, lipid hydroperoxide levels were negatively correlated with superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities, as well as positively correlated with catalase activity. The obtained results also show that perturbation of the antioxidant status is more pronounced in blood of patients with premalignant (hyperplastic) and malignant (adenocarcinoma) lesions, compared to those with benign uterine changes such as polypus and myoma.

SIGNIFICANCE OF THE »TISSUE MICROARRAY« TECHNIQUE IN DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF B NON HODGKIN'S LYMPHOMAS

G. Marjanović¹, Lj. Veličković², V. Marjanović³,
L. Mačukanović-Golubović¹, M. Milenović¹

¹Clinic of Hematology and Clinical Immunology,
Clinical Center »Niš«, Niš, Serbia

²Institute of Pathology,
Clinical Center »Niš«, Niš, Serbia

³Clinic of Child Surgery and Orthopedia,
Clinical Center »Niš«, Niš, Serbia

The novel technology of tissue microarray (TMA) allows rapid and cost-effective analysis of hundreds of markers on the same set of specimens. Limited amounts of tissue that could be analyzed and the problem of tissue heterogeneity are the major draw-

fomi. Ovaj nedostatak je nadmašen velikim prednostima koje se ogledaju u homogenosti, efikasnosti i ekonomičnosti imunohistohemijske analize TMA uzoraka. U Ne-Hodginskim limfomima TMA detekcija transkripcionih faktora imunoglobulinskog gena Oct1 i Oct2 i njihovog koaktivatora BOB1 je naročito značajna za razlikovanje T-ćelijama bogatog B-ćelijskog limfoma od klasine-Hodgkinove bolesti, nodularno limfocitno predominantnog Hodgkinovog limfoma i plazmablastnih limfoma. Predviđanje preživljavanja obolelih od pojedinih podtipova difuznog B limfoma krupnih ćelija upotrebom TMA bilo je kompatibilno sa rezultatima cDNK »microarray« analiza. Detekcija p53 tumor supresorskog gena i Ki-67 proliferacionog antigena od velikog je prognostičkog značaja za brojne podtipove ne-Hodginskih limfoma. Uprkos činjenici da je ekspresija p53 i Ki-67 veoma heterogena, stepen poklapanja na TMA u odnosu na klasične imunohistohemijske isečke iznosila je 90% za p53 i 92% za Ki-67 što je dovoljno za svakodnevni rad. Nesumnjivo je da će široka upotreba TMA postati integralni deo svakodnevne kliničke ali i istraživačke prakse u laboratorijama.

backs of the TMA technique for immunohistochemical characterization of lymphomas. These problems do not outweigh the enormous advantages of TMA, namely the cost- and time-saving, and the mostly homogeneous results of immunohistochemistry. In Non Hodgkin's lymphomas (NHL), TMA detection of Oct1 and Oct2 immunoglobulin transcription factors and their coactivator BOB1 showed particularly useful in distinguishing T-cell-rich B-cell lymphomas from classical Hodgkin's disease, nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma and plasmablastic lymphomas. Outcome prediction for subtypes of diffuse large B-cell lymphomas, using a TMA panel with CD10, Bcl-6 and MUM1, was comparable to results of cDNA microarray analysis. Detection of p53 tumor suppressor gene and Ki-67 proliferation antigen is important for the prognosis of many NHL subtypes. In spite of their heterogeneity in expression, TMA showed 90 and 92% concordance rate, with conventional tissue sections for p53 and Ki-67 respectively, and that could be sufficient for routine practice. There is no doubt that the widespread use of TMAs will become an integral part of daily practice in research and routine clinical laboratories.

Sekcija 2
SLOBODNE TEME

Session 2
FREE ORAL
PRESENTATION

Jugoslav Med Biohem 25: 439–444, 2006

*Plenarne sekcije
Plenary sessions*

**UMERENI HIPOTIROIDIZAM:
KLINIČKI PROBLEM U ZDRAVOJ
URBANOJ POPULACIJI INDIJE**

V. Thakur

*Odeljenje laboratorijske medicine,
Bolnica i medicinski
istraživački centar »Batra«, Nju Delhi, Indija*

Blažim oblikom hipotireoidizma naziva se kliničko stanje u kome dolazi do povećanog lučenja hormona koji stimulišu tireoideu, i to bez promena nivoa hormona koji ona luči. Takvo stanje se često javlja kod osoba starijih od 50 godina, a češće je kod žena nego kod muškaraca. Uprkos činjenici da može izazvati ozbiljan hipotireoidizam, mišljenja o tome da li treba tragati za blažim oblicima poremećaja rada tireoidee kod zdravog stanovništva bez izraženih simptoma su različita. Američka Asocijacija za tireoideu podržava takve preglede; radna grupa američke Službe za preventivu, međutim, takve preglede ne podržava. Iz nerazvijenih zemalja se ne može dobiti jasna slika jer raspolažu zanemarljivim brojem podataka iz te oblasti. Stoga je za sada nemoguće osmisliti kliničke principe za uvođenje kontrole rada tireoidee ili početak njenog lečenja. Postoje uverljivi dokazi da hipotireoidizam može ubrzati koronarne arterijske bolesti. U ovoj studiji pregledali smo 678 zdravih ljudi bez simptoma iz srednjeg i višeg ekonomskog staleža (526 muškaraca i 152 žene) i otkrili da kod značajnog broja postoji blaži oblik hipotireoidizma (13%, $n = 88$). Srednje vrednosti TSH bile su znatno veće u toj grupi pacijenata nego kod pacijenata sa normalnim radom tireoidee ($8,66 \pm 4,39$ IU/mL vs. $2,18 \pm 0,93$ IU/mL, $p < 0,000$). Koncentracije fT3 i fT4 bile su u normalnim granicama, iako je koncentracija fT4 bila znatno niža nego kod pacijenata sa normalnim radom tireoidee ($13,99 \pm 2,87$ pmol/L vs. $15,6 \pm 2,47$ pmol/L, $p < 0,00$). Našli smo znatno veći broj TMT pozitivnih slučajeva kod grupe sa smanjenom funkcijom tireoidee ($p < 0,00$). Tokom 12 meseci praćenja slučajeva pozitivnih na TMT otkrili smo da je 55% pacijenata dobilo pravo koronarno arterijsko oboljenje. Pacijenti sa smanjenim radom tireoidee dobijali su blaže doze tiroksina. Terapeutski priručnici u zapadnim zemljama preporučuju lečenje pojedina kod kojih je količina TSH u serumu veća od 10 mIU/mL. Međutim, nije sasvim izvesno da li će takav pristup biti uspešan. Kad su u pitanju poremećaji koji nisu precizno definisani i kod kojih prednosti i

**MILD HYPOTHYROIDISM:
A CLINICAL PROBLEM IN HEALTHY
URBAN POPULATION OF INDIA**

V. Thakur

*Department of Laboratory Medicine,
Batra Hospital and Medical
Research Center, New Delhi, India*

Mild hypothyroidism is a term used for describing a clinical condition where small elevations in thyroid stimulating hormone are seen without any change in the thyroid hormone levels. The condition is quite common in elderly over the age of 50 and prevalent in women. Despite the fact that this condition can lead to overt hypothyroidism, controversy continues whether asymptomatic healthy population should be screened for mild thyroid dysfunction. American Thyroid Association supports the screening; however, US Preventive Services task force does not support screening. The picture is unclear from developing countries, which only have scanty data available on this subject. Thus, devising clinical guidelines in this scenario for initiating hypothyroid screening or initiating its treatment is impossible. There is compelling evidence that hypothyroidism could precipitate coronary artery disease. In a research study, we screened 678 healthy asymptomatic individuals from mid to high socioeconomic strata (526 males and 152 females) and revealed a substantial percentage of population having mild hypothyroidism (13%, $n = 88$). The mean TSH levels were significantly higher in this group of patients when compared with euthyroids ($8,66 \pm 4,39$ IU/mL vs. $2,18 \pm 0,93$ IU/mL, $p < 0,000$). fT3 and fT4 concentrations were within normal limits, although the fT4 concentration was significantly lower than in euthyroids ($13,99 \pm 2,87$ pmol/L vs. $15,6 \pm 2,47$ pmol/L, $p < 0,00$). We found a significantly higher number of TMT positive cases in the hypothyroid group ($p < 0,00$). In the 12 months of follow-up of TMT positive cases, we managed to find that 55% of patients developed frank CAD. The hypothyroid patients were treated with mild doses of thyroxine. Therapeutic guidelines in the Western countries recommend treatment in individuals with serum TSH levels higher than 10 mIU/mL. But there is gross clinical uncertainty if this approach will really benefit. In disorders for which the definition of the condition is imprecise and the benefits and risks of treatment are not clearly established, patient prefer-

mane lečenja nisu jasno utvrđene, u donošenju odluke o lečenju presudnu ulogu ima stanje pacijenta. Sve u svemu, smatramo da treba nastaviti sa istraživanjem metaboličkih faktora, kao što su visokosenzitivni C reaktivni protein i homocistein, jer mogu poslužiti za rano predviđanje koronarnih arterijskih bolesti kod ovog sindroma. Počeli smo sa radom na HsCRP i homocisteinu, ali iz našeg centra još uvek nema novih podataka.

CIRKULIŠUĆI sCD40 LIGAND U KARDIOVASKULARNIM BOLESTIMA I INFLAMATORNIM STANJIMA

*S. Stanković¹, M. Ilić¹, Z. Vasiljević²,
B. Vujisić-Tešić², N. Majkić-Singh¹*

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

²Institut za kardiovaskularne bolesti,
Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

CD40L, glikoprotein membrane tipa II, sastavljen od 261 amino-kiseline, član familije faktora nekroze tumora (TNF), identifikovan je inicijalno na ćelijama imunološkog sistema (aktiviranim CD4+ ćelijama, mastocitima, bazofilima, eozinofilima i NK ćelijama). CD40 je konstitutivno eksprimiran na B ćelijama, makrofagama i dendritičnim ćelijama. CD40L i CD40 su takođe prisutni na endotelnim ćelijama, glatkim mišićnim ćelijama, monocitima i makrofagama. Više od 95% cirkulišućeg CD40L nalazi se u trombocitima. CD40L i sCD40L imaju strukturne domene koji omogućavaju brojne funkcije: vezivanje za CD40 receptor preko TNF homologog domena, vezivanje za glikoprotein IIb/IIIa preko lizin-arginin-glutamat motiva, izazivanje signalnih reakcija koje su posledica vezivanja CD40L za receptor i njegovih rastvorljivih produkata cepanja. Funkcije trombocitnog CD40L posledica su interakcije ovih domena. Kada se eksprimira na površini trombocita i izloži ćelijama koje nose CD40, CD40L trombocita ima mogućnost iniciranja različitih inflamatornih odgovora, uključujući ekspresiju adhezionih receptora, ekspresiju tkivnog faktora i oslobađanje hemokina. Cirkulišući sCD40L ima proinflatatornu i protrombotičku aktivnost. Povećane koncentracije sCD40L utvrđene su u kardiovaskularnoj bolesti i brojnim inflamatornim stanjima, kao što su reumatoidni artritis, anemija srpastih ćelija ili sistemski eritemski lupus. Naša iskustva sa određivanjem sCD40L vezana su za njegovo određivanje kod pacijenata sa akutnim koronarnim sindromom, mitralnom regurgitacijom i akutnim pankreatitisom. Iako dobijeni rezultati naizgled nemaju direktan uticaj na kliničku praksu, farmakološko delovanje na interakciju CD40-CD40L dalo je zadovoljavajuće rezultate kod različitih patoloških stanja.

ences play a critical role in treatment decisions. Overall, we feel that metabolic factors like high sensitive C reactive protein and homocystein should be further investigated as early predictors of coronary artery disease in this syndrome. We have now started working on HsCRP and homocystein, but no data is yet available from our center.

CIRCULATING sCD40 LIGAND IN CARDIOVASCULAR DISEASE AND INFLAMMATORY CONDITIONS

*S. Stanković¹, M. Ilić¹, Z. Vasiljević²,
B. Vujisić-Tešić², N. Majkić-Singh¹*

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

²Institute of Cardiovascular Diseases,
Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia

CD40L, 261-amino acid type II membrane glycoprotein, member of the tumor necrosis factor (TNF) family, was originally identified on the cells of the immune system (activated CD4+ cells, mast cells, basophils, eosinophils, and natural killer cells). CD40 is constitutively expressed on B cells, macrophages and dendritic cells. CD40L and CD40 are also present on several cells of the vasculature, including endothelial cells, smooth muscle cells, monocytes and macrophages. More than 95% of the circulating CD40L exists in platelets. CD40L and sCD40L are known to have structural domains that allow these proteins to have multiple functions. First, the TNF homology domain allows for binding to the receptor, CD40. Second, the lysine-arginine-glutamic acid motif allows for binding to glycoprotein IIb/IIIa. Third, the trimeric structure of CD40L and its soluble cleavage product allow for the induction of signaling reactions when bound to receptors. The functional activities of platelet CD40L are reflective of these multiple domains. When expressed on the surface of platelets and exposed to CD40-bearing vascular cells, platelet-associated CD40L is capable of initiating various inflammatory responses, including expression of inflammatory adhesion receptors, expression of the tissue factor, and release of chemokines. Soluble CD40L is also proinflammatory and has prothrombotic activity. Although recent studies have described increased levels of sCD40L in cardiovascular diseases and a broad spectrum of inflammatory conditions, such as rheumatoid arthritis, sickle cell anemia or systemic lupus erythematosus, we will present our experience with sCD40L in acute coronary syndrome, mitral regurgitation and acute pancreatitis. Although our findings do not currently affect clinical practice, pharmacological manipulation of the CD40-CD40L axis proved effective in various pathological states.

PARAMETRI HEMOSTAZE U PACIJENATA KOD KOJIH JE INDIKOVANA KORONARNA ENDARTERECTOMIJA

V. Subota, S. Mandić-Radić,
I. Petrović, Đ. Radak

*Institut za medicinsku biohemiju VMA,
Institut za KVB »Dedinje«,
Zavod za zdravstvenu zaštitu radnika MUP,
Beograd, Srbija*

Dok se tradicionalni pristup predviđanju arterijske okluzije oslanja na faktore rizika koji su vezani za lipide i način života, mnoge epidemiološke studije potvrđuju da visok rizik za aterosklerozu predstavljaju aktivirana fibrinoliza i koagulacija. Hronična inflamacija igra značajnu ulogu u inicijaciji i progresiji ateroskleroze. Cilj našeg rada bio je da se uporede promene parametara hemostaze u odnosu na povišeni nivo C-reaktivnog proteina (CRP), kao markera sistemske inflamacije. Proučavana grupa obuhvatila je 50 pacijenata podeljenih u dve grupe od po 25 pacijenata, G1 (CRP 5 mg/L) i G2 (CRP 5 mg/L). Nije bilo pacijenata sa poremećajima hemostaze i perifernim vaskularnim bolestima. Ispitivani su parametri lipidnog statusa: trigliceridi, ukupni holesterol, HDL, LDL, Lp(a) i apolipoproteini A i B. Od parametara hemostaze određivani su: fibrinogen, protein C, koagulacioni faktor VII, D-dimer, 2-antiplazmin, plazminogen, inhibitor aktivatora plazminogena -1, Von Willebrand faktor, fibrin monomer, agregacija trombocita sa ADP i epinefrinom kao agonistima, i broj trombocita. Korišćene su standardne metode i komercijalni reagensi. Rezultati su upoređivani između grupa i pokazali su da su lipidni parametri bili u okviru referentnog opsega, dok su FVII, D-d, PAI-1 i fibrinogen bili značajno povećani ($p < 0,001$) u G2. Nije bilo značajnih razlika između ostalih parametara hemostaze, iako su svi oni bili povećani u G2. Ovi nalazi ukazuju da, i pored regulisanih ostalih faktora rizika, aktivirana fibrinoliza i koagulacija kao posledice sistemske inflamacije predstavljaju dodatni rizik koji može dovesti do nepovoljnog ishoda i daljih komplikacija.

NATRIURETSKI PEPTIDI – OCENA DIJAGNOSTIČKOG DOPRINOSA ODREĐIVANJA MOŽDANOG NATRIURETSKOG PEPTIDA

R. Kovačević, M. Mirić, O. Stojanović

*Institut za kardiovaskularne bolesti »Dedinje«,
Beograd, Srbija*

Srčane pretkomore i komore sintetišu i izlučuju nekoliko natriuretskih hormona, uglavnom kao odgovor na povećanje intrakardijalnog pritiska. Srčani hormoni,

HAEMOSTATIC PARAMETERS IN PATIENTS TO BE SUBJECT TO CORONARY ENDARTERECTOMY

V. Subota, S. Mandić-Radić,
I. Petrović, Đ. Radak

*Institute of Medical Biochemistry MMA,
Institute of CVD »Dedinje«,
Health Care Institute for Employees of
the Ministry of Internal Affairs, Belgrade, Serbia*

While traditional approaches to predicting arterial occlusion rely on behavioural and lipid related risk factors, the concept that impaired fibrinolysis and coagulation are risk factors for atherosclerosis is strongly supported by many epidemiologic studies. Chronic inflammation plays an important role in the initiation and progression of atherosclerosis. The aim of our study was to compare the changes in haemostatic parameters in relation to elevated levels of C-reactive protein (CRP), as a systemic inflammation marker. The studied population comprised 50 patients divided into two groups, G1, consisting of 25 patients (CRP 5 mg/L), and G2 (CRP 5 mg/L). There were no patients with haemostatic disturbances and peripheral vascular diseases. The parameters of lipid status: triglycerides, total cholesterol, HDL, LDL, Lp(a) and apolipoproteins A and B, were determined. The haemostatic parameters: fibrinogen, protein C, coagulation factor VII, D-dimer, 2-antiplasmin, plasminogen, plasminogen activator inhibitor -1, Von Willebrand factor, fibrin monomer, platelets aggregation with ADP and epinephrine as agonists, and the number of platelets were measured. Standard methods and commercial reagents were used. The results were compared between the groups and showed that lipid parameters were within the recommended range, but FVII, D-d, PAI-1 and fibrinogen were significantly increased ($p < 0,001$) in G2. There were no significant differences in the other parameters of haemostasis, but all of them were elevated in G2. With other risk factors in control, these findings indicate that impaired fibrinolysis and coagulation as consequences of inflammation are additional risk factors for an unfavourable outcome and further complications.

NATRIURETIC PEPTIDES – EVALUATION OF THE DIAGNOSTIC CONTRIBUTION OF BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE

R. Kovačević, M. Mirić, O. Stojanović

*Institute of Cardiovascular Diseases »Dedinje«,
Belgrade, Serbia*

Both atria and ventricles synthesize and secrete several natriuretic peptide hormones – largely in response to increased intracardiac pressure. The pro-

atrijumski natriuretski peptid (ANP) i moždani natriuretski peptid (BNP) i njihovi prohormonski »metaboliti« doprinose kardiovaskularnoj homeostazi. Natriuretski peptidni sistem najviše se aktivira u ventrikularnoj disfunkciji. Merenje koncentracije moždanog natriuretskog peptida (BNP-a) u plazmi može koristiti u postavljanju dijagnoze srčane insuficijencije. Cilj istraživanja bilo je utvrđivanje dijagnostičkog doprinosa određivanja BNP-a u plazmi u poređenju sa dijagnostičkim doprinosom rendgen snimka i ultrazvučnog pregleda u dijagnostikovanju srčane insuficijencije. Koncentracije BNP-a u plazmi određivane su imunofluorescentnim testom (POCT Triage, BIOSITE Laboratories) kod 62 bolesnika sa srčanom insuficijencijom (dobi $55,82 \pm 9,09$ godina, 74,19% muškaraca, ishemijskom $n=30$ i dilatativnom kardiomiopatijom $n=32$, NYHA funkcionalnom klasom II $n=33$, i klasom III $n=29$, LVEF $27,77 \pm 4,35\%$). Ocena dijagnostičkog doprinosa merenja koncentracije BNP-a u komparaciji sa dijagnostičkim doprinosom rendgenskog snimka grudnog koša i eho dijagnostikom utvrđivana je diskriminatornom analizom vrednosti LVEF (parametri eho dijagnostike), kardiotorakalnog indeksa (parametri rendgen dijagnostike) i koncentracije BNP-a, sa težinom bolesti prema NYHA klasifikaciji. Rezultati diskriminatorne analize potvrđuju da klasifikovanje bolesnika prema NYHA klasifikaciji sa verovatnoćom $p=0,903$ zavisi od vrednosti LVEF, odnosno da eho dijagnostička metoda tačno određuje težinu oboljenja prema NYHA klasifikaciji u 90,3% slučajeva. Rezultati diskriminatorne analize pokazuju da klasifikovanje bolesnika prema NYHA klasifikaciji sa verovatnoćom $p=0,806$ zavisi od vrednosti kardiotorakalnog indeksa, odnosno da rendgen dijagnostička metoda tačno određuje težinu oboljenja prema NYHA klasifikaciji u 80,6% slučajeva. Rezultati diskriminatorne analize potvrđuju da klasifikovanje bolesnika prema NYHA klasifikaciji sa verovatnoćom $p=0,871$ zavisi od vrednosti BNP-a, odnosno da merenje njegove koncentracije, kao dijagnostička metoda, tačno određuje težinu oboljenja prema NYHA klasifikaciji u 87,1% slučajeva. Rezultati diskriminatorne analize navedenih parametara ukazuju na to da je veći dijagnostički doprinos eho dijagnostike (90,3% ispitanika klasifikovano korektno) od merenja koncentracije BNP-a (87,1% ispitanika klasifikovano korektno), dok je dijagnostički doprinos rendgen snimanja manji (80,6% ispitanika klasifikovano korektno).

ducts of the heart, atrial natriuretic peptide (ANP) and brain natriuretic peptide (BNP), and possibly their prohormone »metabolites«, contribute to cardiovascular homeostasis. The natriuretic peptide system is activated to its highest level in ventricular dysfunction. Plasma concentration of BNP could be of use in the diagnosis of heart failure. Our aim was to determine the diagnostic contribution of BNP plasma measurement in comparison with the diagnostic contribution of X ray imaging and ultrasound examination in the diagnostics of heart failure. Plasma concentration of BNP was measured by the POCT Triage immunofluorescent assay (BIOSITE Laboratories) in 62 heart failure patients (aged 55.82 ± 9.09 years, 74.19% male, $n=30$ ischemic, $n=32$ dilated cardiomyopathy, $n=33$ NYHA functional class II, $n=29$ class III, LVEF $27.77 \pm 4.35\%$). Assessment of the diagnostic contribution of BNP plasma concentration measurement in comparison with the diagnostic contribution of chest X ray image and ECHO methods was determined using discriminatory analysis of LVEF (echo diagnostic parameters), cardiothoracic index (X ray parameters) and BNP plasma concentration, with severity of disease expressed according to the NYHA classification. Results of discriminatory analysis confirmed that gradation of patients using the NYHA classification with probability $p=0.903$ depends on the LVEF value, that is, the echo diagnostic method correctly classifies the severity of disease according to the NYHA classification in 90.3% of cases. Results of discriminatory analysis showed that classification of patients according to the NYHA with the probability $p=0.806$ depends on the value of the cardiothoracic index, that is, the X ray diagnostic method correctly classifies the severity of disease according to the NYHA classification in 80.6% of cases. Results of discriminatory analysis confirmed that classification of patients according to the NYHA with probability $p=0.871$ depends on the BNP value, that is, measurement of BNP plasma concentration correctly classifies the severity of disease in 87.1% of cases. Results of discriminatory analysis of the mentioned parameters showed that the echo diagnostic contribution (90.3% of patients classified correctly) was larger than the contribution of BNP measurement (87.1% of patients classified correctly), while the diagnostic contribution of X ray images was lower (80.6% of patients classified correctly).

TARTARAT-REZISTENTNA KISELA FOSFATAZA I OSTEOKALCIN KOD PACIJENATA SA OSTEOPOROZOM I OSTEOPENIJOM

J. Mehanović Nikolić¹, J. Laloš-Miljuš²

¹Zavod za biohemiju, Medicinski fakultet
Univerziteta u Banjoj Luci

²Klinički centar Banja Luka

Mjerenjem katalitičke aktivnosti kisele fosfataze rezistentne na tartarat (TRKP) u serumu procjenjuje se osteoklastična aktivnost, pošto je koštane ćelije secerniraju tokom resorpcije. Osteokalcin je nekola genski peptid koji učestvuje u procesu mineralizacije kostiju. Korišten je u ranom prepoznavanju primarne osteoporoze. Cilj je bio da se utvrdi da li postoji razlika u katalitičkoj aktivnosti TRKP, kao i u serumskoj koncentraciji osteokalcina, u ispitanika sa osteoporozom i osteopenijom. Prva grupa (n=60) imala je T-scor mineralne gustine kosti (BMD) $\leq -2,3$, što se, prema standardima WHO, definiše kao osteoporoza. Druga grupa (n=60) imala je T-scor između $-0,4$ i $-1,7$, što prema standardima WHO odgovara smanjenoj koštanoj masi (osteopeniji). Katalitička aktivnost TRKP mjerena je kinetičkom metodom firme BIOMERIEUX (Njemačka), na analizatoru Mira Cobas plus (Njemačka), BMD je određen ultrazvučnom tehnikom, a koncentracija osteokalcina tehnikom ECL, firme ROCHE (Njemačka), na analizatoru Elecsys 2010 (Njemačka). Rezultati ukazuju na značajno povećanje katalitičke aktivnosti TRKP u serumu ispitanika sa osteoporozom, u odnosu na grupu sa osteopenijom ($p < 0,001$). Za osteokalcin je utvrđena statistički značajna razlika između dvije grupe ispitanika ($p < 0,01$). Smatramo da određivanje katalitičke aktivnosti TRKP u serumu, kao i koncentracije osteokalcina, uz druge biohemijske markere koštane pregradnje, može da unaprijedi dijagnostiku osteoporoze.

TARTRATE-RESISTANT ACID PHOSPHATASE AND OSTEOCALCIN IN PATIENTS WITH OSTEOPOROSIS AND OSTEOPENIA

J. Mehanović Nikolić¹, J. Laloš-Miljuš²

¹Department of Biochemistry, School of Medicine,
University of Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

²Clinical Center, Banja Luka,
Bosnia and Herzegovina

A way to estimate the activity of osteoclasts is to measure the catalytic activity of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP), as bone cells secrete it during resorption. Osteocalcin (OC) is a non-collagen peptide involved in the bone mineralization process. It is used in the early diagnosis of primary osteoporosis. The aim of our work was to determine if there was a difference in both the catalytic activity of the TRAP and the serum concentration of OC in patients affected by osteoporosis and osteopenia. The bone mineral density T-score (BMD) of the first group of patients (n=60) was not higher than -2.3 , defined by the WHO as osteoporosis. The T-score of the second group (n=60) was found to be between -0.4 and -1.7 , defined by the WHO as osteopenia. The catalytic activity of TRAP was determined by the kinetic method proposed by the BIOMERIEUX Company (Germany), using a Mira Cobas plus analyzer (Germany). The BMD was determined by an ultrasound technique. The ROCHE ECL technique and the Elecsys 2010 analyzer (Germany) were used to measure the OC concentration. The results show a significant increase in the catalytic activity of TRAP in the osteoporosis patients sera when compared with the group with osteopenia ($p < 0.001$). Statistically significant difference was found between the groups in the case of OC ($p < 0.01$). We conclude that the TRAP catalytic activity in serum, as well as OC concentration measurement, together with other biochemical markers of bone turnover, can be useful in the diagnosis of osteoporosis.

NEOPHODNOST PRIDRŽAVANJA STANDARDNIM USLOVIMA PRI PREGLEDU URINA (SEDIMENTA)

S. Đ. Jovanović, N. Prišić, M. Janković

*Hemolab, Medicinska laboratorija,
Sremska Kamenica, Novi Sad, Srbija*

U radu je dokazana neophodnost pridržavanja standardnim uslovima pri kompletnom pregledu urina, odn. sedimenta. Analizom 31 patološkog uzorka prvog jutarnjeg urina upoređene su razlike u broju izbrojanih elemenata (ćelije okruglog epitela, epitelne ćelije, leukociti, sveži eritrociti, izlučeni eritrociti i hijalini cilindri) u količinama od 5 i 10 ml urina. Ostali parametri kao što su oksalati, amorfni urati i fosfati, bakterije i sluz su takođe praćeni, ali nisu brojčano evidentirani. Dobijeni su sledeći rezultati (ukupan broj elemenata): okrugli epitel – 3 (5 ml) prema 14 (10 ml); epitelne ćelije – 78 (5 ml) prema 132 (10 ml); leukociti – 202 (5 ml) prema 385 (10 ml); sveži eritrociti – 38 (5 ml) prema 63 (10 ml); izlučeni eritrociti – 14 (5 ml) prema 29 (10 ml); hijalini cilindri – 1 (5 ml) prema 6 (10 ml). Budući da su razlike između 5 i 10 ml kod 6 »kritičnih« parametara uglavnom dvostruke, smatrali smo da nema potrebe za statističkom obradom podataka. Jasno je da ovi rezultati imaju dijagnostički i terapijski značaj za sve koji se bave ovom problematikom.

THE NECESSITY OF ADHERING TO STANDARD CONDITIONS IN URINE (SEDIMENT) INVESTIGATIONS

S. Đ. Jovanović, N. Prišić, M. Janković

*Hemolab, Medicinska laboratorija,
Sremska Kamenica, Novi Sad, Serbia*

The necessity to appreciate the standard conditions (10 ml) in complete urine (sediment) investigations is approved in the paper. In 31 pathologic samples of the first morning urine, the differences in the number of investigated parameters (round epithelial cells, plate epithelial cells, leukocytes, erythrocytes, segregated erythrocytes, hyalin cylinders) are compared in the samples of 5 and 10 ml of urine. Other parameters like oxalates, amorph urates and phosphates, bacteria and mucus, are monitored as well, but not presented in numbers. Following results have been achieved (total number of elements): round epithel cells – 3 (5 ml) to 14 (10 ml); plate epithelial cells – 78 (5 ml) to 143 (10 ml); leukocytes – 202 (5 ml) to 385 (10 ml); fresh erythrocytes – 38 (5 ml) to 63 (10 ml); segregated erythrocytes – 14 (5 ml) to 228 (10 ml); hyalin cylinders – 1 (5 ml) to 6 (10 ml). Taking into account that differences between 5 and 10 ml in 6 »critical« parameters are nearly double, statistic evaluation of data seemed to be unnecessary. The results are of major diagnostic and therapeutic importance for everyone involved in the matter.

Sekcija 3
SAVREMENI ASPEKTI
ATEROTROMBOTSKE
BOLESTI

Session 3
CURRENT ASPECTS
OF THE
ATHEROTHROMBOTIC
DISEASE

Jugoslav Med Biohem 25: 447–450, 2006

Plenarne sekcije
Plenary sessions**LIPIDI I ATEROSKLEROZA**M. Đerić¹, E. Stokić², B. Vučković¹,
S. Kojić-Damjanov¹, V. Čabarkapa¹¹Institut za laboratorijsku medicinu
²Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti
metabolizma,
Klinički centar – Novi Sad, Novi Sad, Srbija

Lipidi imaju značajnu ulogu u aterogenezi, počev od inicijalnih promena, te se danas najviše razmatra njihova prediktivna vrednost za koronarnu bolest srca, kao i mogućnosti novih terapijskih pristupa. Centralno mesto zauzimaju LDL čestice, jer je samo za redukciju LDL-holesterola dokazano da redukuje morbiditet i mortalitet udružen sa aterosklerozom. Osim regulacije ekspresije LDL-receptora, veliki klinički značaj imaju oksidisani LDL (ox-LDL) i male guste LDL (sdLDL) koje su produkt intravaskularnog remodelovanja trigliceridima bogatih lipoproteina, dok egzaktan uloga anti-oxLDL antitela u progresiji ateroskleroze i klinički značaj ostaju nejasni. Poslednjih godina, međutim, potpunije upoznavanje bazičnih mehanizama uključenih kako u aterosklerozu, tako i u metaboličku sudbinu lipida i lipoproteina, ističe i značajnu ulogu ostalih lipoproteinskih čestica, i to, ne samo u progresiji, već i u inicijaciji ateroskleroze i aterotromboze.

INTERAKCIJA IZMEĐU OKSIDATIVNOG STRESA I INFLAMATORNIH BIOMARKERA U ATEROSKLEROZIV. B. Đorđević¹, T. Cvetković¹,
M. Deljanin-Ilić³, V. Čosić², L. Zvezdanović²,
S. Kundalić², S. Madić², I. Stojanović¹¹Institut za biohemiju,
Medicinski fakultet, Niš, Srbija
²Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar – Niš, Srbija
³Institut za kardiovaskularne bolesti
»Niška Banja«, Niška Banja, Srbija

Brojni rezultati pokazuju da postoji uska veza između inflamacije, oksidativnog stresa i aterosklero-

LIPIDS AND ATHEROSCLEROSISM. Đerić¹, E. Stokić², B. Vučković¹,
S. Kojić-Damjanov¹, V. Čabarkapa¹¹Institute of Laboratory Medicine
²Clinic for Endocrinology,
Diabetes and Metabolic Diseases,
Clinical Center – Novi Sad, Novi Sad, Serbia

Lipids play a pivotal role in the atherogenesis, starting from initial changes. Their predictive value in coronary heart disease and development of novel therapeutic strategies is an increasingly addressed issue nowadays. LDL particles are fundamental, because reduction of LDL-cholesterol was proven to reduce morbidity and mortality associated with atherosclerosis. Besides the regulation of LDL-receptor expression, significant clinical importance is assigned to oxidized LDL (ox-LDL) and small dense LDL (sdLDL) that are generated through intravascular remodelling of triglyceride-rich lipoproteins, while the exact role of anti-oxLDL antibodies in atherosclerosis propagation and their clinical significance still remain unclear. In recent years, however, better understanding of the basic mechanisms involved in atherosclerosis development, as well as in the metabolic fate of lipids and lipoproteins, emphasizes the crucial role of other lipoprotein particles not only in the propagation, but also in the initiation of atherosclerosis and atherothrombosis.

THE INTERACTION BETWEEN OXIDATIVE STRESS AND BIOMARKERS OF INFLAMMATION IN ATHEROSCLEROSISV. B. Đorđević¹, T. Cvetković¹,
M. Deljanin-Ilić³, V. Čosić², L. Zvezdanović²,
S. Kundalić², S. Madić², I. Stojanović¹¹Institute of Biochemistry,
Faculty of Medicine, Niš, Serbia
²Centre for Medical Biochemistry,
Clinical Centre – Niš, Serbia
³Institute of Cardiovascular Diseases
»Niška Banja«, Niška Banja, Serbia

A number of data demonstrated that there is a close relation between inflammation, oxidative stress

ze. Inicijalni događaj u aterogenezi je disfunkcija ili aktivacija endotela. Ona može biti izazvana mehaničkim, hemijskim, infektivnim ili imunološkim faktorima, što ukazuje da gotovo svi faktori rizika za aterosklerozu mogu dovesti do endotelne disfunkcije. To izaziva kaskadu inflamatornih reakcija u kojima učestvuju monociti, makrofagi, T limfociti i ćelije glatkih mišića. Ove ćelije i endotel nadalje proizvode adhezione molekule, citokine, faktore rasta i metaloproteinaze, prolongirajući aterogenezu. Aktivacija enzima koji proizvode oksidantse, kao što su NADPH oksidaza i azot-monoksid sintaza (NOS), dovodi do oksidativnog stresa i posledične oksidativne modifikacije LDL, a oxLDL potom može aktivirati endotelne ćelije. Oksidativno modifikovani LDL preuzimaju makrofagi putem »scavenger« receptora. Rezultat toga je akumulacija holesterola u makrofagima i stvaranje penastih ćelija koje predstavljaju bazu ateroskleroze. Čitav proces se ciklično ponavlja, dovodeći do formiranja uznapredovalih aterosklerotičnih promena koje karakteriše jezgro sačinjeno od lipida i nekrotičnog tkiva pokriveno fibroznom kapom.

and atherosclerosis. The initial event in atherogenesis is some form of endothelial dysfunction or activation. It can be triggered by mechanical, chemical, infectious or immunological insults, indicating that almost all risk factors for atherosclerosis could promote endothelial dysfunction. This triggers a cascade of inflammatory reactions, in which monocytes, macrophages, T lymphocytes and smooth muscle cells participate. These cells and the endothelium produce adhesion molecules, cytokines, growth factors and metalloproteinases, thus prolonging atherogenesis. An activation of oxidative producing enzymes such as NADPH oxidases and nitric oxide synthase (NOS) leads to oxidative stress and subsequent oxidative modification of LDL, and oxLDL can in turn activate the endothelial cells. Oxidatively modified LDL is uptaken by macrophages via scavenger receptors. This results in the accumulation of cholesterol within the macrophages and the formation of foam cells, a hallmark of atherosclerosis. The process continues with repeated cycles leading to the characteristic advanced lesions with the core of lipids and necrotic tissue which is covered by a fibrous cap.

HEMOSTAZNI SISTEM U GENEZI ATEROTROMBOZE

A. Lučić

Novi Sad, Srbija

Aterosklerozu i arterijsku trombozu su dva direktno međusobno zavisna patološka procesa i stoga naziv aterotromboza na najbolji mogući način izražava suštinu ovog složenog sistemskog oboljenja. Aterotromboza u progresivnom kontinuitetu dovodi do dramatičnog narušavanja integriteta arterijskih krvnih sudova velikog i srednjeg promera i izaziva delimični ili potpuni prekid protoka krvi u obolelim krvnim sudovima. U patogenezi aterotromboze, hemostazni sistem je sa svoje tri osnovne komponente: trombocitima, koagulacijskim i fibrinoliznim činiocima, endotelnim ćelijama i dubljim strukturama unutrašnje površine zida krvnog suda, neposredno i prvenstveno odgovoran za nastanak tromboze. Osnovni preduslov nastanka arterijske tromboze je poremećaj funkcije endotela ili narušavanje njegovog integriteta. U aterotrombozi, u svim stadijumima razvoja aterosklerotskih promena na intimi krvnog suda, taj osnovni preduslov je u celosti ispunjen. Najdrastičniji pokretački činilac arterijske tromboze predstavlja ruptura vulnerabilne ili nestabilne ateromske ploče. Sadržaj krupnog lipidnog jezgra ateroma, rascepljeni tanki fibrozni pokrivač, obilje vanćelijskog matriksa, brojna prisutnost zapaljenjskih ćelija i visok sadržaj tkivnog činioca (TF) izazivaju eksplozivnu aktivaciju trombocita i koagulacijskog sistema. Signalni prenosni mehanizmi koji se pokreću vezivanjem spe-

HEMOSTATIC SYSTEM IN ATHEROTHROMBOSIS

A. Lučić

Novi Sad, Serbia

Atherosclerosis and arterial thrombosis are two directly interdependent pathologic processes and the term atherothrombosis covers most fully the essence of this complex systemic disease. Atherothrombosis in continual progression leads to a dramatic disturbance of the large and medium-sized arteries integrity and provokes partial or complete blood flow interruption in the diseased vessels. In the pathogenesis of atherothrombosis, the hemostatic system with its three basic components: platelets, coagulation and fibrinolytic factors, endothelial cells and the deeper structure of the inner layer of blood vessels, is mainly and directly responsible for the occurrence and development of thrombosis. The main prerequisite of arterial thrombosis is the endothelial dysfunction, as well as a breach of the endothelial integrity. In atherothrombosis, during each phase of the development of atherosclerotic changes on the intima of the blood vessel, this basic cause is fully realized. The most powerful trigger of arterial thrombosis is the rupture of the vulnerable or unstable atherosclerotic plaque. Large lipid core of the disrupted plaque, splitting of the thin fibrous cap, high density of inflammatory cells, abundant extracellular matrix and high content of the tissue factor (TF), promote the explosive activation of platelet and clotting mechanisms. Signal transduction mechanism, initiated upon the binding

cifičnih agonista za vezne membranske receptore na površini trombocita stimulišu izlazak kalcijuma iz tubularnog sistema trombocita i izazivaju promenu oblika trombocita i pražnjenje sadržaja njihovih granula. Adhezija i aktivacija trombocita i proces njihove međusobne agregacije su direktne posledice prepoznavanja trombogenog područja u krvnom sudu od strane ovih ćelija. Budući da reaktivnost trombocita zavisi od brojnih adhezivnih međureakcija, većina glikoproteina membrane trombocita su receptori adhezivnih proteina. Po svojoj strukturi oni uglavnom pripadaju integrinima, selektinima, i glikoproteinima bogatim leucinom. Punu funkcionalnost ovih receptora omogućava njihova neposredna udruženost sa dinamičnim lipidnim skupinama, sastavljenim iz sfingolipida i holesterola, koje slobodno plutaju unutar tečne frakcije ćelijske opne trombocita. Raspad ateromske ploče izaziva i burnu aktivaciju koagulacijskog sistema pod uticajem TF-a koji u kofaktorskoj poziciji vezuje FVII/FVIIa i uvećava katalitičku aktivnost FVIIa više od milion puta. TF se u krvi nalazi vezan za cirkulišuće mikročestice stvorene u monocitima, a u značajnim količinama se oslobađa i iz aktiviranih endotelskih ćelija i ćelija u okruženju krvnog suda. P-selektin, koji se nalazi u membrani trombocitnih alfa-granula kao i u skladišnim granulama endotela, premešta se u procesu aktivacije na površinu ćelija a može se naći i u cirkulaciji. Ovaj adhezivni receptor pokreće proces stvaranja mikročestica u monocitima koje sadrže TF, istovremeno ih zadržavajući na mestu stvaranja trombina i fibrina. O posebnoj složenosti mehanizama aktivacije hemostaznog sistema govori i višestruko i različito delovanje trombina. Njegova osnovna funkcija je stvaranje fibrina, ali vezivanjem za trombomodulin on pokreće aktivaciju proteina C, a takođe stimuliše i oslobađanje tkivnog aktivatora i inhibitora aktivatora plazminogena iz endotelskih ćelija. Na taj način trombin, osim što je najuticajni pokretač aktivacije trombocita, ima i ključnu ulogu u održavanju složene ravnoteže početnih protromboznih i posledičnih antitromboznih i trombolitičkih događanja. Značajnu ulogu u aktivaciji hemostaznog sistema imaju i pokretači i medijatori zapaljenjskog procesa. Direktna posledica zapaljenja su stvaranje i oslobađanje TF-a u endotelskim ćelijama i monocitima, kao i aktivacija trombocita i P-selektina, čime se takođe stimuliše stvaranje TF. Mnogostruka povezanost hemostaznog sistema sa etiopatogeneom atherotromboze nedvosmisleno ukazuje na neophodnost da se u prevenciji i lečenju ove složene bolesti, koja pouzdano ima i zapaljenjske karakteristike, u punom obimu koriste i sve raspoložive terapijske mere koje mogu pomoći u sprečavanju, prekidi u kontroli svakog oblika aktivacije hemostaznog sistema.

of a specific agonist to membrane-spanning receptors on the platelet surface, stimulates the discharge of calcium from the platelet dense tubular system and promotes the contraction of the platelet, with the subsequent release of its granule contents. The initial recognition of a damaged vessel wall involves adhesion and the activation and aggregation of platelets with each other. Because the platelet function and reactivity depend on numerous adhesive interactions, most of the glycoproteins on the platelet membrane surface are receptors for adhesive proteins. According to their structure, these glycoproteins mainly belong to integrins, selectins and leucin-rich glycoprotein family. The full effect of these receptors is obtained by its close association with dynamic assemblies of sfingolipids and cholesterol floating within the fluid fraction of the platelet membrane, which are designated by the descriptive term »rafts«. During plaque rupture, the clotting mechanism is explosively activated by the strong influence of TF which, as a cofactor, binds coagulation FVII/FVIIa and enhances the catalytic activity of FVIIa by more than one million times. In circulatory blood, TF is present on the microparticles derived from monocytes. It is also released in a large amount from the activated endothelial and subendothelial cells. P-selectin, which is localized in the membranes of platelet alpha-granules and in the storage granules of endothelial cells, upon the activation of platelets and endothelial cells translocates within seconds to the cell surface, and can also be found in circulation. This adhesive receptor has a significant role in the production and recruitment of monocyte-derived microparticles containing TF at the site of thrombin and fibrin formation. The best way to grasp the special complexity of the hemostatic system activation is to recognize the multilateral and different thrombin action. Its basic function is the catalytic transformation of fibrinogen into fibrin, but at the thrombogenic site it binds to trombomodulin, initiating the activation of protein C, and stimulates the successive release of both tissue plasminogen activator and plasminogen-activator inhibitor type 1 from endothelial cells. Thus, besides the fact that it is the main promoter of platelet activation, thrombin plays a pivotal role in maintaining the complex balance of initial prothrombotic and subsequent antithrombotic and thrombolytic pathways. Inflammatory stimuli and mediators also have a significant role in the hemostatic system activation. Direct effects of inflammation are the formation and releasing of TF-form endothelial cells and monocytes, as well as platelet and P-selectin activation. The multilateral connection of the hemostatic system with the etiopathogenesis of atherothrombosis undoubtedly points out the necessity that, in treatment of this complex disease which reliably has inflammatory characteristics as well, all available therapeutic procedures for the prevention, interruption and control of the hemostatic system activation should be used immediately and permanently.

**INSULINSKA REZISTENCIJA
I ATEROSKLEROZA***D. D. Micić*

*Centar za metabolička oboljenja
u endokrinologiji,
Institut za endokrinologiju, dijabetes
i bolesti metabolizma,
Klinički Centar Srbije, Beograd, Srbija*

Uvođenje abdominalne gojaznosti kao ključne komponente metaboličkog sindroma ukazalo je da disregulacija masnog tkiva može imati glavnu ulogu u patogenezi insulinske rezistencije i ateroskleroze. Suvišak masnih kiselina u cirkulaciji kreira na periferiji insulinsku rezistenciju kroz omogućavanje dodatnih supstrata i modifikovanjem nishodnog insulinskog signala. Bolesnici sa insulinskom rezistencijom imaju endotelijalnu disfunkciju sa parcijalnim ili kompletnim gubitkom balansa između vazokonstrikcije i vazodilatacije, faktora koji promovišu ili inhibiraju rast, proaterogenih i antiaterogenih i prokoagulantnih i antikoagulantnih faktora. Insulin-rezistentne osobe mogu imati parcijalni blok u delovanju insulina kroz PI(3)K putanju u skeletnim mišićima i endotelijalnim ćelijama sa očuvanom MAPK putanjom, što može delimično da objasni njihov povećani kardiovaskularni rizik.

**INSULIN RESISTANCE
AND ATHEROSCLEROSIS***D. D. Micić*

*Center for Metabolic Disorders
in Endocrinology,
Institute of Endocrinology,
Diabetes and Diseases of Metabolism,
Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia*

Introduction of abdominal obesity as a crucial part of the metabolic syndrome pointed out that adipose tissue dysregulation might play a main role in the pathogenesis of insulin resistance and atherosclerosis. Excess of fatty acids in circulation creates resistance in periphery insulin by the added substrate availability and by modifying insulin downstream signalling. Patients with insulin have endothelial dysfunction with a partial or complete loss of balance between vasoconstrictors and vasodilators, growth promoting and inhibiting factors, proatherogenic and antiatherogenic, and procoagulant and anticoagulant factors. Insulin resistant individuals may have a partial block to insulin action through PI(3)K pathway in skeletal muscle and endothelial cells with an intact MAPK pathway that may partially explain their increased cardiovascular risk.

Sekcija 4
BIOHEMIJSKI MARKERI
OBOLJENJA

Session 4
BIOCHEMICAL MARKERS
OF THE DISEASES

Jugoslav Med Biohem 25: 453–458, 2006

*Plenarne sekcije
Plenary sessions*

BIOMARKERI OKSIDANTNOG STRESA U BRONHIJALNOJ ASTMI

*V. Ćosić¹, I. Stanković², M. Rančić²,
L. Zvezdanović¹, S. Kundalić¹, V. Đorđević¹*

*¹Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar »Niš«, Niš, Srbija*

*²Klinika za plućne bolesti,
Klinički centar »Niš«, Niš, Srbija*

Veruje se da oksidantni stres učestvuje u inicijaciji i razvoju bronhijalne astme (BA). Oostalom, patofiziologija BA odlikuje se ogromnom produkcijom reaktivnih kiseoničkih vrsta (ROS) i reaktivnih azotnih vrsta (RNS), uglavnom od strane inflamatornih ćelija vazdušnih puteva astmatičara. ROS i RNS igraju važnu ulogu u remodeliranju vazdušnih puteva, kao i u orkestriranju vrste inflamatornog odgovora. Oksidanti utiču na specifičnu ravnotežu Th1/Th2 citokina i zajedno sa Th2 citokinima i Th2 indukovanim ćelijama mogu uzrokovati mnoge specifičnosti tipične za astmu. Oni indukuju bronhokonstrikciju, sekreciju mukusa, deluju na vaskulaturu vazdušnih puteva i povećavaju hiperreaktivnost prema pojedinim agonistima. Ovaj članak ispituje neophodnost evaluacije oksidantnog stresa u BA korišćenjem pouzdanih biomarkera koji omogućuju podesno praćenje oksidantnog stresa. Poželjno je određivanje prooksidanata i antioksidanata, i to sistemskih i lokalnih, u specifičnim medijumima pluća kao što su bronhoalveolarni lavat (BAL), sputum, izdahnuti vazduh i kondenzat izdahnutog vazduha. Ovi biomarkeri vazdušnih puteva mogu biti reprezentativni indikatori dešavanja na površini vazdušnih puteva, na inicijalnom mestu delovanja oksidanata. Ispitivanje biomarkera važno je i za utvrđivanje mogućih ciljeva delovanja antioksidantnih suplemenata koji mogu biti u stanju da normalizuju oksidantnu/antioksidantnu ravnotežu.

BIOMARKERS OF OXIDANT STRESS IN BRONCHIAL ASTHMA

*V. Ćosić¹, I. Stanković², M. Rančić²,
L. Zvezdanović¹, S. Kundalić¹, V. Đorđević¹*

*¹Centre of Biochemistry,
Clinical Centre »Niš«, Niš, Serbia*

*²Clinic for Lung Disease,
Clinical Centre »Niš«, Niš, Serbia*

Oxidant stress is believed to contribute to both the initiation and development of bronchial asthma (BA). As such, the pathophysiology of BA is characterised by the large generation of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS), predominantly by inflammatory cells of asthmatic airways. These species play an important role in remodelling airways and in orchestrating the type of inflammatory response. Oxidants influence the specific balance of Th1/Th2 cytokines, and together with Th2-cytokines and Th2 induced cells can cause many of the features typical of asthma. They induce bronchoconstriction, mucus secretion, effects on airway vasculature, and increase airway responsiveness to several agonists. This review discusses the necessity of oxidant stress evaluation in BA using reliable biomarkers, which provide an appropriate tool for studying oxidant stress. It is desirable to determine prooxidants and antioxidant systemic and local parameters in lung specific media such as bronchoalveolar lavage (BAL), sputum, exhaled air and breath condensate. These airway biomarkers may be representative indicators which could show the processes occurring on the airway surface, the initial site of oxidation. Thus, the examination of biomarkers is essential for establishing the potential target for antioxidant supplementation that would be able to normalise the oxidant/antioxidant imbalance.

BIOMARKERI U KARCINOMU DOJKE

*S. Filipović, A. Filipović, I. Pejčić,
S. Vrbić, Z. Stanojević, I. Mišić*

*Medicinski fakultet, Niš, Srbija
Klinika za onkologiju,
Klinički centar »Niš«, Niš, Srbija*

Rak dojke je bolest abnormalnog rasta i razvoja do tada normalnog tkiva dojke. Tumorska ćelija nastaje kada ćelija više ne prepoznaje biološke kontrolne mehanizme. Za bolje razumevanje biologije tumora, ćelijskog ciklusa, angiogeneze, apoptoze, neoplastične transformacije, fenomena progresije i metastaziranja veoma su značajni biomarkeri kao prognostički i prediktivni faktori. Biomarkeri raka dojke imaju posebnu vrednost u proceni agresivnosti bolesti i ranoj detekciji progresije.

BIOMARKERS IN BREAST CANCER

*S. Filipović, A. Filipović, I. Pejčić,
S. Vrbić, Z. Stanojević, I. Mišić*

*Faculty of Medicine,
University of Niš, Niš, Serbia
Clinical Centre »Niš« – Clinic of Oncology,
Niš, Serbia*

Breast cancer is a disease characterized by abnormal growth and development of normal breast tissue. When the growth and development of a normal cell no longer obey biological control mechanisms, tumour cells begin to appear. An understanding of normal biological processes relating to cell growth, such as the cell cycle, angiogenesis, and apoptosis, and of other abnormal processes, such as neo-plastic transformation, tumour progression, and metastasis, would aid not only in identifying tumour markers, but also in determining the best uses of these tumour markers for diagnosis and treatment of patients with cancer. Biomarkers are improving our understanding of the biology and management of breast cancer.

ZNAČAJ CITOKINA U DIJAGNOSTICI AUTOIMUNSKIH OBOLJENJA

*L. Zvezdanović¹, V. Đorđević¹, V. Ćosić¹,
T. Cvetković³, S. Kundalić¹, A. Stanković²*

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

*²Institut za prevenciju, lečenje i rehabilitaciju
srčanih i reumatskih bolesnika »Zelengora«,
Niška Banja, Srbija*

*³Institut za biohemiju,
Medicinski fakultet, Niš, Srbija*

Autoimunske bolesti odlikuju se autoimunoreakcijama usmerenim protiv široko rasprostranjenih sopstvenih determinanti. Mnogi citokini učestvuju u regulisanju aktivnosti i zahvatanju organa kod različitih autoimunskih oboljenja. Poznato je da neka tkiva održavaju vrlo visoku »ulaznu barijeru« u pogledu razvoja imunoposredovane inflamacije, što vodi imunnoj privilegovanosti putem generisanja specijalizovane mikrosredine. Postoje različiti obrasci sinteze citokina u pojedinim autoimunskim oboljenjima kao što su reumatoidni artritis, dijabetes tipa 1, sistemski lupus eritematosus i multipla skleroza, pri čemu treba istaći razliku između citokina kao markera fenotipa i citokina kao medijatora inflamacije i oštećenja tkiva. U većini autoimunskih oboljenja, ravnoteža između proinflamatornih i antiinflamatornih citokina određuje stepen i proširenost infla-

THE SIGNIFICANCE OF CYTOKINES IN DIAGNOSIS OF AUTOIMMUNE DISEASES

*L. Zvezdanović¹, V. Đorđević¹, V. Ćosić¹,
T. Cvetković³, S. Kundalić¹, A. Stanković²*

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

*²Institute for Prevention,
Treatment and Rehabilitation of Cardiac
and Rheumatic Patients »Zelengora«,
Niška Banja, Serbia*

*³Institute of Biochemistry,
Faculty of Medicine, Niš, Serbia*

Autoimmune diseases are characterized by autoimmune reactions against one's own widespread determinants. Many cytokines are involved in activity regulation and organ involvement in various autoimmune diseases. It is well known that some tissues maintain a very high »entry barrier« concerning the development of immune-mediated inflammation, which leads to the state of »immune privilege« through the generation of specialized microenvironment. There are different patterns of cytokine synthesis in particular autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, type I diabetes, systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis, and worth stressing is the difference between cytokines as phenotype markers and cytokines as inflammation and tissue damage mediators. In most autoimmune diseases the balance between proinflammatory and

macije i može voditi evidentnim kliničkim efektima. Tako je kod bolesnika sa SLE dobijen značajan porast TNF- α i IL-10 u svim, a posebno u neurološkoj manifestaciji bolesti. Razumevanje osnovnih mehanizama kontrole diferencijacije T ćelija predstavlja put ka strategiji modulacije fenotipa citokina i sprečavanja tkivnog oštećenja i autoimunskih bolesti i, naravno, promoviše i zaštitu od istih.

antiinflammatory cytokines determines the extent and spread of inflammation and can lead to conspicuous clinical effects. In SLE patients, for instance, we observed a significant elevation of TNF- α and IL-10 in all, but especially in neurologic disease form. Understanding of the fundamental mechanisms of T cell differentiation control is the road to the strategy of cytokine phenotype modulation and prevention of tissue damage and autoimmune diseases, promoting naturally the protection from them.

MARKERI TIREOIDNE AUTOIMUNOSTI

N. Gligorović

*Klinički centar Crne Gore,
Podgorica, Crna Gora*

Autoimune tireoidne bolesti (AITB), najčešći endokrinološki poremećaj kod ljudi, dovode do oštećenja ćelija i promjene funkcije žlijezde humoralnim i ćelijski posredovanim mehanizmima. Tri glavna antigena uključena u razvoj ovih bolesti su: tireoperoksidaza (TPO), tireoglobulin (TG) i receptor tireo-stimulirajućeg hormona (TSH-R). Opisani su i drugi antigeni, ali za sada nije utvrđen njihov klinički značaj. Laboratorijski testovi koji bi se koristili za procjenu ćelijski posredovanih mehanizama kod AITB još uvijek nisu dostupni. S druge strane, procjena humoralnog odgovora, tj. određivanje tireoidnih antitijela, izvodi se u većini kliničkih laboratorija. Vrijednosti ovih parametara od značaja su za klasifikaciju, i reflektuju aktivnost i progresiju bolesti štitne žlijezde. U novije vrijeme, određivanje TPO antitijela koristi se za procjenu rizika za razvoj AITB. Mjerenje tireoidnih antitijela još uvijek prati niz problema vezanih za razlike u osjetljivosti i specifičnosti metoda, kao i odsustvo adekvatne standardizacije. Uprkos tome, njihovo određivanje od velikog je značaja za niz kliničkih situacija.

MARKERS OF THYROID AUTOIMMUNITY

N. Gligorović

*Clinical Center of Montenegro,
Podgorica, Montenegro*

Autoimmune thyroid diseases (AITD), the most common endocrine disorders affecting humans, cause cellular damage and alter the thyroid gland function by humoral and cell-mediated mechanisms. Three principal thyroid autoantigens are involved in the development of AITD: thyroperoxidase (TPO), thyroglobulin (TG) and thyroid stimulating hormone receptor (TSH-R). Other autoantigens have also been described, but as yet their diagnostic role in thyroid autoimmunity has not been established. Laboratory tests that determine the cell-mediated aspects of the autoimmune process are not currently available. However, tests of the humoral response, i.e. thyroid autoantibodies, can be assessed in most clinical laboratories. Thyroid autoantibodies are valuable for classification and reflect disease activity and progression. Lately, TPO antibodies assays have been used for assessing the risk of developing AITD. Thyroid autoantibodies measurement is hampered by method specificity and sensitivity problems, as well as suboptimal standardization. Despite that, autoantibody tests have inherent clinical utility in a number of clinical situations.

DIJAGNOSTIKA NASLEDNIH MALIGNITETA

K. Stankov

*Zavod za biohemiju,
Klinički centar – Novi Sad, Srbija*

Naše razumevanje etiologije nastanka predispozicije za nasledna oboljenja je poslednjih godina izuzetno napredovalo. Taj napredak omogućen je pre svega naglim razvojem molekularne genetike i ispitivanja genoma, kao i njihovom primenom u humanoju genetici. Malignitet je specifičan oblik kompleksnog

DIAGNOSTICS OF HEREDITARY MALIGNANCIES

K. Stankov

*Department of Biochemistry,
Clinical Center »Novi Sad«, Novi Sad, Serbia*

Significant advances have occurred in our understanding of the cancer etiology in the last decade, as a consequence of the generalized use of molecular biology techniques in human genetics. Cancer is a form of a complex genetic disease. Most forms of cancer are characterised by the accumulation of

genetskog oboljenja. Većinu tipova malignih oboljenja karakteriše akumulacija različitih genetskih alteracija koje utiču na gene sa specifičnim patogenim potencijalom, koji su specifični za svaki tip maligniteta. Kod većine malignih tumora te genetske alteracije odvijaju se na nivou somatskih ćelija, međutim neke od njih se prenose preko germinativnog epitela i imaju ulogu u naslednoj predispoziciji za nastanak maligniteta. Budući izazov u genetici maligniteta predstavlja identifikacija gena sa visokom prevalencijom alela koji doprinose smanjenju ili povećanju rizika za nastanak maligniteta.

PRIMJENA BIOMARKERA U ISPITIVANJU ZRELOSTI PLUĆA FETUSA

D. Popović-Pribilović, V. Miketić, G. Matović

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

U procesu maturacije, alveolarne epitelne ćelije proizvode površinski aktivan materijal koji se sastoji uglavnom od fosfolipida, a u znatno manjoj mjeri sadrži proteine, neutralne lipide i ugljene hidrate. Pulmonalni surfaktant sintetišu alveolarni pneumociti tipa II i »pakuju« u vidu lamelarnih tijela. Prije porođaja, lamelarna tijela difunduju kroz bronhijalno stablo u amnionsku tečnost. Parametri koji ukazuju na zrelost pluća mogu se posmatrati i kao odnos količine surfaktanata i drugih komponenti u amnionskoj tečnosti (sfingomijelin i albumin). U ovoj studiji određivani su odnos surfaktanta prema albuminu (S/A) i broj lamelarnih tijela (LB) u amnionskoj tečnosti kao predskazivači (prediktori) zrelosti fetalnih pluća. Istraživanje je obuhvatilo 90 trudnica čija je gestaciona starost bila od 32 do 40 nedjelje. Uzorci amnionske tečnosti dobijeni su amniocentezom i filtrirani kroz specijalne filtere. Odnos S/A određivan je testom *Fetal Lung Maturity II* (FLM) na TDX aparatu (ABBOTT). Vrijednost (broj) LB određivana je na hematološkom brojaču, na kanalu za trombocite, na aparatu Cell Dyn 3700 (ABBOTT). Srednja vrijednost S/A bila je 55,11 mg/g (min = 6,96 mg/g, max = 112,00 mg/g). Odnos surfaktant–albumin manji od 39,00 mg/g ukazuje na pojavu respiratornog distres sindroma (RDS) sa vjerovatnoćom od 94%. Srednja vrijednost LB bila je $69,4 \times 10^9/L$ (min = $4,2 \times 10^9/L$, max = $199,0 \times 10^9/L$). Vrijednost lamelarnih tijela od $33 \times 10^9/L$ ili manja ukazuje na pojavu RDS sa vjerovatnoćom od 93%. Odnos S/A raste sa gestacionom starošću ($r = 0,373$, $p < 0,005$), kao i broj lamelarnih tijela ($r = 0,934$, $p < 0,001$). Ova dva testa koreliraju jedan sa drugim $r = 0,341$, $p < 0,005$. Kod 90 trudnica koje su se porodile u okviru 72 časa odnos surfaktant–albumin i vrijednost lamelarnih tije-

different genetic alterations affecting genes from a set of genes with pathogenic potential, which is specific for each tumour entity. While in the majority of malignant tumours these changes are somatically acquired, some mutations are transmitted through the germline and account for an inherited tumour predisposition. The next frontier in cancer genetics is to find genes with high prevalence alleles conferring a low increase or decrease of cancer risk.

APPLICATION OF BIOMARKERS IN EVALUATION OF FETAL LUNG MATURITY

D. Popović-Pribilović, V. Miketić, G. Matović

Center for Clinical-Laboratory Diagnostics, Department of Obstetrics and Gynecology, Clinical Center of Montenegro, Podgorica, Montenegro

In the process of maturation, alveolar epithelial cells produce surface-active material (surfactant) which consists mainly of phospholipids and, although to a significantly lesser degree of neutral lipids, proteins and carbohydrate. Pulmonary surfactant is synthesized in alveolar type II granular pneumocytes and »packed« as lamellar bodies. Before delivery, the lamellar bodies diffuse through the bronchial tree into the amniotic fluid. Parameters which indicate the maturity of lungs are also observed in the ratio against the quantity of surfactant with other components of the amniotic fluid (sphingomyelin and albumin). The study concerns the determination of surfactant-to-albumin ratio and lamellar body count in the amniotic fluid as predictors of fetal lung maturity. The research involved 90 pregnant women with gestational age from 32 to 41 weeks. The samples of the amniotic fluid were obtained by amniocentesis and filtrated through special filters. The surfactant-to-albumin ratio was measured by the *Fetal Lung Maturity II* (FLM) test, on TDX instrument (ABBOTT). The lamellar body count was measured on a hematology cell counter by the platelet channel, on the Cell Dyn 3700 instrument (ABBOTT). The average value of ratio S/A was 55.11 mg/g (min = 6.96 mg/g, max = 112.00 mg/g). The surfactant-to-albumin ratio of less than 39.00 mg/g predicts respiratory distress syndrome with the probability of 79%. The average value of LB was $69.4 \times 10^9/L$ (min = $4.2 \times 10^9/L$, max = $199.0 \times 10^9/L$). Lamellar body concentration of $33 \times 10^9/L$ or less predicts respiratory distress syndrome with the probability of 86%. The surfactant-to-albumin ratio increased with gestation ($r = 0.373$, $p < 0.005$), as did lamellar body concentration ($r = 0.934$, $p < 0.001$). The two tests correlated with each other, $r = 0.341$, $p < 0.005$. In 90

la korektno ukazuju na pojavu RDS u šest slučajeva. Postoji visok stepen pozitivne korelacije između gestacione starosti i odnosa surfaktant albumin, kao i vrijednosti lamelarnih tijela.

patients delivered within 72 hours the surfactant-to-albumin ratio and the concentration of lamellar body correctly predicted six cases of respiratory distress syndrome. There was a high degree of positive correlation between gestational age and surfactant-to-albumin ratio, as well as lamellar body concentration.

BIOHEMIJSKI MARKERI ISHODA TRUDNOĆE U FETALNOJ KRVI

A. Nikolić-Dorđević

*Institut za laboratorijsku medicinu,
Klinički centar – Novi Sad, Srbija*

Tokom poslednjih deset godina postignut je značajan napredak u oblasti poboljšanja maternalno-fetalnog zdravlja. Biohemijska i hematološka ispitivanja fetalne krvi obuhvataju veliki broj parametara i vrše se iz umbilikalne krvi nakon dijagnostičke kordocenteze (radi genetskog ispitivanja) ili iz pre-transfuzionog uzorka fetalne krvi. U ovom radu je dat prikaz nekoliko dijagnostičkih markera analiziranih u fetalnoj krvi: endotelina-1, leptina, beta-2-mikroglobulina i inflamatornog markera interleukin-6. Endotelin-1 je vazokonstriktor na čiju indukciju utiču povećanje venskog krvnog pritiska i stanje stresa. Studija je obuhvatila uzorke pre i posle transfuzije fetalne krvi u slučajevima intrauterine transfuzije kod Rh-aloimunizovanih hemolitičkih fetalnih anemija. Povećanje fetalnog intravaskularnog volumena nakon fetalne transfuzije eritrocita sa visokim hematokritom podiže vrednosti nivoa endotelina-1 u fetalnoj krvi nakon inicijalne ali ne i nakon ponovljene transfuzije. Beta-2-mikroglobulin je proteinski molekul prisutan na ćelijskoj površini, povezan sa glavnim histokompatibilnim kompleksom. Nivo beta-2-mikroglobulina je takođe praćen u slučajevima intrauterine transfuzije kod Rh-aloimunizovanih fetalnih anemija pre i posle transfuzije. Koncentracije beta-2-mikroglobulina značajno su više kod fetusa sa prethodnom transfuzijom u odnosu na neanemične fetuse. Određivanje beta-2-mikroglobulina može se pokazati korisnim u identifikaciji fetusa sa potencijalno ozbiljnijim efektom Graft-versus-Host reakcije na ćelijske transplantate. Povećan nivo beta-2-mikroglobulina nakon transfuzije sugerše imunomodulatorni efekat intrauterine transfuzije (leukocitnih antigena donora) na fetalni imuni odgovor. Leptin je cirkulišući hormon koji koordinira unos i potrošnju energije u organizmu. U ovoj studiji, leptin je praćen u fetalnoj i maternalnoj krvi nakon genetskog »skrininga« u normalnoj euploidnoj trudnoći i trudnoći sa Daunovim sindromom. U normalnoj trudnoći, fetalne vrednosti leptina su značajno niže u odnosu na majčinu krv, ali se nivo tokom gestacije povećava. Daunov sindrom povezan je sa značajno nižim vrednostima u fetalnoj krvi. Moguće je

BIOCHEMICAL MARKERS OF ADVERSE PREGNANCY OUTCOMES IN FETAL BLOOD

A. Nikolić-Dorđević

Institute of Laboratory Diagnostics, Clinical Center »Novi Sad«, Novi Sad, Serbia

Within the past decade, significant progress has been made with regard to improving maternal and newborn health. Biochemical markers in fetal blood are assessed after diagnostic cordocentesis (which was primarily collected for genetic screening), or immediately prior to fetal transfusion. Concentrations of the following diagnostic markers are measured in this study: endothelin-1, leptin, beta-2-microglobulin and the inflammatory marker IL-6. Endothelin-1 is a potent vasoconstrictor, induced by rising venous pressure and rising shear stress. Subjects involved in this study included women with anti-DRh alloimmunized pregnancies, and fetal blood sampled pre- and post-transfusions. Rapid expansion of fetal intravascular volume by intravenous transfusion of packed red blood cells with a high hematocrit enhances fetal endothelin levels. Beta-2-microglobulin is a ubiquitous cell surface protein, associated with the major histocompatibility complex. It is a potential marker of Graft-versus-Host Disease. The median concentrations of beta-2-microglobulin are significantly higher in fetuses with prior transfusions compared with non-anemic fetuses. Evaluation of fetal beta-2-microglobulin might prove useful in identifying fetuses with potentially severe Graft-versus-Host or Host-versus-Graft reaction to cell transplants. Leptin is a recently discovered circulating hormone that coordinates energy intake and expenditure in adults. Leptin levels in the umbilical cord blood positively correlate with neonatal birth weight, suggesting a role in adipose homeostasis *in utero*. In this study, leptin levels were measured in fetal and paired maternal plasma in the second half of gestation, in pregnancies complicated with Down syndrome and euploid pregnancies. In euploid pregnancies, fetal leptin levels were significantly lower than in corresponding maternal values, but increased across gestation. Down syndrome was associated with significantly lower fetal leptin levels. It is possible that lower fetal leptin levels could reflect the persistent immaturity of the pattern of placental peptide hormone synthesis in fetal Down syndrome. Recent evidence strongly implicates the inflammato-

da niže vrednosti leptina odražavaju postojeću nezrelost hormonske sinteze na nivou placente koja je prisutna u fetalnom Daunovom sindromu. Novije studije ukazuju da antiinflamatorni odgovor na intrauterinu infekciju predstavlja najznačajniji razlog prevremenog porođaja, te oštećenja fetalnih organa. Inflatarni citokin interleukin-6 praćen je kao potencijalni marker prevremenog porođaja kod prisutne infekcije amnionske tečnosti kao najznačajnijeg faktora rizika. Vrednost IL6 >11 pg/mL označena je kao *cut-off* vrednost povezana sa povećanim rizikom prisustva sistemskog inflamatornog odgovora.

ry response to intrauterine infection in the pathogenesis of neonatal brain and lung injury. The frequency and clinical significance of systemic inflammatory responses were defined by elevated plasma interleukin-6 concentrations in fetuses with preterm labor. A fetal plasma interleukin-6 cut-off value of 11 pg/mg was used to define the presence of a systemic inflammatory response.