

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
DEPARTMAN ZA VETERINARSKU MEDICINU**

Prof.dr Branislava Belić Prof.dr Marko Cincović

**OPŠTA PATOLOŠKA FIZIOLOGIJA -
PRAKTIKUM**

Novi Sad, 2021.

EDICIJA POMOĆNI UDŽBENIK

Osnivač i izdavač Edicije

*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad
Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad*

Godina osnivanja

1954.

Glavni i odgovorni urednik Edicije

**dr Nedeljko Tica, redovni profesor
dekan Poljoprivrednog fakulteta**

Članovi komisije za izdavačku delatnost

Dr Branislav Vlahović, redovni profesor, predsednik

Dr Ivana Davidov, vanredni profesor, član

Dr Dejan Beuković, docent, član

Dr Ksenija Mačkić, docent, član

Autori

Prof. dr Branislava Belić

Prof. dr Marko Cincović

CIP - Каталогизација у публикацији
Библиотеке Матице српске, Нови Сад

636.09:616-092(075.8)(076)

БЕЛИЋ, Бранислава, 1956-

Opšta patološka fiziologija : praktikum / Branislava Belić, Marko Cincović. -
Novi Sad : Poljoprivredni fakultet, 2022 (Niš : Grafika "Galeb"). - 136 str. : ilustr. ;
30 cm. - (Edicija Pomoćni udžbenik / Poljoprivredni fakultet, Novi Sad)

Tiraž 20. - Bibliografija.

ISBN 978-86-7520-560-9

1. Цинцовић, Марко Р., 1984-
а) Ветеринарска патолошка физиологија - Практикуми

COBISS.SR-ID 71720457

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

EDICIJA POMOĆNI UDŽBENIK

**Prof. dr Branislava Belić
Prof. dr Marko Cincović**

**OPŠTA
PATOLOŠKA FIZIOLOGIJA
PRAKTIKUM**

Novi Sad, 2021.

OPŠTA PATOLOŠKA FIZIOLOGIJA - PRAKTIKUM

Autori
Prof.dr Branislava Belić
Prof.dr Marko R. Cincović

Glavni i odgovorni urednik

Prof. dr Nedeljko Tica
Dekan Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu

Tehnički urednik:
Prof.dr Marko R. Cincović

Recenzenti

Prof.dr Nikolina Novakov, u.n.o. Bolesti životinja i higijena animalnih proizvoda, Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

Prof.dr Zdenko Kanački, u.n.o. Anatomija histologija i fiziologija životinja, Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

Izdavač
Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Štampa
Grafika Galeb d.o.o. Niš

Tiraž
20

Odlukom Nastavno-naučnog veća Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu rukopis je odobren za izdavanje kao pomoći udžbenik.

Zabranjeno preštampavanje i fotokopiranje. Sva prava zadržava izdavač.

Predgovor

Nakon izdanja praktikuma iz Patološke fiziologije, koji je izašao iz štampe 2012.godine, a tokom praćenja nastave, ukazala se potreba da se zbog boljeg savlađivanja i učenja predmeta, koji je slušan jedan semestar, sluša dva semestra kao odvojena Opšta patološka fiziologija i Specijalna patološka fiziologija. Naime, autori ovog praktikuma i udžbenika su zapazili da preobimno gradivo za jedan semestar studenti ne mogu na adekvatan način da nauče i savladaju, te su na ispite izlazili veoma odloženo po nekoliko meseci do godinu dana.

Odvajanjem ova dva predmeta došlo je do značajnih pomaka a time i potrebe da se napiše ovaj praktikum iz opšte patološke fiziologije i da se u njemu obrade patofiziološke metode i laboratorijska dijagnostika, patofiziologija delovanja etioloških faktora i opštег odgovora organizma, patofiziologija inflamacije i imunološkog sistema, patofiziologija poremećaja metabolizma tečnosti, acido-baznog statusa i jona, patofiziologija poremećaja metabolizma ugljenih hidrata, masti i proteina i patofiziologija kancerogeneze.

Praktikum je namenjem studentima veterinarske medicine, koji ovaj predmet slušaju na Departmanu za veterinarsku medicine Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu. Napisan je u saglasnosti sa akreditovanim programom iz predmeta Opšta patološka fiziologija i po sadržaju prati teoretski deo ovog predmeta.

U savremenoj vetrinarskoj medicini svakodnevno postoji potreba za znanjem i veštinama, koje su opisane u ovom praktikumu a on je naročito potreban za sticanje znanja o metodama, koje su potrebne u dijagnostici bolesti životinja.

Nadamo se da će budući rad sa studentima i kolegama iz prakse doprineti da neko novo izdanie praktikuma bude još kvalitetnije.

*U Novom Sadu,
septembar, 2021.*

Autori

Sadržaj

Uvod	7
Patofiziološke metode i laboratorijska dijagnostika.....	8
Patofiziologija delovanja etioloških faktora i opšteg odgovora organizma.....	36
Patofiziologija inflamacije i imunološkog sistema.....	58
Patofiziologija poremećaja metabolizma tečnosti, acido-baznog statusa i jona.....	78
Patofiziologija poremećaja metabolizma ugljenih hidrata, masti i proteina.....	96
Patofiziologija kancerogeneze.....	127
Literatura	134

UVOD

Patološka fiziologija na integrisanim studijama veterinarske medicine na Departmanu za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu sluša se kao Opšta patološka fiziologija i Specijalna patološka fiziologija. Opšta patološka fiziologija izučava patološke procese i stanja koja su opšta i zajednička za ceo organizam, dok Specijalna patološka fiziologija izučava patološke procese i stanja pojedinih organskih sistema.

Praktikum je napravljen tako da pomogne studentima u pripremi ispita iz ovog predmeta kroz kontinuirani rad na vežbama i samoprocenu usvojenih znanja. Zajedno sa udžbenikom i materijalom sa predavanja i vežbi predstavlja dovoljno štivo za uspešnu pripremu ispita. Praktikum je organizovan kroz poglavlja koja prate osnovni udžbenik. U okviru svakog od poglavlja postoji pet podpoglavlja i to: 1) patofiziološka dijagnostika i interpretacija, 2) zadaci za vežbanje koji se rešavaju pomoću materijala sa vežbi, 3) klinički slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje, 4) pitanja za pismenu proveru znanja i 5) pitanja za usmenu proveru znanja. Svako potpoglavlje predstavlja didaktički materijal za određene delove ispita i to: potpoglavlje 1-3 služe za pripremu praktičnog dela ispita zajedno sa materijalima koji se dobija na vežbama; potpoglavlje 4 služi za pripremu testa, dok potpoglavlje pod tačkom 5 služi radi lakše i sistematične pripreme usmenog dela ispita koji se priprema iz udžbenika i iz materijala sa predavanja.

U procesu učenja studenti moraju poznавati ciljeve i ishode predmeta, kako bi pravilno usmerili svoje učenje i samostalni rad tokom nastave. Cilj ovog predmeta je da omogući da studenti steknu: 1) znanja o mehanizmima patološkog delovanja različitih etioloških faktora i karakteristikama opštih poremećaja homeostaze, metabolizma i adaptacije koji nastaju u organizmu i koji su zajednički za poremećaj zdravlja različitih organskih sistema; 2) veštine primene osnovnih laboratorijskih metoda u patološkoj fiziologiji; 3) sposobnost tumačenja patofizioloških rezultata i tumačenja opštег poremećaja zdravlja životinja. Posle savladanog gradiva i položenog ispita iz Opšte patološke fiziologije student će: 1) moći da prepozna, grupiše, nabroji i objasni opšte etiološke činioce i adaptacione procese prilikom postojanja poremećaja zdravlja, 2) da objasni i poveže vezu između delovanja etioloških činilaca i zdravlja životinja, 3) da primeni odgovarajuće laboratorijske standarde u cilju pravilne dijagnostike opštih poremećaja zdravlja, 4) da na osnovu zadatih slučajeva vrši analizu laboratorijskih rezultata i izvede zaključak o tipu opštег zdravstvenog poremećaja koji postoji, 5) da organizuje i prikupi sve relevantne podatke o delovanju etioloških činilaca i tipovima promene koje u organizmu izazivaju, 6) da oceni stepen narušenosti zdravlja životinja u skladu sa nalazima i jačinom delovanja noksi.

Nadamo se da će Praktikum iz opšte patološke fiziologije pomoći studentima da postignu sve ciljeve i ishode učenja i ostvare što bolje uspehe prilikom polaganja ovog predmeta.

PATOFIKOLOŠKE METODE I LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Mesto patofiziološke laboratorijske dijagnostike

Patološka fiziologija je naučna disciplina u čijoj metodologiji dominiraju postupci za prepoznavanje uzroka i mehanizama razvoja poremećaja funkcije i strukture organa. Ona pripada laboratorijskoj medicinskoj struci i daje neophodne i značajne podatke u dijagnostičkim postupcima.

Prilikom kliničkog pregleda pacijenta lekari kako veterinarske tako i humane medicine mogu prikupiti ograničen broj podataka, koji se pre svega odnose na rezultate dobijene osnovnim kliničkim metodama (adspekcija, palpacija, auskultacija i dr.). Na ovaj način dobijeni rezultati (nalazi) vrlo često nisu dovoljni za postavljanje konačne dijagnoze, pa veterinar upućuje u laboratoriju pacijenta ili njegov biološki materijal (krv, serum, urin, likvor, transudat, eksudat, feses i dr.) da bi se izvršile tzv. **dopunske dijagnostičke metode**.

Dopunske dijagnostičke metode treba koristiti kada je odgovor na jedno od navedenih pitanja "da" ili "možda": a) Može li povišen, normalan ili snižen laboratorijski dobijen nalaz uticati na dijagnozu? b) Može li nalaz uticati na terapiju? c) Može li laboratorijski nalaz uticati na buduću prognozu za pacijenta? d) Može li bolest na koju sumnjamo biti asimptomatska i koji je način njenog lečenja?

Dopunske dijagnostičke metode ne treba koristiti ako znamo da njihovi rezultati neće doprineti dijagnostičkom i terapijskom postupku. Vrlo je važno da se primene prave dijagnostičke metode po pravilnom redosledu i u pravom trenutku. Postupak podrazumeva korišćenje metoda koje su nam dostupne na mestu pregleda pacijenta (mikroskopske metode, elektrokardiografija, ultrazvučna dijagnostika), a potom i slanje materijala i pacijenta na dalje preglede. Dinamika i učestalost upotrebe dopunskih laboratorijskih metoda zavisi od težine bolesti, vrste terapije i dinamike fizioloških promena u organizmu. Poznato je da se koncentracija serumskih proteina ne menja u okviru 5-7 dana, dok koncentracija različitih transaminaza može da se menja u okviru jednoga dana kod akutnog hepatitisa. Navedeni način posmatranja je doveo do razvoja koncepta racionalne dijagnostike u patološkoj fiziologiji. U drugom delu ovog praktikuma predstavljeni su metodi dijagnostike u patološkoj fiziologiji.

U ovakvim situacijama veterinar kliničar šalje uput u kome precizno označava šta je potrebno za dalje laboratorijsko ispitivanje. Danas, komercijalne laboratorije imaju razvijene sopstvene liste na kojima veterinar određuje i šalje putem interneta obeležene analize neophodne za dodatna ispitivanja. Pored navedenog, bitno je navesti vrstu životinje koju ispitujemo, rasu, pol i starost uz opšti klinički nalaz sa radnom dijagnozom.

Veterinar koji prima zahteve i uzorke u laboratoriji organizuje funkcionalna ispitivanja tako da se na osnovu što manje uzetog uzorka po obimu ili što manjeg broja metoda mogu dobiti validni rezultati. Dobijeni materijal se deli na neophodan broj uzoraka i po potrebi šalje različitim

odeljenjima patofiziološke laboratorije (laboratorija za hematologiju, hemostazu, kliničku biohemiju, endokrinologiju i drugo), gde veterinar specijalista obavlja testiranje uzoraka. Rezultati ispitivanja se kompletiraju u prijemnoj laboratoriji i šalju kliničaru direktno ili preko vlasnika životinje. Veterinar kliničar tumači dobijene nalaze, postavlja dijagnozu i propisuje terapiju. U svakodnevnom kliničkom radu patofiziološke metode dijagnostike su neizostavne.

Za dobijanje validnih rezultata potrebno je primeniti preanalitičke, analitičke i postanalitičke postupke, a u skladu sa fiziološkim kretanjima i metodološkim pravilima, što pokazuju objašnjenja u poglavljima ovog Praktikuma.

Uzimanje uzoraka za laboratorijska ispitivanja

Za laboratorijska ispitivanja uzimaju se uzorci krvi/seruma, kostne srži, sadržaja iz respiratornih puteva, želudačnog sadržaja, buražnog sadržaja, fecesa, urina, likvora, sadržaja iz abdominalne i grudne duplje, delovi tkiva i dr. U određenim dinamičkim ispitivanjima neophodno je prisustvo životinje i edukacija vlasnika o postupku sa životinjom pre laboratorijskog ispitivanja. Pojedine metode podrazumevaju funkcionalno ispitivanje na samoj životinji (EKG- elektrokardiografija, EEG-elektroencefalografija, ultrazvučne metode i drugo).

Krv se uzima punkcijom vena životinje. Najčešće se za punkciju koriste v. jugularis externa, vena caudalis, v. cephalica, v.saphena i druge. Vene su pogodne za uzimanje krvi zbog lakog pristupa, mada se u slučaju preciznih gasnih analiza koristi i uzima arterijska krv. Krv se može uzeti iz vene uha, dok se kod ptica koristi vena krila, a uzima se pomoću šprica i igle ili pomoću sistema epruvete sa vakutajnerom. Pre plasiranja igle neophodno je izvršiti šišanje, brijanje i dezinfekciju kože anatomske regije, gde se nalazi krvni sud iz koga će se uzimati uzorci krvi.

Upotreba **sistema epruvete sa vakutajnerom** je vrlo pogodna za uzimanje krvi. To su epruvete koje su pod vakuumom i prilikom stavljanja u držač sa iglom i plasiranja u lumen vene negativni pritisak u epruveti uvlači krv u epruvetu. Prednost upotrebe ovog sistema vakutajnera je što jednom rukom možemo uzeti krv a drugom smiriti životinju. Za upotebu šprica i igle najčešće se koriste obe ruke. Vakutajneri mogu biti prazni ili mogu sadržati sredstva za sprečavanje hemolize ili izdvajanje krvnog seruma. Boja čepa vakutajnera ukazuje na sadržaj supstance koja se nalazi u vakutajneru : svetlo plava (Na-citrat), zelena (Na ili Li-heparin), ljubičasta (EDTA-ethylenediaminetetraacetic acid), siva (fluoridi), žuta (SPS-Sodium polyanetholesulfonate), tamno plava (EDTA), mramorno crvena ili zlatna (aktivatori zgrušavanja i gel za separaciju seruma), mramorno žuta ili narandžasta (trombin), mramorno ili svetlo zelena (gel za separaciju plazme) i dr. Krv ili serum treba nakon uzimanja što pre odneti u laboratoriju ili stabilizovati stavljanjem seruma na temperaturu frižidera (+4°) ili zamrzavanjem (-20°). Tako, za određivanje insulina iz seruma, uzorak se može čuvati 4-6 dana na sobnoj ili temperaturi frižidera ili 6 meseci nakon zamrzavanja. Bilirubin se mora odmah odrediti, a krv se ne sme izlagati sunčevom zračenju. Da bi uzorak za ispitivanje glukoze bio validan, neophodno je da se krv deproteinizira. Dakle, u zavisnosti od načina uzimanja krvi, transporta i čuvanja uzorka zavisi i kvalitet uzorka u dijagnostičkom postupku. Krvni serum je znatno stabilniji za čuvanje u odnosu na celu krv. U

uslovima uzimanja uzorka na farmi i uvek kada je mesto uzimanja uzorka daleko od laboratorije, neophodno je da se odmah izdvoji serum od ostalih delova krvi. Ukoliko ne posedujemo sistem epruveta sa vakutajnerom, serum se odvaja centrifugiranjem u centrifugi u trajanju od 10 minuta i na 3000 obrtaja / min.

U toku uzimanja krvi i postupanju sa njom treba izbeći određene greške. Jedan od najčešćih problemaka koji se javlja je brza koagulacija krvi, te treba koristiti antikoagulanse. Drugi problem je hemoliza uzorka, koja može nastati kao posledica kongestije, brze aspiracije krvi, predugog stajanja krvi na sobnoj temperaturi, izlaganjem visokim temperaturama i slično. U toku hemolize raste količina i koncentracija enzima koji se oslobođaju iz ćelija, što može dovesti do nepravilnog tumačenja rezultata. Hemoliza može biti veliki problem prilikom određivanja koncentracije bilirubina. Vrlo često se javlja hiperlipemična ili hiperproteinemična plazma, zbog čega treba izvršiti deproteinizaciju seruma (filtriranje ili hemijsko razlaganje) odnosno ekstrakciju lipida. Ovaj postupak je neohodan jer povišene vrednosti lipida (iznad 4,5mmol/l) ili proteina (iznad 70g/l) stvaraju penu, a u fotometrijskom postupku interferiraju sa drugim materijama u krvi i daju neprecizne a često i pogrešne rezultate.

U toku uzimanja krvi za laboratorijska ispitivanja, neophodno je da životinja 12 sati ne uzima hranu. Naime, nakon uzimanja obroka povećava se koncentracija triglicerida u serumu, koja onemogućava izvođenje velikog broja biohemihskih analiza i menja rezultate tih analiza. U većini laboratorijskih koriste se epruvete sa pritiskom, koje se pune automatski do predviđenog nivoa (Vacutainer system), mada se u mnogim laboratorijskim još uvek koriste klasične epruvete.

Epruveta sa vakutajnerom sa ljubičastim čepom u kojoj se nalazi EDTA kao antikoagulans se koristi za brojanje uobličenih krvnih elemenata i diferencijalnu krvnu sliku. Kada se uzima krv u ovu epruvetu, ona treba da bude ispunjena više od polovine ili do oznake na njoj. Manja količina krvi sa tečnim antikoagulansom dovodi do razređenja uzorka i do nevalidnih rezultata. Epruveta sa plavim čepom u kojoj se nalazi Na-citrat se koristi za ispitivanja faktora koagulacije krvi i hemostaze. Za određivanje sedimentacije koristi se epruveta sa roze zatvaračem i treba uzeti uzorak do oznake na samoj epruveti, dok se epruvete sa zelenim čepom i antikoagulansom heparinom koriste kod hematološke analize krvi ptica. Nakon vađenja krvi epruveta se lagano okrene nekoliko puta (da bi se izmešala uzeta krv i antikoagulans) i nakon toga se šalje u laboratoriju. Ukoliko, nemamo mogućnosti da odmah pošaljemo uzorak krvi u laboratoriju treba da je čuvamo na temperaturi od +2 do +4°C, maksimalno 24 časa.

Za **ispitivanja koagulacije krvi** koristi se epruveta s plavim čepom u kojoj se kao antikoagulans nalazi 3,8 % Na- citrat. Punu epruvetu treba lagano okrenuti desetak puta, vodeći računa pri tome da ne dođe do zgrušavanja. Nakon toga, potrebno je punu krv u roku od pola sata, centrifugirati na 3000 obrtaja 15 minuta i zatim plastičnim nastavcima uz pomoć automatske pipete odvojiti plazmu. Plazmu se čuva na temperaturi od - 20°C do - 70°C. Važno je napomenuti je u toku uzimanja uzorka krvi potrebno pažljivo izvršiti venepunkciju da ne bi došlo do aktivacije faktora koagulacije i agregacije trombocita.

Za **određivanje biohemihskih parametara** potrebno je koristiti epruvete za dobijanje serumu sa žutim (crvenim) čepom, sa ili bez gela i aditiva. Nakon koagulacije, koja se kod

životinja odvija tokom 5 – 10 minuta (kod goveda $\frac{1}{2}$ h), epruvetu je potrebno centrifugirati na 3000 – 4000 obrtaja/minuti (goveda 5000 obrtaja/minuti) tokom 5 – 10 minuta. Ukoliko se koriste epruvete s gelom, gel će odvojiti korpuskularne elemente od serum-a te tako odvojen serum ne treba posebno odvajati. Ukoliko nema gela, potrebno je odvojiti serum u drugu epruvetu. Ako određujemo glukozu u serumu ili plazmi, a uzorak nije moguće dostaviti laboratoriji i uraditi analize za 2-3 h, dolazi do smanjenja vrednosti glukoze. Naime, nivo glukoze izvan tela opada s vremenom u punoj krvi zbog glikolize. Nivo glikolize, prosečno iznosi 5-7% ($\sim 0,6$ mmol/L) po satu, te se menja zavisno od koncentracije glukoze, temperature, broja leukocita i drugih faktora. Postoje male razlike između rezultata dobijenih vršenjem analiza iz serum-a ili plazme, osim za neke parametre. Laktat dehidrogenaza (LDH), kalijum i fosfor se nalaze više u serumu nego u plazmi, zbog oslobađanja tih parametara iz ćelija za vreme koagulacije. Proteina i globulina ima više u plazmi nego u serumu jer plazma sadrži i fibrinogen. Važno je napomenuti većina biohemijskih parametara je stabilna 48 h na temperaturi frižidera. Za duže čuvanje potrebno je serum zamrznuti na -20°C .

Kostna srž se uzima u cilju ispitivanja celularnosti ili biohemijskih karakteristika elemenata kostne srži. Najčešće se kostna srž dobija sternalnom punkcijom, punkcijom iliačne kriste ili istaknutih koštanih delova femura ili humerusa. Poštujući metode asepse i antisepse posle pravljenja malog zareza na koži plasira se igla na odabranu mesto i vrši se aspiracija 0,2-0,5 ml, što je dovoljno za razmaz.

Za uzimanje **urina** u cilju patofizioloških ispitivanja postoje brojne indikacije. Kod životinja se urin može uzeti kateterizacijom ili cisticentezom u zavisonosti od vrste analize i prohodnosti donjih urinarnih puteva. Prilikom sakupljanja dnevne diureze neophodno je izvršiti kateterizaciju životinje ili staviti životinju u posebne metaboličke kaveze. Dinamika uzimanja urina zavisi od kliničke pretpostavke. Jutarnja mokraća je najkoncentrovana, pa tu mokraću treba koristiti za biohemijске analize. Za ispitivanje glukozurije koristi se mokraća, koja se uzima posle obavljenog obroka. U laboratorijskom radu najčešće se koristi svež urin, ali se može konzervisati sa timol-izopropanolom (osim prilikom ispitivanja žučnih boja). Urin dnevne diureze za ispitivanje steroida i kateholamina može se konzervisati sa 50ml 1mol/l HCl. Urin se uzima u čistu posudu (minimalno 10 ml), a najbolje je kristitii prvi jutarnji urin. Tokom dva sata uzorak je potrebno dostaviti u laboratoriju a ukoliko to nije moguće urin je potrebno staviti u frižider na temperaturu od +2 do +8 °C (do 12 h). Produženo stajanje uzorka može prouzrokovati rast pH, proliferaciju mikroorganizama, razgradnju ćelijskih elemenata i hemijskih parametara.

Sadržaj želuca može se dobiti sondiranjem oralnom ili nosnom (konj) sondom. Kod životinja koje teško povraćaju (konj, prezivari) najpre se nalije oko pola litre vode kroz sondu kako bi se kardija lagano otvorila i omogućila prolaz sondi. Ovo je i terapeutski postupak za evakuaciju sadržaja. Kod prezivara **sadržaj buraga** se dobija sondom, ruminocentezom ili posle ruminotomije, što zavisi od potreba analize. Sadržaj buraga se mora pregledati vrlo brzo, u okviru nekoliko sati, na sobnoj temperaturi, zbog autolize i hemijskih i mikrobioloških promena u ruminalnom sadržaju. Ruminocenteza je posebno primenljiva ako ispitujemo pH i biohemiske vrednosti sadržaja.

Vrlo često je potrebno ispitati postojanje transudata ili eksudata u abdominalnoj duplji. Za ta ispitivanja se koristi **abdominocenteza**. To je postupak punkcije abdomena, pomoću ultrazvuka (posebno ako se radi o lokalizovanoj tečnosti) ili se postupak radi slobodoručnom punkcijom 1 cm desno i lateralno od ventralne medijalne linije i 1-2cm kranijalno od umbilikulusa (desni kranijalni kvadrant). Ukoliko se u roku od jednog minuta ne pojavi tečnost izvući špricom oko 5 ml tečnosti.

Bronhoalveolarna lavaža je značajna za citološka i mikrobiološka ispitivanjima donjih disajnih puteva, a naročito je indikovana kod bolesti dubljeg plućnog tkiva. Varijacija ove metode je transtrahealna aspiracija.

Uzimanje uzoraka **cerebrospinalne tečnosti** vrši se lumbalnom punkcijom (L4-L5 ili L5-L6 regija) ili u regiji atlasa i okcipitalne protuberance. Preporučuje se opšta anestezija, a koristi se igla od 2.5 inča (19-22G). Igla se lagano plasira milimetar po milimetar do trenutka dok se ne pojavi cerebrospinalna tečnost, koja izlazi a potrebitno je uzeti do 2 ml cerebrospinalne tečnosti.

Punkcijom zglobova (**arthrocentza**) može se uzeti zglobna tečnost. Ovo je metoda koja zahteva sve mere asepse i antisepse i vrši se u uslovima kada postoje različiti ortopedski poremećaji. Preporučuje se sedacija ili opšta anestezija za životinju.

Transport uzetog materijala mora biti pažljiv i po propisima, naročito ako se sumnja da je materijal potencijalno infektivan. Većina hematoloških i biohemijskih parametara se ne oštećuju značajno tokom transporta.

Pojedine metode zahtevaju direktna merenja na pacijentu (EKG, EEG i drugo) i o njima ćemo govoriti u delu koji se odnosi na dijagnostičke metode.

Osnovne laboratorijske metode u patološkoj fiziologiji

Patofiziološke metode se mogu podeliti na: metode razdvajanja i metode merenja, a danas savremene metode omogućavaju da se u istom postupku vrši i razdvajanje (kvalitativna analiza) i merenje (kvantitativna analiza) pojedinih materija.

Centrifugiranje predstavlja metodu razdvajanja, gde se odvajaju faze različitog agregatnog stanja. Taloženje nerastvorenih čestica postiže se povećanjem sile gravitacije upotrebom centrifugalne sile. Centrifuga omogućava i razdvajanje materija različitih specifičnih težina. Centrifugiranjem se dobija deo koji je ostao na dnu epruvete (talog, sediment) i deo koji je iznad taloga (supernatant).

Dijaliza predstavlja način odvajanja materija (čestica) pomoću selektivno propustljivih membrana kroz koju prolaze isključivo čestice pravog rastvora.

Filtracija je metoda razdvajanja čvrstih nerastvorljivih čestica od rastvarača u kome se oni ne rastvaraju. U toku filtracije nerastvorene čestice ostaju na filtru, a tečni deo prolazi kroz pore filtra. U dijagnostičke svrhe se mogu koristiti i talog i filtrat, u zavisnosti od potreba i metoda. Za filtraciju se koriste različiti filter papiri (Schleicher-Schulovi papiri i Whatmanovi papiri), koji su različitog obima i prečnika, a često su obeleženi i brojevima, u zavisnosti od brzine filtracije. Da bi filtracija bila kvalitetnija i brža vrši se homogenizacija. Homogenizacija

tkiva se uvek vrši kada želimo da razbijemo veze među celijama i oslobođimo sadržaj tkiva za dalju separaciju.

Hromatografija je vrlo česta separaciona metoda u kliničkoj biohemiji i drugim oblastima hemije. Pomoću ove metode moguće je odvojiti supstance iz bioloških smesa veće (nekoliko grama) i manje količine (pikogramske). Hromatografski sistemi se sastoje iz dve faze: nepokretno-stacionarne (čvrsta, tečna, čvrsta+tečna) i pokretno-mobilne (tečna ili gasovita). Pokretna faza (čije čestice određujemo) teče po nepokretnoj fazi ili se propušta kroz nju, a u toku ove faze na molekul deluju dve sile sa suprotnom tendencijom: jedna je sklonost molekula ka adsorpciji na površini nepokretnog medijuma (stacionarne faze), a druga je težnja molekula ka rastvaranju u rastvaraču koji protiče kroz medijum. Faze se biraju po koeficijentu raspodele supstance. Razdvajanje supstanci hromatografijom nastaje kao posledica: uspostavljanja apsorpcione ravnoteže između čvrste i tečne faze (apsorpciona hromatografija), uspostavljanje ravnoteže između jonoizmenjivačke smole i elektrolita (jonoizmenjivačka hromatografija), ravnoteže između dve tečne faze (distribucionna hromatografija), uspostavljanje ravnoteže između nepokretno tečne i pokretno gasovite faze (gasna hromatografija). Posle protoka čestica ispitivanog rastvora u struji rastvarača se vrši razvijanje hromatograma u određene frakcije. Frakcije dobijene **u kolonama** (staklene cevi) se prihvataju kontinuirano uz pomoć kolektora (poseban sistem koji u jednakim vremenskim intervalima podnosi epruvetu pod kolonu), pa se razdvojene frakcije nalaze u nizu od nekoliko epruveta. Ako se radi o **tankoslojnoj hromatografiji** (na hartiji ili silika-gelu) frakcije se boje dok su još apsorbovane na medijum ili se mogu spirati (eluirati) u rastvarače koji su u posebnim posudama, pa određivati njihove kvantitativne i ostale karakteristike. Posebna vrsta hromatografije je tečna hromatografija pod visokim pritiskom (**HPLC** – High Pressure Liquid Chromatography). U ovom hromatografskom postupku koriste se posebne pumpe za pokretanje mobilne faze, jer je stacionarna faza vrlo gusta. Ovo omogućava visoku rezoluciju hromatografskog analitičkog postupka, a nedostatak metode je skupa oprema i održavanje.

Elektroforeza predstavlja postupak razdvajanja molekula na osnovu njihove razlike u električnom naboju. Migracija molekula u električnom polju zavisi od njihovih karakteristika (veličina, oblik, naboј), pH vrednosti i viskoznosti medijuma u kome su one rastvorene. Elektroforeza se deli u odnosu na medijum u kome se odvija. Razlikujemo: **elektroforezu na hartiji** (koristi se Whatman hartija No1 ili No3) i **gel-elektroforezu** (poligalaktoza gel, poliakrilamid gel, SDS-PAGE gel za subjedinice proteina – Sodijum Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Electrophoresis, izoelektrično fokusiranje u gel elektroforezi za makromolekule). Postupak za izvođenje elektroforeze je sledeći: spremanje uzorka, nanošenje uzorka, elektroforeza, bojenje gela, ispiranje gela i denzitometrija traka. Pre početka elektroforeze sve nosače (osim gelova) treba dobro zasiliti puferom, da bi se obezbedila električna provodljivost. Rastvoreni uzorak se nanosi mikropipetom u vidu malog kruga ili crte, a ako molekule koje želimo da izolujemo imaju suprotna nanelektrisanja uzorak treba naneti na sredinu trake. Ukoliko je nanelektrisanje isto uzorak se nanosi na jednom kraju trake, što dalje od elektrode ka kojoj će putovati. Kada je uzorak nanet aparat za elektroforezu se priključi na izvor struje (sa ispravljačem). Prosečno, niskovoltarna elektroforeza traje od 2 - 20 h. Kada se nosač

izvadi iz aparata suši se na vazduhu na 110°C. Cilindrični gelovi i poliakrilamid se posle vađenja fiksira u 7% rastvora sirćetne kiseline. Vizualizacija uzorka se vrši različitim hemikalijama koji u kontaktu sa izdvojenim materijama daju boju iz vidljivog spektra. Proteini odvojeni u SDS PAGE elektroforezi se prenose na posebne membrane i obeležavaju monoklonskim antitelima uz razvoj bojene reakcije u postupku koji se naziva **Western blot** analiza.

Postoje brojne metode za merenje koncentracije metabolita i drugih jedinjenja u tečnostima i tkivima organizma. U patofiziološkim merenjima najčešće se koristi merenje metodom kolorimetrije. **Kolorimetrija** je metoda kojom se pomoću kolorimetra određuje koncentracija neke materije u biološkom materijalu merenjem apsorpcije svetla u rastvoru. Kolorimetrijske metode su vrlo pogodne jer ispitivanu materiju ne treba prethodno izolovati. Suština kolorimetrijskih reakcija je da se na određeni način pripremi krv i doda reagens, koji sa ispitivanom materijom daje bojeni kompleks. Prolaskom svetlosti kroz obojenu materiju, određeni deo svetlosti se apsorbuje a ostatak se propušta. Odnos se nazuva ekstinkcija i ona je direktno proporcionalan količini obojenog kompleksa. Merenje koncentracije ispitivane materije se postiže upoređujem ekstinkcija standarda i ekstinkcija ispitivanog seruma ili se dobijeni rezultat ucrtava u standardnu krivu. Standardna (baždarna) kriva predstavlja linearni grafik zavisnosti stepena apsorpcije svetlosti u zavisnosti od koncentracije materije. Merenje ekstinkcije na kolorimetru se vrši pomoću fotoelektričnog kolorimetra. Svetlost prolazi iz izvora kroz filter i blendu, a potom odlazi do kivete (promera 1x1cm), gde se vrši apsorpcija dela svetlosti, a ostatak prolazi do fotoćelije koja je povezana sa potenciometrom, pa se u odnosu na izmenjenu voltažu određuje koncentracija bojene materije uzorka.

Talasne dužine svetlosti koje prolaze kroz filter kolorimetra su dosta široke, te je teško razlikovati materije koje apsorbuju svetlosnost u uskim granicama talasnih dužina, te je zato razvijen savršeniji metod koji se naziva **spektrofotometrija**.

Izvesna jedinjenja imaju sposobnost da apsorbuju svetlosnu energiju, a zatim da emituju izvesnu količinu apsorbovane i stvorene/pobuđene energije u obliku vidljive svetlosti (fluorescencija i fosforescencija - luminiscencija). **Fluorimetar** je po izgledu sličan kolorimetru, ali pored izvora svetlosti i sočiva poseduje primarni i sekundarni filter između kojih se nalazi uzorak i fotopojачivač.

Potenciometrijske metode spadaju u posebna fizička merenja. Ako se dve elektrode povežu naponom onda će njihovo uranjanje u isti medijum dovesti do promene napona i električne struje koja se može meriti. Promena napona zavisi od koncentracije jona u rastvoru, a ako se elektrode oblože polupropusnim membranama koje propuštaju određenu vrstu jona ta elektroda će postati tzv. selektivna elektroda. Ove elektrode se koriste za određivanje koncentracije i parcijalnog pritiska kiseonika i ugljendioksida.

Imunometrijske metode predstavljaju veliki broj metoda kojim se ispituje funkcionalnost celularnog i humoralnog imuniteta. U širem smislu u imunometrijske metode spadaju sve metode u kojima se koriste antitela da bi se odredio neki antigen. Antigen može biti bilo koja materija proteinskog ili drugog sadržaja za koje postoji antitelo.

Reakcije antigen-antitelo u kojima je imuni kompleks odmah vidljiv su reakcije **aglutinacije i precipitacije**. U osnovi su ove dve reakcije vrlo slične. Od prirode antigena zavisi koja će od ove dve reakcije nastati. Ukoliko su Ag molekularno dispergovani dolazi do precipitacija, a ako se Ag nalaze na površini čestice ili ćelije dolazi do aglutinacija. Za formiranje vidljivog precipitacionog kompleksa potreban je optimalni odnos antigena i antitela (efekat prozone). Aglutinacija može biti aktivna i pasivna (indirektna). Indirektna aglutinacija je najčešća u patofiziološkim merenjima i ispoljava se kao hemaglutinacija, inhibicija hemaglutinacije i lateks aglutinacija. U suštini se čestice antigena najpre lepe na čestice lateksa ili eritrocita, zatim se izlažu antitelima radi bolje vidljivosti spojenih čestica antigena i antitela. Lateks aglutinacija daje reakciju vidljivu golim okom. Ukoliko su antigen-antitelo čestice jako male i nevidljive golim okom koristi se metoda **nefelometrije**, kojom se meri intenzitet svetlosti koja je odbijena od čestica antigen-antitelo kompleksa, pa se rezultati očitavaju kao pri fotometriji.

Modifikacija precipitacionih reakcija je **precipitacija u gelu** (agar-gel imunodifuzija, radioimundifuzija). Gel je najčešće izliven u Petrijeve šolje u kojima se prave bazenčići gde se stavlja rastvor antitela odnosno antigena. Između bazenčića dolazi do transporta tečnosti, zbog kapilarnosti gela i na mestu susreta antigen i antitelo dolazi do stvaranja kompleksa koji je vidljiv u obliku linije precipitacije. Kod radioimundifuzije u gelu se nalazi antitelo, a u seriji bazenčića se dodaje serum sa opadajućom koncentracijom antigena. Antigeni difunduju u gel i povećanjem njihove koncentracije javlja se i veći krug precipitacije oko bazenčića. Dakle, ova metoda može biti i kvalitativna i kvantitativna.

Veoma česte metode u patofiziološkim merenjima su imunometrijske metode sa obeležavanjem imunokompleksa i to: ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay), RIA (radioimunološka metoda) i IRMA (imunoradiometrijska metoda).

ELISA metoda je poznata poslednjih pola veka. Koristi se za dokazivanje antigena ili antitela. Imuni kompleksi su obeleženi bojom, a u zavisnosti od tipa ELISA-e prisustvo ili odsustvo boje ukazuje na pozitivnu reakciju. Razlikujemo ELISA metode za dokazivanje antigena (direktna-sandvič metoda, kompetitivna-blokirajuća metoda i inhibiciona metoda) i antitela (direktna i indirektna metoda). Za izvođenje ELISA-e potrebno je: čvrsta površina (mikrotitar ploča sa 8x12 polja obloženih antigenom ili antitelom u zavisnosti od vrste ELISA-e), Ag ili At koji se određuju, pozitivne i negativne kontrole, konjugat (Ag ili At sa vezanim enzimom), supstrat (oboji se kada dođe u kontakt sa enzimom), tečnost za pranje, stop rastvor koji zaustavlja reakciju (jaka kiselina ili baza), čitač rezultata (poseban fotometar za očitavanje bojenih reakcija u mikrotitar ploči). Nakon inkubacije dolazi do antigen-antitelo reakcija u mikrotitarskoj ploči a zatim se vrši ispiranje i dodaje enzimom obeleženo antitelo/antigen uz ponovno inkubiranje. Posle inkubacije se dodaje supstrat, koji sa enzimom daje bojenu reakciju. Nakon ponovnog inkubiranja dodaje se stop rastvor i očitava reakcija.

RIA metoda se koristi za radioaktivno obeležene hormone. U epruvetu se doda radioaktivno obeležen hormon (koji želimo da merimo) i ista količina specifičnog antitela za taj hormon, a zatim se doda hormon iz ispitivanog seruma. Tada dolazi do vezivanja hormona koji je obeležen i hormona iz seruma sa antitelom. Po završenoj reakciji višak hormona se dekantira i

meri se radioaktivnost vezanog hormona. Rezultati pokazuju da veća koncentracija hormona u serumu daje manju radioaktivnost og zbog pomenutog jačeg vezivanja hormona iz uzorka krvi.

IRMA je metoda u kojoj je radioaktivnim izotopom obeleženo antitelo. Zidovi epruvete su obeleženi antitelima za hormon, pa se hormon iz seruma lako vezuje za ova antitela. Posle njihove inkubacije dodaje se antitelo koje je radioaktivno obeleženo i inkubira se da bi se vezalo sa hormonom. Višak antitela se odlije te se meri se radioaktivnost uzorka. Radioaktivnost je u direktnoj proporciji sa koncentracijom hormona u serumu.

Za ispitivanje **celularne imunosti** koriste se: test aktivacije limfocita, ispitivanje antigena limfocita protočnom citometrijom, ispitivanje aktivnosti NK ćelija, funkcionalna ispitivanja neutrofila (ispitivanje motiliteta, prepoznavanje, ingestije i sposobnosti intracelularnog uništenja nokse), ELISPOT (Enzyme-linked immunosorbent spot) analize za određivanje produkcije citokina i analize za ispitivanje komplementa. Navedene metode su primarno imunološke metode i posebno će biti obrađene u okviru vežbi iz Patološke fiziologije.

Citološke metode se koriste za određivanje karakteristika oblika i granuliranosti ćelije. U patologiji je klasična metoda mikroskopska analiza tkiva. Automatizacijom procesa razvijaju se metode **protočne citometrije** za ispitivanje karakteristika ćelije. Protočni citometar je automatski aparat koji ispitivane ćelije (najčešće krvi) obrađuje i pomoću vrlo jakih pumpi potiskuje kroz vrlo uske providne cevčice kroz koje ćelije protiču pojedinačno. Na određenom mestu kroz cevčicu se propušta uzan snop laserske svetlosti, koje ćelija apsorbuje, odbija i raspršuje. Odbijena svetlost se pomoću različitih ogledala sabira na senzore, koji mere veličinu i granuliranost ćelije, nakon toga se softverski obrađuje i predstavlja statističkim poligonom, histogramom ili trodimenzionalnom slikom. Protočna citometrija je vrlo značajna metoda, naročito ako se kombinuje sa metodama monoklonskih antitela ili biohemijskim metodama. Na taj način se mogu jasno videti broj ćelija koje su antigenske izmenjene i kombinacije antigenskih izmena, što je posebno značajno u dijagnostici leukemija (primena antitela na CD antigene i sl.).

Citološke metode su i brojne metode imunocitohemije, pomoću kojih se ispituje prisustvo pojedinih enzima i njihova aktivnost u ćeliji ili se vrši vazualizacija različitih patoloških materija u ćeliji i dr.

Elektrokardiografija (**EKG**) je metoda registrovanja bioelektričnih potencijala koje stvara srčani mišić tokom depolarizacije i repolarizacije, a ti potencijali (bioelektrične struje) se šire na periferiju tela, gde se registruju.

Elektroencefalografija (**EEG**) je metoda merenja sumarnih bioelektričnih potencijala neurona CNS-a. Oni se registruju na površini lobanje, posle uvećanja i grafičkog predstavljanja. Osnovni grafički elemenat je talas, koji se javlja u određenom ritmu. Postoji nekoliko vrsta ritmova u zavisnosti od toga da li su oči zatvorene i postojanja uobičajene ili povišene pažnje. Pojava šiljaka i oštih talasa ukazuju na patološke nalaze. EEG se može kombinovati sa svetlosnom stimulacijom, hiperventilacijom i dr.

Elektromiografija (**EMG**) je metoda koja ispituje električne aktivnosti nastale u mišićima u uslovima mišićnog rada. Tehnika merenja se obavlja zabadanjem iglenih elektroda u određene tačke mišića i beleženjem aktivnosti mišića. Ovaj pregled se vrši u uslovima kada se sumnja na kompresiju nerava korisno je uraditi ovaj pregled. Ispitivanje sprovodljivosti nerava vrši se

draženjem perifernog nerva i registrovanjem na mišiću koji taj nerv inerviše. Ispitivanje sprovodljivosti senzitivnog nerva izvodi se draženjem mešovitog nerva i registrovanjem sa kožnog nerva. Draženje motornog nerva se postiže draženjem sa površine kože.

U patofiziološkim merenjima se koristi i čitav niz drugih metoda kao što su ultrazvučna merenja, različite vrste mikroskopiranja ili druge metode, ali zbog svoje specifičnosti one će biti pominjane u okviru racionalne dijagnostike poremećaja funkcije svakog pojedinačnog sistema.

U patofiziološkim merenjima postoji razvijen veliki broj metoda za trenutno merenje bez posebne instrumentacije u vidu test trakica, brzi membranski testovi i sl., koji daju orientacione ali korisne rezultate za klinički rad. Tako su poznate test trakice za analizu urina, na kojima se nalaze polja sa reagensima koji sa određenim materijama u mokraći (glukoza, ketoni, bilirubin i dr) menjaju boju. Upoređivanjem intenziteta boje sa ključem određenim od strane proizvođača trakica donosimo zaključak o koncentraciji pojedinih materija u mokraći. U novije vreme postoje kolorimetri koji analiziraju ove test trakice, te je na ovaj način mogućnost greške svedena na minimum. Pri izvođenju ovog testa veoma je bitno da se radi sa svežim uzorcima i da se brzo očita reakcija.

Na kraju, treba ponoviti neke osnovne pojmove iz hemije. **Koncentracija rastvora** je odnos mase ili zapremine rastvorene materije i rastvarača. Osnovna jedinica za merenje količine materije je **mol** i sadrži $6,02 \times 10^{23}$ čestica (Avogadrov broj), a preračunavanje mola u grame se vrši množenjem relativne mase čestice (atomske ili molske) sa brojem molova. **Molaritet** (molarna koncentracija) rastvora je broj molova rastvorene supstance u litri rastvora (označava se sa M). **Procentna koncentracija** se koristi za izražavanje koncentracije materija sa nepoznatom molekulskom masom, pri čemu se koriste sledeće relacije: zapremina u zapremini, masa u zapremini i masa u masi. **Standardni rastvor** predstavlja rastvor poznate koncentracije i upotrebljava se pri merenjima kao referentna vrednost. **Pravljenje razblaženja** u određenom odnosu, npr. 1:100 je upotrebu jednog dela rastvora da bi se dobilo 100 delova konačnog razblaženja. Često se koriste sukcesivna razblaženja u sledećim koracima: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16... ili 1:10, 1:100, 1:1000 itd.

Dijagnostički paneli u svakodnevnom radu

Na osnovu detaljnog kliničkog pregleda i uvida u anamnestičke podatke u svakodnevnom radu veterinar kliničar najčešće prepoznaće simptome i sindrome bolesti i donosi radnu dijagnozu koju treba potvrditi. Pošto je klinička patologija složena i pošto se simptomi mogu pripisati različitim bolestima a etiopatogenski različite bolesti mogu dati sličnu kliničku sliku neophodno je odrediti koji je organ ili sistem organa primarno zahvaćen patološkim procesom. U situacijama u kojima pouzdano ne možemo vrstu bolesti i kada treba preventivno ispitati zdravstveno stanje životinje šalje se zahtev u laboratoriju da ispitaju metabolički-dijagnostički panel koji odgovara određenom organu/sistemu. Ovi paneli i programi, u kojima se određuje više parametara istovremeno pokazuju funkcionalni status organa i nazivaju se skrining programi. U tabelama koje slede su prikazane analize koje se najčešće određuju prilikom određivanja funkcionalnog

statusa pojedinih sistema i organa. Pored naziva panela i opisa šta sadrži opisano je i na koji način se vrši uzimanje odnosno transport uzorka do laboratorije.

HEMATOLOGIJA

Pregled	Uzorak
Kompletna krvna slika sa leukocitarnom formulom	Ljubičasti čep
Sedimentacija 1h,2h,24h	Ljubičasti čep
Retikulociti	Ljubičasti čep
Fibrinogen	Plavi čep
PT	Plavi čep
aPTT	Plavi čep
Pregled krvnog razmaza	Ljubičasti čep
Dodatna analiza histograma ćelija na hematološkom nalazu	/
Određivanje kompatibilnosti donora i primaoca u transfuziologiji	Serum od donora i primaoca (2xcrveni/žuti čep)+ Puna krv od donora i primaoca (2xljubičasti čep)
Test osmotske i mehaničke otpornosti eritrocita	Ljubičasti čep

ANALIZA URINA

Pregled	Uzorak
Kvalitativni pregled 11 parametara sa pregledom sedimenta	Bočica za urin
Frakcionala ekskrecija Ca, P, uree i kreatinina	Bočica za urin Crveni i žuti čep krv
Ukupni proteini:urea odnos u urinu	Bočica za urin
GGT:kreatinin odnos u urinu	Bočica za urin
Glukoza u urinu	Bočica za urin
Bilirubin u urinu	Bočica za urin

CITOLOGIJA

Pregled	Uzorak
Pregled punktata trbušne duplje	Ljubičasti čep
Pregled punktata grudne duplje	Ljubičasti čep
Pregled punktata zglobova	Ljubičasti čep
Ispitivanje karakteristika eksudata	Ljubičasti čep
Citologija uterusa	Mikroskopska pločica
Citologija vimena	Uzorak mleka
Biohemski parametri u punktatu	

ENDOKRINOLOGIJA

Pregled	Uzorak
---------	--------

Kortizol	Crveni/žuti čep
Insulin	Crveni/žuti čep na ledu
Progesteron	Crveni/žuti čep
T4	Crveni/žuti čep
Test opterećenja glukozom Insulin x3 + glukoza x3	Crveni/žuti čep na ledu x 3
Test stimulacije nadbubrega Kortizol x3	Crveni/žuti čep x 3
Indeksi insulinske rezistencije psa (G:I, HOMA, QUICKI, RQUICKI)	Crveni/žuti čep na ledu
Progesteron + vaginalni bris za pripustkuje	Crveni/žuti čep+pločica razmaz

PROFILI

Profil	Pregledi u profilu	Uzorak
Opšti profil	Ukupni proteini, albumini, globulini, ukupni bilirubin, AST, ALT, ALP, glukoza, Ca, P, Mg, urea, kreatinin, holesterol, trigliceridi, alfa amilaza+KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep
Pre/postoperativni profil	Ukupni proteini, urea, kreatinin, ukupni bilirubin, ALT, PT, aPTT, Fibrinogen+KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep+ plavi čep
Bubrežni profil	Kvalitativni pregled urina, urea, kreatinin, ukupni proteini, glukoza, Ca, P+KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep+ Boćica za urin
Kardio profil	Kreatinin, kreatin kinaza, LDH, AST, Ca, Na, K, Cl +KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep
Profil jetre	Ukupni proteini, albumin, globulin, ALT, AST, GGT, ALP, direktni bilirubin, ukupni bilirubin, holesterol, trigliceridi+KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep
Anemija / hemoliza profil	Direktni bilirubin, ukupni bilirubin, LDH+KKS+krvni razmaz+analiza histograma	Žuti/crveni + ljubičasti čep
Kompletan hematološki profil	Svi parametri iz hematologije	Ljubičasti+plavi čep
Energetski bilans profil	Ukupni proteini, albumini, urea, glukoza, holesterol, holesterol LDL, holesterol HDL, trigliceridi+KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep
Metabolički profil prezivara	Ukupni proteini, albumini, globulini, urea, glukoza, holesterol, trigliceridi, NEFA, BHB, Ca, P, ukupni bilirubin, AST, GGT+KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep
Puerperalna pareza / mišićni profil	Ca, P, Mg, LDH, AST, CK, alkalna fosfataza, ukupni proteini, glukoza + KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep
Pankreasni profil	Glukoza, amilaza, lipaza+KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep
Polidipsija/ dehidracija profil	Urea, kreatinin, albumin, glukoza, ALT, ALP, Na, K, Cl+KKS	Žuti/crveni + ljubičasti čep

Principi tumačenja laboratorijskih rezultata

Nakon izvršenih laboratorijskih analiza uvek sledi tumačenje rezultata. Poznavanjem osnovnih i normalnih vrednosti prvo treba uočiti da li se radi o normalnom ili patološkom nalazu. Postoje tablice normalnih vrednosti za sve laboratorijske analize, koje predstavljaju granice normalnih vrednosti od najniže do najviše. Razlikujemo: **referentne vrednosti**, **normalne vrednosti** (referentna+lažno pozitivna i lažno negativna), **lažno pozitivne vrednosti** (test pozitivan, bolest ne postoji), **lažno negativne vrednosti** (test negativan, bolest postoji) i **patološke vrednosti**. Ove vrednosti dobijene su shodno njihovog rasporeda ispod krive normalne distribucije.

U zavisnosti od navedenih kategorizacijama rezultata svaki test pokazuje određenu osetljivost-senzitivnost (pozitivni/(pozitivni+lažno negativni)), specifičnost (negativni/(negativni+lažno pozitivni)) i tačnost ((pozitivni+negativni)/(pozitivni+lažno pozitivni+negativni+lažno negativni)).

Ovakav način tumačenja pojedinih kategorija rezultata je dobijen usavršavanjem testova kroz duži vremenski period, da bi oni sa vrlo visokim performansama do svake laboratorije gde se primenjuju.

Klinički, faktori koji utiču na prosuđivanje rezultata mogu se podeliti na: faktore po vremenu dejstva i faktore po svojoj prirodi. Faktori po vremenu dejstva su:

preanalitički (rasa, pol, starost, ciklične promene u organizmu, ciklične promene sredine),

analitički (poreklom od bolesnika, poreklom od primenjene terapije, nastale zbog greški u radu),

postanalitički (upisivanje laboratorijskih rezultata i laboratorijski informacioni sistemi). Faktori po svojoj prirodi mogu biti: **fiziološki** (gladovanje, stres, diurnalni ritam i drugo) i **metodološki** (uzimanje izoraka krvi, vrsta antikoagulansa, epruvete, način čuvanja i transporta uzorka). Navedeni faktori će posebno biti opisani u daljem tekstu ovog Praktikuma i na praktičnoj nastavi. Posebno treba istaći značaj prvobitnog uzorka krvi koji ne sme biti hemoliziran i lipemičan, jer se iz takvog uzorka ne mogu dobiti adekvatni rezultati.

Po preporuci *Internacionalne federacije kliničkih hemičara* svaka laboratorija treba da odredi svoje referentne vrednosti, a ona se može dobiti na osnovu 120 uzoraka zdravih jedinki. Analizu rezultata trebala bi da se vrši u svetlu izvedenog kliničkog pregleda i primenjenih terapijskih postupaka, tačnije bez saznanja o kliničkoj slici i primenjenoj terapiji ne može se vršiti tačno tumačenje nalaza.

Skraćenice, referentne vrednosti i merne jedinice u laboratorijskom radu

Skraćenice se koriste zbog dugih naziva pojedinih analiza u komunikaciji između veterinara kliničara i laboratorije. Za nesmetani rad svake laboratorije i veterinara kliničara neophodno je poznавање најчешћих skraćenica. Potreba za poznавањем најчешћих skraćenica važna je i prilikom nabavke materijala za laboratorijski rad i čitanja štampanog rezultata koji dolazi iz softvera analajzera koji se koristi u laboratoiji. Skraćenice koje se најчешће koriste u laboratorijskom radu:

A/G – odnos albumina i globulina	LDH – laktat-dehidrogenaza
ALB – albumini	LIPA – lipaza
ALKP ili AP – alkalna fosfataza	Lym – limfociti
ALT – alanin-aminotransferaza	MCV – srednja vrednost zapremine eritrocita
AMYL – amilaza	MCH – srednji sadržaj hemoglobina u jednom eritrocitu
AST – aspartat-aminotransferaza	MCHC – srednja koncentracija hemoglobina u eritrocitu
Basoph – bazofili	Mon – monociti
BUN – urea azot	Mg – magnezijum
Ca – kalcijum	Na – natrijum
CHOL – holesterol	PHOS – fofati
CK – kreatin kinaza	PLT – trombociti
Cl – hloridi	POD – peroksidaza
CO ₂ – ugljen-dioksid	pO ₂ , pCO ₂ – parcijalni pritisak kiseonika, p.p. ugljendioksida
CREA – kreatinin	RBC – eritrociti
CSF – cerebrospinalna tečnost	RDW – koef.varijacije volumena eritrocita dobijen kalkulacijom iz MCV histograma
EDTA – etilendiaminotetraacetat	SDH – sorbitol dehidrogenaza
Eosinoph – eozinofili	TAG – triacilglicerol
G:E – odnos granulocitne i eritrocitne loze	TP – ukupni proteini
G6P-DH – glukozo-6-fosfat dehidrogenaza	UIBC, TIBC – slobodni transferin, ukupni transferin
GGT – gama-glutamil-transferaza	URIC – mokraćna kiselina
GK – gliceol kinaza	WBC – leukociti
GLDH – glutamat-dehidrogenaza	FSH, LH, T3, T4, CORT – ovo su skraćenice poznate iz fiziologije.
GLOB – globulini	
GLU – glukoza	
GOD – glukoza oksidaza	
HCT – hematokrit	
HGB – hemoglobin	
Ig A,E,M,G – imunoglobulin A,E,M,G	
K – kalijum	

U tabeli 2 navedene su referentne vrednosti najčešćih laboratorijskih parametara kod različitih vrsta životinja. U tabeli 3 navedeni su osnovni parametri, njihove konvencionalne jedinice i faktori kojima se vrši konverzija u SI jedinice, odnosno masa zapremina i količina supstance. Pored navedenih konverzija treba istaći da se za aktivnost enzima koristi i posebna međunarodna jedinica IU/l.

Tabela 2: Referentne vrednosti najčešćih laboratorijskih parametara

Merne jedinice i faktori						
Parametar		konvencionalne jedinice		Faktor	SI jedinice	
Kalcijum	mg/dl			0,2495	mmol/l	
Hlorid	mg/dl			0,2821	mmol/l	
Gvoždje	µg/dl			0,1791	µmol/l	
Kalijum	mg/dl			0,2557	mmol/l	
Bakar	µg/dl			0,1574	µmol/l	
Magnezijum	mg/dl			0,4113	mmol/l	
Natrijum	mg/dl			0,4350	mmol/l	
Fosfor	mg/dl			0,3229	mmol/l	
Zink	mg/dl			15,30	µmol/l	
Selen	µg/dl			0,0127	µmol/l	
<i>Substrati</i>						
Bilirubin	mg/dl			17,10	µmol/l	
Holesterol	mg/dl			0,0259	mmol/l	
Ukupni proteini	g/dl			10,0	g/l	
Glukoza	mg/dl			0,0555	mmol/l	
Urea	mg/dl			0,1665	mmol/l	
Kreatinin	mg/dl			88,402	µmol/l	
Laktat	mg/dl			0,1110	mmol/l	
Trigliceridi	mg/dl			0,0114	mmol/l	
<i>Hormoni</i>						
Kortizol	µg/dl			0,0276	mg/l	
T ₃	ng/dl			1,54	nmol/l	
T ₄	µg/dl			12,87	nmol/l	
Progesteron	ng/dl			3,18	nmol/l	
Testosteron	ng/dl			3,467	nmol/l	
<i>Masa</i>						
<i>Zapremina</i>						
Kg	kilogram (10 ³ g)	l	litar	mol	Mol	
g	gram	ml	millilitar(10 ⁻³ l)	mmol	milimol(10 ⁻³ mol)	
mg	miligram (10 ⁻³ g)	µl	mikrolitar(10 ⁻⁶ l)	µmol	mikromol(10 ⁻⁶ mol)	
µg	milikrogram (10 ⁻⁶ g)	nl	nanolitar(10 ⁻⁹ l)	nmol	nanomol(10 ⁻⁹ mol)	
ng	nanogram (10 ⁻⁹)	pl	pikolitar(10 ⁻¹² l)	pmol	pikomol(10 ⁻¹² mol)	
pg	pikogram (10 ⁻¹²)	f	femtolitar(10 ⁻¹⁵ l)	fmol	femtomol(10 ⁻¹⁵ mol)	
fg	femtogram (10 ⁻¹⁸)					

IU/l = međunarodna jedinica za aktivnost enzima

Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Nabroj osnovne oblasti laboratorijskog dijagnostičkog rada

Zadatak 2: Nacrtaj dijagram dijagostičkog toka sa naznačenim mestom dopunskih dijagnostičkih metoda

Zadatak 3: Obeleži delove sistema vakutajnera i opiši način njihove primene

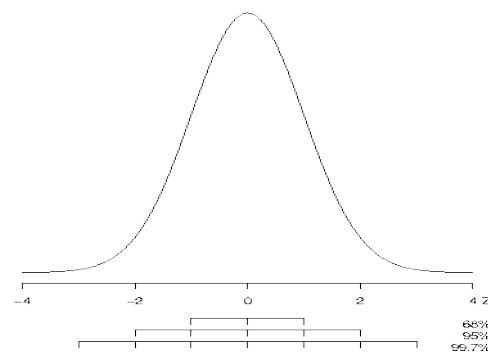


Zadatak 4: Vakutajneri se međusobno razlikuju po boji odnosno sadržaju, te dodaj u prazno polje tipu sadržaja

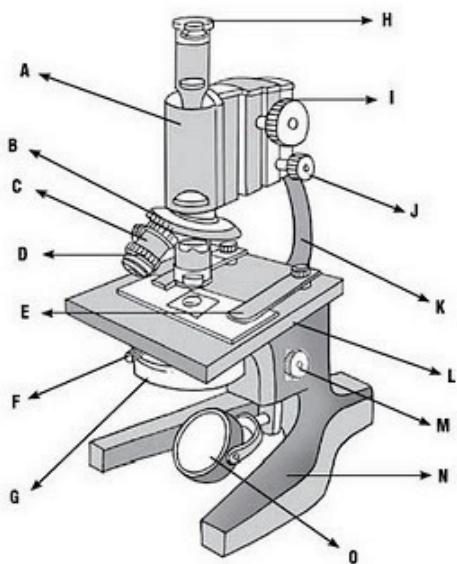
Boja	Antikoagulans	Boja	Antikoagulans
Žuta		Zelena	
Crvena		Svetloplava	
Ljubičasta		Crna	

Zadatak 5: Napiši formulu za osetljivost, specifičnost i tačnost laboratorijskih testova

Zadatak 6: Ako navedena kriva raspodele predstavlja normalne vrednosti određenog laboratorijskog parametra, ucrtaj krivu patoloških, lažno pozitivnih i lažno negativnih vrednosti istog laboratorijskog parametra



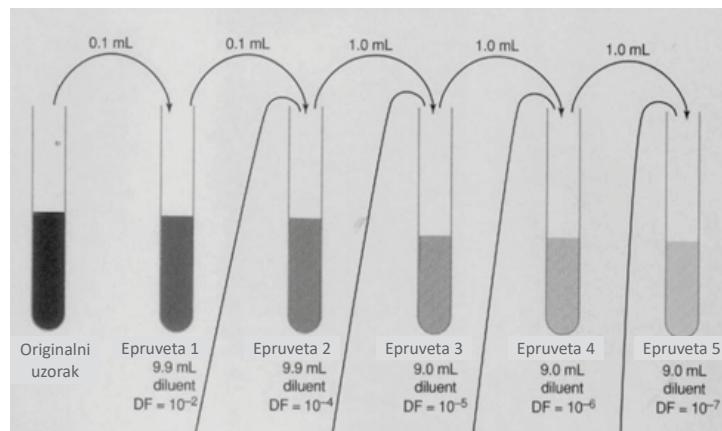
Zadatak 7: Pored slova napiši naziv označenog dela mikroskopa



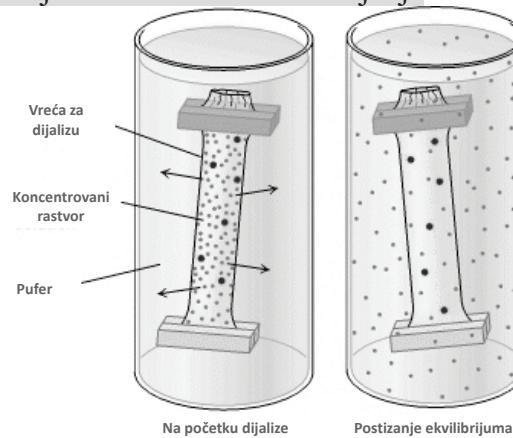
Zadatak 8: Upiši osnovne delove mikropipete



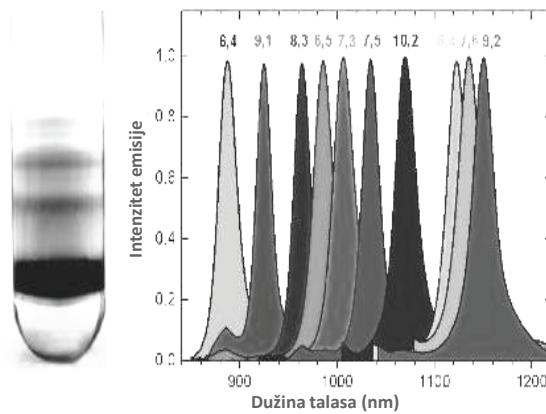
Zadatak 9: Objasni kako se pravi razređenje u seriji rastvora



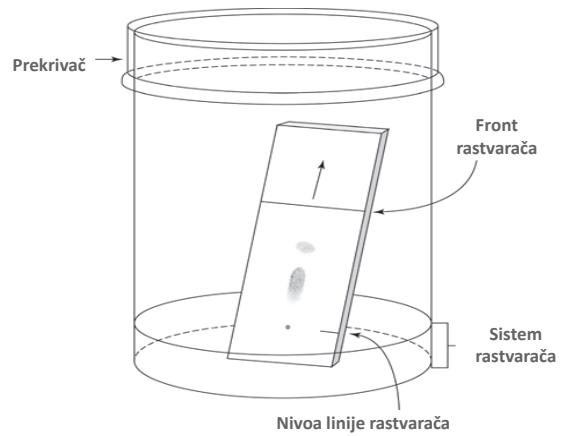
Zadatak 10: Objasni principi dijalize kao metode razdvajanja



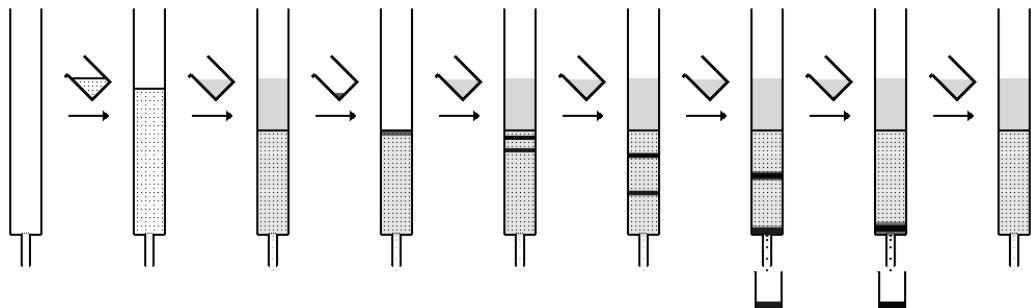
Zadatak 11: Objasniti značaj razdvajanja centrifugom na osnovu date slike



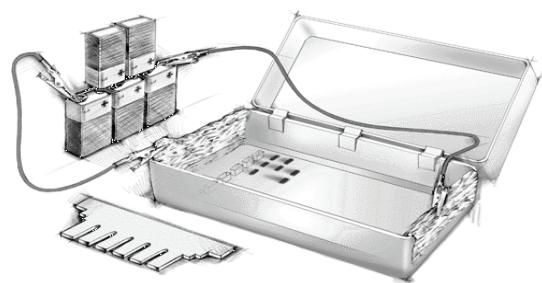
Zadatak 12: Opisati potrebni materijal i rezultate hromatografije na tankom sloju



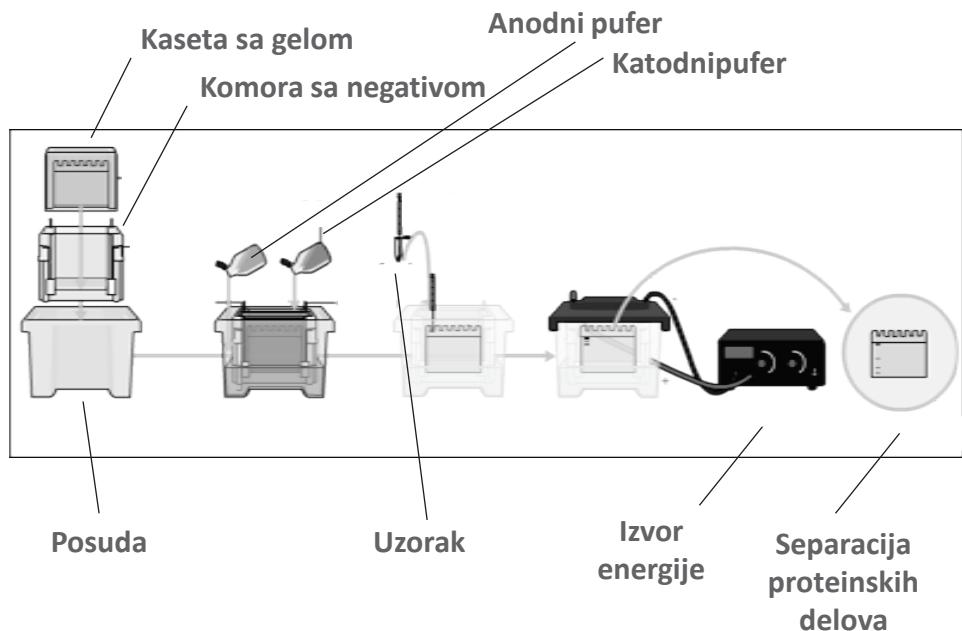
Zadatak 13: Opisati principe hromatografije u stubu



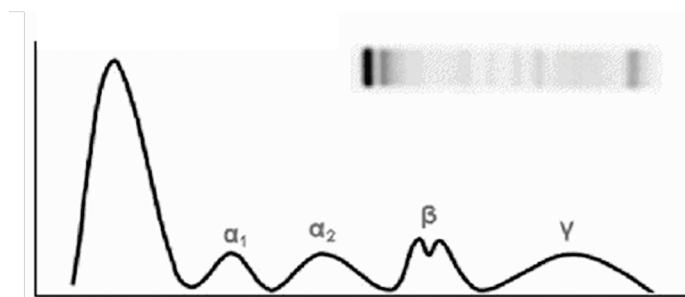
Zadatak 14: Obeleži delove aparata za elektroforezu na papiru



Zadatak 15: Objasni principe SDS-PAGE (PolyAcrylamide Gel) elektroforeze

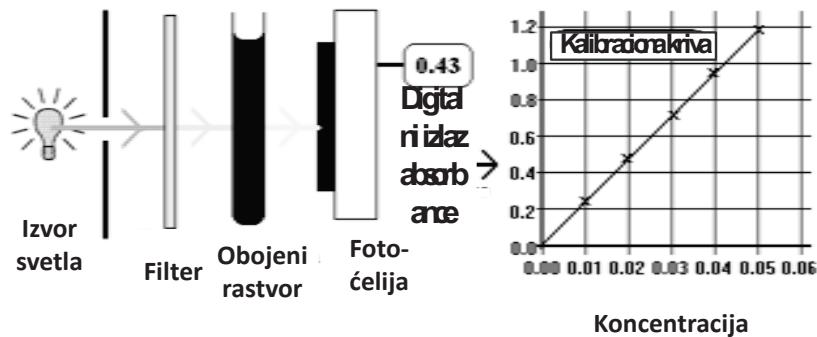


Zadatak 16: Na osnovu elektroforegrama i rezultata elektroforeze odredi zakonitost u kretanju serumskih proteinâ u električnom polju, njihovu zastupljenost i relativni odnos?

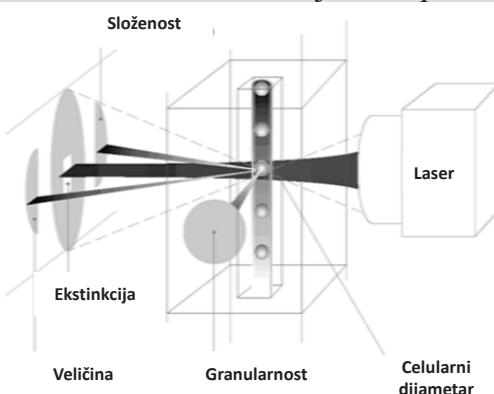


Zadatak 17: Šta je PCR (Polymerase Chain Reaction) metoda i čemu služi?

Zadatak 18: Na osnovu prikazane slike objasni principe kolorimetrijskih metoda merenja u patološkoj fiziologiji



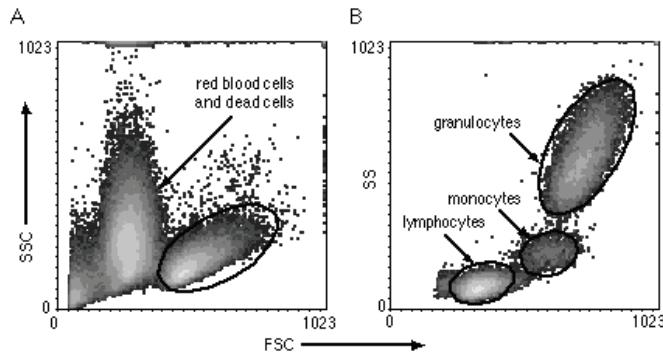
Zadatak 19: Objasniti princip rada hematoloških analajzera i opisati obeležene elemente na slici



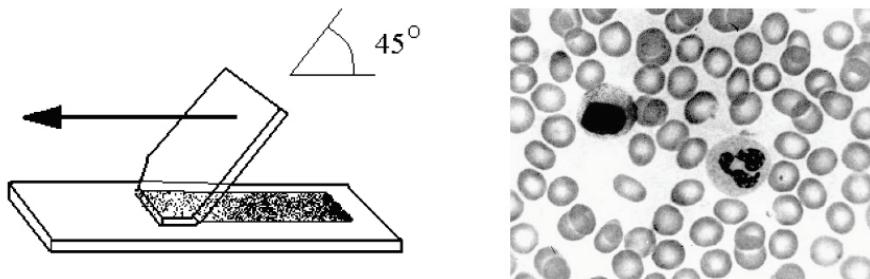
Zadatak 20: Obeležiti delove potenciometra, objasniti potenciometrijsku metodu, princip rada i primenu ove metode.



Zadatak 21: Objasniti princip formiranja vizuelnog rezultata u primeni protočne citometrije.



Zadatak 22: Na slici je prikazano pravljenje krvnog razmaza na pločici. Navedite da li je ovaj krvni razmaz pravilno napravljen na prikazanoj slici?



Zadatak 23: Pored naziva profila dopiši parametre koji ga određuju pri njegovoj proceni

Organ	Parametri
Anemije	
Leukopoeza	
Hemostaza	
Mišićni profil	
Tireoidni profil	
Adrenalni profil	
Hepatični profil	
Pankreasni profil	
Profil elektrolita i vode	
Renalni profil	
Energetski bilans kod preživara	

Zadatak 24: Pored navedenih parametra upisati najčešću laboratorijsku metodu koja se koristi za njegovo određivanje

Parametar	Laboratorijska metoda
Glukoza	
Proteini	
Na/K/Cl	
pO ₂ /pCO ₂	
Hemoglobin	
Urea	
Kreatinin	
Amonijak	
AST/ALT	
HCl želuca	
NEFA	
BHB	
Hormoni	

Zadatak 25: Postupci za uzimanje materijala u patološkoj fiziologiji

Zadatak 26: Faktori koji utiči na rezultate laboratorijskih analiza, vanlaboratorijski razlozi za dobijanje pogrešnog uzorka krvi, tumačenja u patofiziološkim merenjima

Zadatak 27: Hromatografija

Zadatak 28: Elektroforeza

Zadatak 29: Metode merenja u patološkoj fiziologiji

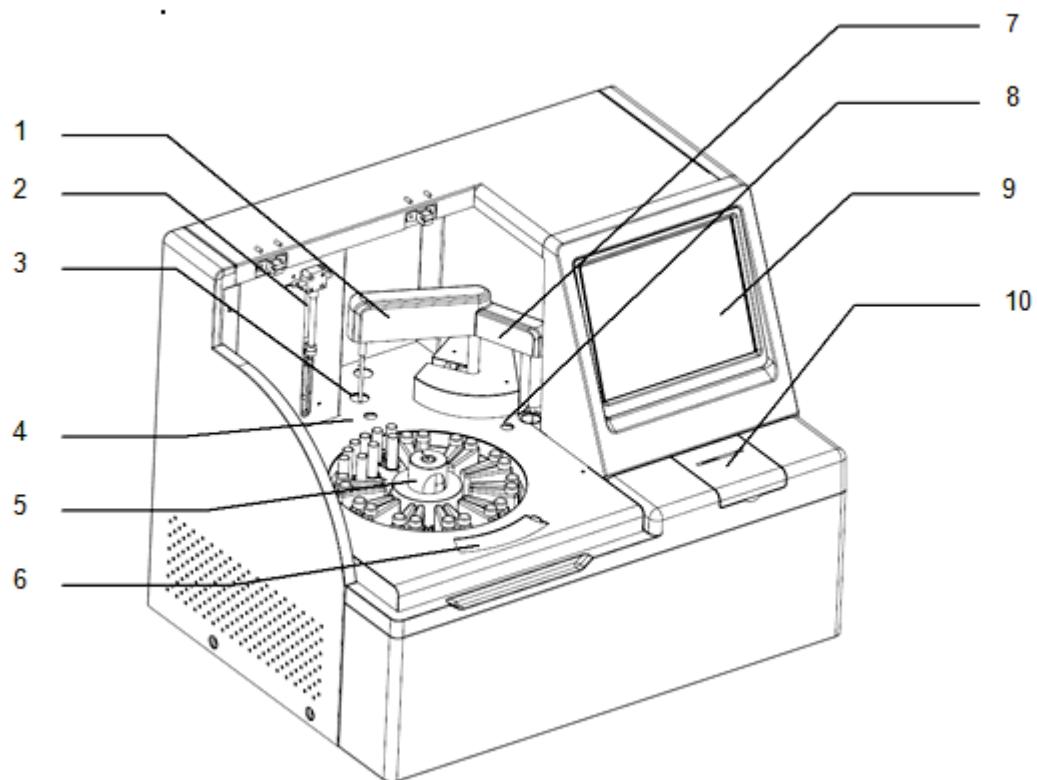
Zadatak 30: Dobijanje krvi, komponente krvi, bojenje preparata krvi, mikroskopiranje i nalaz

Zadatak 31: Skrining programi u patološkoj fiziologiji

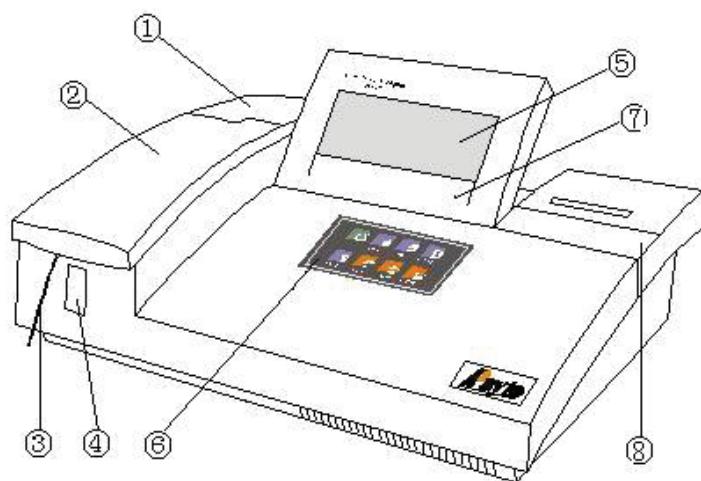
Zadatak 32: Na osnovu vrednosti ekstinkcije i koncentracije serumskih albumina nacrtaj standardnu krivu i protumači načina razblaženja seruma.

Fiziološki rastvor (ml)	Zapremina albumina (ml)	Konc.albumina (mg/ml)	Ekstinkcija
1,9	0,1	0,5	0,025
1,8	0,2	1,0	0,045
1,7	0,3	1,5	0,065
1,6	0,4	2,0	0,080
1,5	0,5	2,5	0,105
1,4	0,6	3,0	0,120
1,3	0,7	3,5	0,145
1,2	0,8	4,0	0,155
1,1	0,9	4,5	0,175
1,0	1,0	5,0	0,200

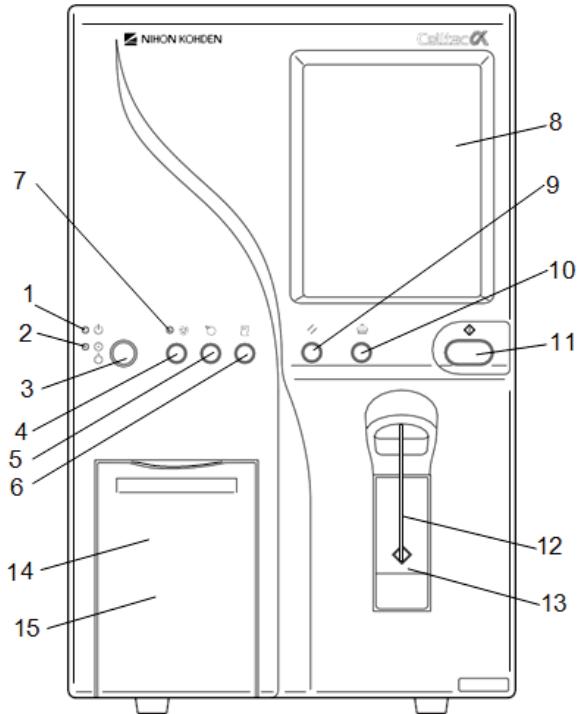
Zadatak 33: Imenuj i opiši osnovne delove i način rada automatskog biohemijskog analizatora u Laboratoriji za patološku fiziologiju



Zadatak 34: Imenuj i opiši osnovne delove i način rada poluautomatskog biohemijskog analizatora u Laboratoriji za patološku fiziologiju



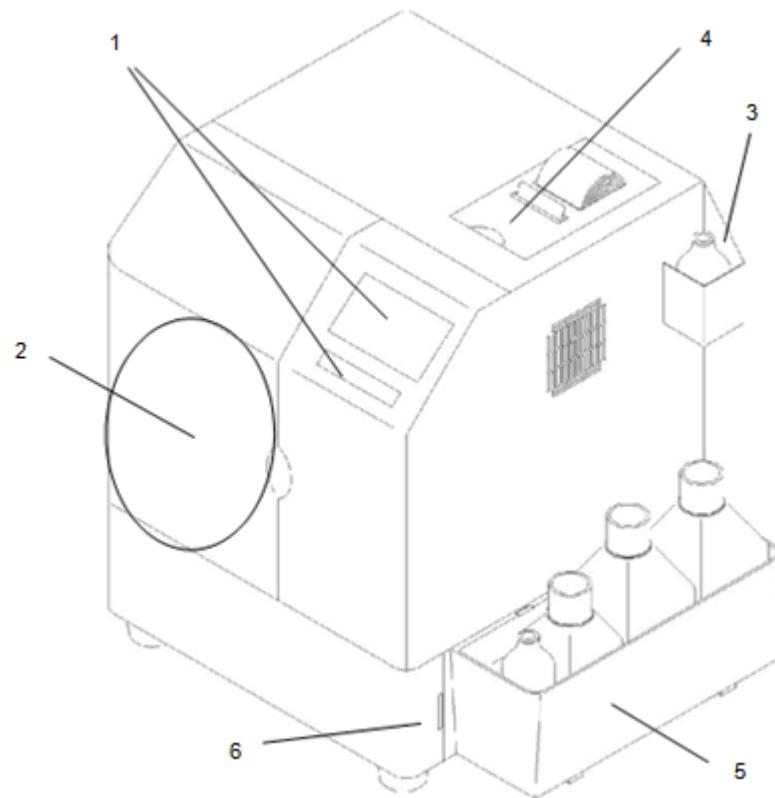
Zadatak 35: Imenuj i opiši osnovne delove i način rada hematološkog analizatora u Laboratoriji za patološku fiziologiju



Zadatak 36: Imenuj i opši osnovne delove i način rada analizatora za urin u Laboratoriji za patološku fiziologiju



Zadatak 37: Imenuj i opši osnovne delove i način rada endokrinološkog analizatora u Laboratoriji za patološku fiziologiju



Zadatak 38: Imenuj i opši osnovne delove i način rada poluautomatskog aparata za hemostazu u Laboratoriji za patološku fiziologiju



Zadatak 39: Imenuj i opši osnovne delove i način rada centrifuge u Laboratoriji za patološku fiziologiju



Pitanja za usmenu proveru

1. Definicija i značaj patološke fiziologije
2. Definicija zdravlja, bolesti i etioloških faktora
3. Tok i ishod bolesti
4. Uzorci u proceni funkcionalnog stanja organizma
5. Važnije laboratorijske tehnike u patološkoj fiziologiji
6. Interpretacija rezultata u patološkoj fiziologiji

PATOFIJOLOGIJA DELOVANJA ETIOLOŠKIH FAKTORA I OPŠTEG ODGOVORA ORGANIZMA

UTICAJ STAROSTI – Krvni parametri kod starijih pasa

U današnje vreme sve je veći interes vlasnika za zdravlje i dobrobit njihovih starijih pasa. Stariji pacijenti predstavljaju oko 30-40% slučajeva u svakodnevnoj praksi, a očekuje se da će ovaj procenat još rasti u budućnosti, jer i psi žive duže. Ova starosna kategorija ima posebne potrebe i sklonija je razvoju hroničnih bolesti. Često su početni klinički znaci bolesti nejasni ili se teško prepoznaju, a ne retko i odbacuju jer se smatraju normalnim za starost. Promene u vrednostima hematoloških i biohemskihs parametara postoje kod pasa još od ranog ekstrauterinog doba, pa sve do starosti (Bourgès-Abella i sar., 2015; Brenten i sar., 2016; Barnes i sar., 2016).

Termin senior služi da opiše psa koji stari. Godine u kojima se pas smatra seniorom variraju s obzirom na to da različite rase stare drugačijim tempom (Epstein i sar., 2005; Fortney, 2012). Po nekim autorima, velike rase pasa čija je telesna masa preko 54.5 kilograma se već sa 5-6 godina smatraju seniorima, psi od 23.2-54.5 kilograma se smatraju seniorima između 6. i 7. godine, psi od 9.5-22.7 kilograma sa 7-9 godina, a mali psi od 0-9.1 kilograma se smatraju seniorima u uzrastu od 9 godina. Postoje brojne analogije sa humanim starosnim grafikonima u kojima se psi seniori i gerijatrijski psi razlikuju na osnovu godina i indeksa telesne mase životinje. Sa druge strane, neki autori navode da se pas smatra seniorom u poslednjih 25% svog života u poređenju sa predviđenim životnim vekom za tu konkretnu rasu, a gerijatrijskim jedinkama se smatraju u poslednjih 10% svog predviđenog životnog veka. Same promene u telesnoj kondiciji ili funkcionalnom status jetre, bubrega i kostiju, što prirodno prati process starenja životinja značajno utiče na vrednost hematoloških i biohemskihs parametara u krvi (Elhiblu i sar., 2015 ; Hall i sar., 2015 ; Piandetosi i sar., 2016 ; Kumar i sar., 2018).

MATERIJAL I METODE: U ovom istraživanju učestvovalo je 50 vlasničkih pasa starosti od 7 do 16 godina. 10 pasa je bilo dovedeno u veterinarsku ambulantu bez ikakvih simptoma bolesti, radi preventivne kontrole krvne slike i biohemije, a 40 pasa je imalo neke simptome poremećaja ali su oni sutanovljeni tek posle detaljnog pregleda jer su bili u procesu kompenzacije.

Svim psima je uzeta krv radi ispitivanja hematoloških i biohemskihs parametara i utvrđivanja odstupanja od referentnih vrednosti.

Uzorci krvi su kod svih pasa uzorkovani iz cefalične vene, nakon šišanja i nanošenja 70% etanola na mesto punkcije. Od svakog psa uzeto je 5ml krvi uz pomoć jednokratne igle promera 22G i šprica od 5 mililitara, preduzimajući mere da se spriči hemoliza. Dva mililitra krvi je preneto u epruvetu sa Etilen diamin tetra sirćetnom kiselinom (EDTA) za hematološka ispitivanja, a ostatak krvi je prenet u epruvetu za izolaciju seruma za potrebe biohemskihs ispitivanja. Serum je odvojen od pune krvi unutar pola sata od dobijanja uzorka, centrifugiranjem na 4500rpm tokom deset minuta. U svim slučajevima izdvojena je potrebna količina seruma za sva neophodna ispitivanja. Biohemiska analiza svih serumova završena je unutar 8 sati od uzimanja uzorka.

Statistička analiza podrazumevala je izračunavanje intervala vrednosti hematoloških i biohemskihs parametara sa 99% sigurnosti u ispitivanoj grupi životinja i njihovo poređenje sa priznatim referentnim vrednostima; poređenje između srednje vrednosti parametara kod seniora i gerijatrijskih pasa sa gornjom referentnom vrednosti hematoloških i biohemskihs parametara i ispitivanje korelacije između klinički značajnih parametara koji pokazuju visok nivo odstupanja od referentne vrednosti.

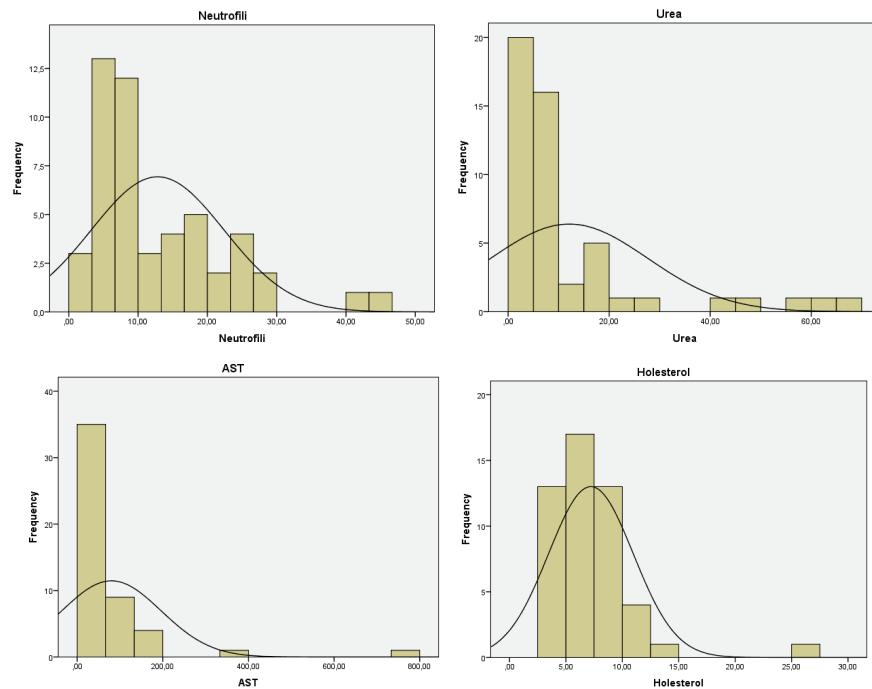
REZULTATI I DISKUSIJA: Varijabilnost parametara kao što je ukupan broj leukocita, broj neutrofila, koncentracija holesterola, fosfora, uree, kreatinina i aktivnost serumskih enzima bila je značajno viša kod starijih pasa u odnosu na varijabilnost priznatih referentnih vrednosti. Prikazaćemo rezultate kao poređenje priznatih referentnih opsega i opsega dobijenih u našem ogledu (referentni:dobijeni u ogledu) za svaki parametar posebno prikazano je u tabeli.

Procenat jedinki čije su hematološke i biohemiske vrednosti bile izvan referentnih bio je: 46% za leukocite, 48% za neutrofile, 10% za limfocite, 12% za monocyte, 6% za eozinofile, 22% za eritrocite, 28% za hemoglobin i hematokrit, 16% za MCV, 18% za MCH, 32% za MCHC, 24% za ukupne proteine, 20% za albumine, 40% za globuline, 50% za ureu, 26% za kreatinin, 44% za glukozu, 28% za ukupni bilirubin, 44% za ALT, 46% za AST i ALP, 26% za alfa amilazu, 58% za holesterol, 28% za kalcijum i 28% za fosfate. Rezultati distribucije frekvencije za parametre koji najviše odstupaju u odnosu na utvrđene referentne vrednosti, prikazane su na grafikonima, na kojima se može primetiti i pozicija i frekvencija životinja sa vrednostima izvan referentnih.

Izračunavanjem srednje vrednosti za svaki od parametara i njihovim poređenjem sa gornjom granicom priznatog referentnog intervala, utvrđeno je da se u svim grupama javlja porast određenih parametara iznad gornje granice referentnog opsega. U grupi pasa seniora, porast vrednosti iznad gornje granice referentnih vrednosti javio se kod sledećih parametara: neutrofili, bazofili, urea, kreatinin, ALT, AST, ALP, kalcijum i fosfat. Kod gerijatrijskih pacijenata se porast vrednosti javio kod leukocita, neutrofila, globulina, uree, kreatinina, AST, ALT, ALP, α -amilaze i holesterola. Ovi rezultati se poklapaju sa visokim procentom starijih pasa čije vrednosti odstupaju od priznatih referentnih vrednosti. Nema statistički značajnog odstupanja u vrednostima parametara između gerijatrijskih pasa i seniora, ali postoje određene razlike u srednjim vrednostima ispitivanih parametara kod ove dve grupe pasa.

Tabela: Referentni opsezi kod starijih pasa i standardni referentni opsezi

Hematološki parametri		Biohemski parametri krvi		
	Stariji psi u ogledu	Referentne vrednosti	Stariji psi u ogledu	Referentne vrednosti
WBC – leukociti ($\times 10^9/L$)	13-20,6	6-17	Uk.proteini (g/L)	59-67
Ne- neutrofili ($\times 10^9/L$)	9,53-16,1	3-11,8	Albumin (g/L)	26-31
Ly - limfociti ($\times 10^9/L$)	1,76-2,52	1-4,8	Globulini (g/L)	31,5-37,5
Mo- monociti ($\times 10^9/L$)	0,84-1,44	0,2-2,0	Urea (mmol/L)	6,45-17,8
EO - eozinofili ($\times 10^9/L$)	0,3-0,68	0,1-1,3	Kreatinin ($\mu\text{mol}/L$)	73-203
Ba – bazofili ($\times 10^9/L$)	0,06-0,12	0-0,5	Glukoza (mmol/L)	4-6,2
Er- eritrociti ($\times 10^{12}/L$)	6,18-7,14	5,5-8,5	Uk.bilirub. ($\mu\text{mol}/L$)	5,53-9,99
Hemoglobin (g/l)	143-165	120-180	ALT (IU/L)	23-241
Hematokrit (%)	40,9-47	37-55	AST (IU/L)	38,1-122
MCV (fL)	64-68	60-74	ALP (IU/L)	34-418
MCH (pg)	22,6-23,8	19,5-24,5	Alfa-amilaza (IU/L)	1100-1760
MCHC (g/L)	340-356	310-360	Holesterol(mmol/L)	5,85-8,55
PLT- trombociti ($\times 10^9/l$)	228-386	200-500	Kalcijum (mmol/L)	2,39-2,61
MPV (fl)			Fosfat (mmol/L)	1,34-2,58
				0,9-2



Slika. Distribucija frekvencije hematoloških i biohemskih parametara koji pokazuju veliko odstupanje od referentnih vrednosti

Korelacije između parametara koji značajno variraju kod pasa su pokazale pozitivnu korelaciju između neutrofila i ukupnog broja leukocita, porast uree i kreatinina praćen je porastom fosfata i enzima, a vrednost holesterola raste sa aktivnošću ALT i ALP. Sve navedeno ukazuje da starenje i postojanje hroničnih bolesti povlači sa sobom različite patofiziološke kompenzatorne procese koji se odnose na rad jetre i bubrega i koji kao krajnji ishod imaju promene u laboratorijskom nalazu kod starijih pasa.

Tabela: Korelacije između hematoloških i biohemijskih parametara koji pokazuju veliku varijabilnost kod starih pasa

	Leukociti	Neutrofili	Urea	Kreatinin	ALT	AST	ALP	α Amilaza	Holesterol
Neutrofili	,988**	1							
Urea	,005	-,004	1						
Kreatinin	,046	,026	,930**	1					
ALT	,099	,091	-,050	-,040	1				
AST	-,059	-,050	,306*	,181	,433**	1			
ALP	,199	,186	-,065	-,091	,164	,065	1		
α Amilaza	,172	,148	,513**	,480**	-,116	,508**	,247	1	
Holesterol	,249	,266	,076	,066	,374**	,107	,346*	-,038	1
Fosfat	,125	,098	,812**	,909**	-,016	,138	-,127	,465**	,069

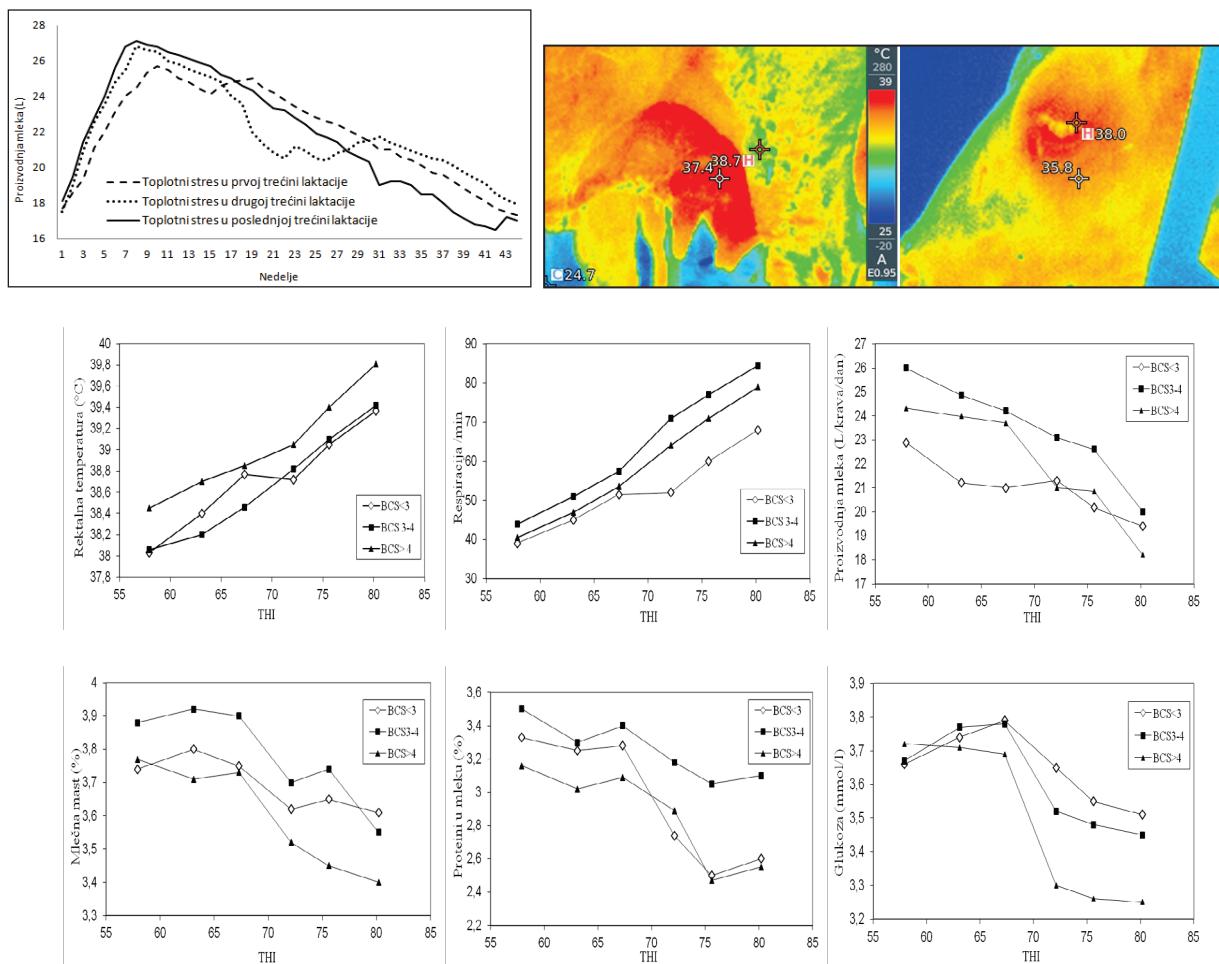
Za potrebe ovog istraživanja vršeno je ispitivanje uticaja starosti i zdravstvenog stanja jedinki na hematološke i biohemiske parametre krvi, bez sagledavanja ostalih faktora koji utiču na proces starenja kod pasa i samu prirodu određenih bolesti koje u kliničkoj ili subkliničkoj formi mogu postojati kod pasa (Dreschel , 2010 ; Adams i sar., 2015 ; Butterwick i sar., 2015; Lakić i sar., 2017a i b; Novakov i sar., 2017). Dobro je poznato da brojni faktori dodatno utiču na proces starenja kod pasa. Na prvom mestu to je veličina životinje. Dužina života pasa je u negativnoj korelaciji sa veličinom jedinke, što objašnjava 40-44% varijacije u starosti prilikom smrti životinje. Istraživanja na temu reproduktivnog statusa pasa navode da su sterilizacija i kastracija u tesnoj vezi sa produženjem životnog veka pasa, kao i da su povezane sa smanjenjem rizika od smrti usled infektivnih bolesti, trauma, vaskularnih i degenerativnih oboljenja, ali i sa povećanjem rizika od smrti usled tumora i imunološki posredovanih stanja. Način ishrane i hronični stres takođe utiču na skraćenje životnog veka pasa, naročito kao posledica anksioznih poremećaja, nedostatka fizičke aktivnosti i mentalne stimulacije, života u zatvorenom prostoru, buke i drugih stresora okoline.

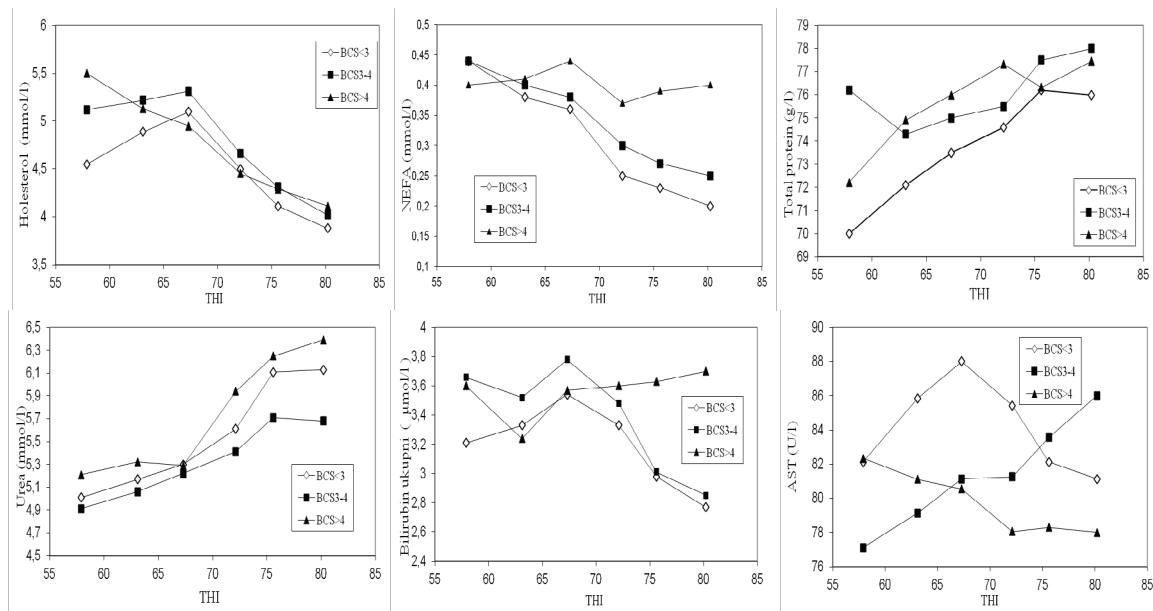
U podacima iz literature, kao najčešća stanja starijih pasa navode se gojaznost, endokrini poremećaji, oboljenja bubrega i srca, neoplazije, degenerativne bolesti zglobova, gingivitis i periodontalna bolest, što se u velikoj meri poklapa sa dijagnozama pasa koji su učestvovali u ovom istraživanju (Shearer, 2010; Hekman i sar., 2014). U određenim istraživanjima vršeno je ispitivanje laboratorijsih parametara u funkciji starenja (Soumyaranjan i sar., 2015 ; Radakovich i sar., 2017 ; Willem's i sar., 2017). Pregledom literature, koja nije obimna u pogledu ove teme, u jednom radu koji se ticao procene hematoloških i biohemiskih parametara kod zdravih seniora i gerijatrijskih pasa utvrđene su statistički značajne razlike u broju trombocita, koncentraciji albumina i vrednostima hematokrita u populaciji od 100 zdravih pasa. U istraživanju koje se baziralo na procenu gerijatrijskih promena kod pasa, u hematološkom i biohemiskom profilu javila se statistička značajnost u broju eritrocita, leukocita, neutrofila, limfocita i monocita, kao i u koncentraciji hemoglobina, albumina, ukupnih proteina, kalcjuma i uree. Još jedno istraživanje na ovu temu pokazalo je da se vrednosti hematokrita, MCV i albumina smanjuju sa godinama, dok su ukupni proteini, globulini i trombociti u porastu sa godinama. Koncentracija uree je takođe povišena kod starijih pasa, ali bez konkurentnog porasta kreatinina, što ukazuje na gastrointestinalna krvarenja ili dehidrataciju. Rezultati našeg istraživanja se u velikoj meri podudaraju sa rezultatima iz literature, što bi moglo poslužiti kao osnov za izradu smernica za očuvanje zdravlja naših najstarijih pacijenata, a u perspektivi i kao polazna tačka za utvrđivanje odstupanja hematoloških i biohemiskih parametara krvi od referentnih vrednosti karakterističnih za ovo pozno doba.

DELOVANJE TERMIČKIH ETIOLOŠKIH FAKTORA U FUNKCIJI PREDISPOZICIJE ŽIVOTINJE- Uticaj toplotnog stresa i telesne kondicije krava na adaptaciju organizma

Proizvodnja mleka kod krava u toplotnom stresu opada zbog metaboličke adaptacije (pogledati udžbenik) i direktnog delovanja visokih temperatura na vime i organizam u celini. Metabolička adaptacija podrazumeva povećanu potrošnju glukoze I smanjenje lipolize i ketogeneze. Međutim postojanje gojaznosti kao predispozicije za slabo tolerisanje visokih temperature menja metaboličku adaptaciju. Krave izložene toplotnom stresu pokazale su porast rektalne temperature, a ovaj porast je bio veći kod krava visoke telesne kondicije. Respiracija tokom vremena takođe raste i u početku je ovaj porast intenzivniji kod gojaznih krava, ali se kasnije gubi. Gajazne krave proizvode manje mleka tokom izlaganja toplotnom stresu u poređenju sa kravama niže telesne kondicije. Pad u proizvodnji mleka prati i pad u kvalitetu mleka, pa kod krava visoke telesne kondicije postoji izraženiji pad koncentracije proteina i masti u mleku.

Metaboličke adaptacije kod gojanih krava pokazale su određene specifičnosti. Kod krava visoke telesne kondicije postojao je značajno veći pad u koncentraciji glukoze, ali je koncentracija NEFA kod gojaznih krava postojao je jači pad koncentracije glukoze, a koncentracija NEFA je rasla tokom toplotnog stresa, dok je kod krava niže telesne kondicije koncentracija NEFA opadala. Koncentracija holesterola je opadala podjednako bez obzira na telesnu kondiciju krava. Ultrazvučno merenje masnog tkiva u predelu istaknutih koštanih delova tubera coxae i tubera ischia pokazuje da kod gojaznih krava dolazi do pada u debljini masnog depozita za 1,15 mm, što je mnogo više u odnosu na 0,7 i 0,1 mm koliko je opala debljina masnog tkiva kod krava niže telesne kondicije. Ovakav nalaz se u skladu sa povećanom lipidnom mobilizacijom kod gojaznih krava u toplotnom stresu. U toplotnom stresu koncentracija uree kod krava raste, a ovaj porast je najizraženiji kod gojaznih krava. Pored navedenog kod gojaznih krava koncentracija bilirubina blago raste, dok kod krava niže telesne kondicije koncentracija bilirubina opada.





DELOVANJE HIPERBARIČNOG KISEONIKA – IZAZIVANJE KONVULZIJA I PROMENA NA ERITROCITIMA

Eksperimenti su vršeni na laboratorijskim miševima (*Mus musculus*) starosti 3-5 nedelja, koji su gajeni pod istim uslovima ishrane i nege. Ova vrsta je izuzetno prilagođena za rad u laboratorijskim uslovima a poznata je njihova otpornost i visoki nivo preživljavanja, čak i posle ozbiljnijih operacija. Eksperimentalnu grupu je činilo 60 miševa, a isti broj miševa sačinjavao je kontrolnu grupu.

Životinje iz eksperimentalne grupe su stavljane u hiperbarične komore, koje su bile posebno namenjene za eksperimentalna istraživanja (tip Dräger 1200). Životinje iz kontrolne grupe su boravile u komorama, ali nisu izlagane hiperbaričnom kiseoniku.

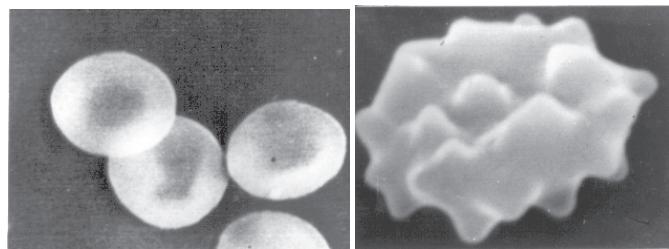
Komora ima performanse tako da može da dostigne pritisak do 40 atmosfera. Ovaj tip komore omogućava i stalno praćenje važnih parametara kao što su: EKG, EEG, vrednost parcijalnog pritiska kiseonika kao i njegove promene. Na komori se nalaze izvodi za krv, te je moguće uzimanje uzoraka krvi.

Posle hermetizacije počinjalo se sa kompresijom koja je kod eksperimentalnih životinja išla do 3.5 absolutne atmosfere (3.5 ATA). Vreme ekspozicije životinja je bilo oko 40 minuta. Temperatura u komori bila je 37°C, a vlažnost vazduha između 60 i 70%. Navedene vrednosti po standardima predstavljaju zonu komfora u ovim uslovima. Posle hermetizacije počinjalo se sa kompresijom, koja je kod eksperimentalnih životinja bila standardna i iznosila je 0.2 Bara za minut. Interval dekompresije je, posle ekspozicije, po pravilu uvek nešto duži i trajao je oko 30 minuta.

Uzorci krvi su uzimani od eksperimentalnih životinja direktno iz venskog sistema repa životinje. Toksičnog efekta kiseonika na membranu eritrocita posmatrana elektronskim mikroskopom, a priprema preparata vršena je prema ranije opisanim postupcima (5).

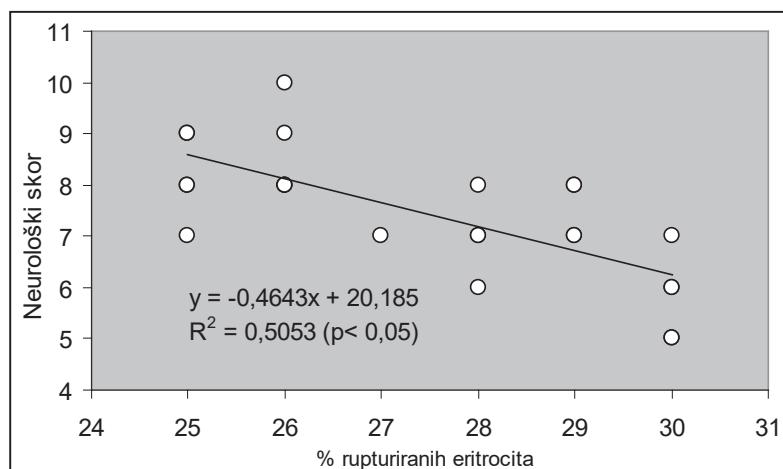
Krv je uzimana 32, 34, 36, 38 i 40 minuta od početka izlaganja hiperbaričnim uslovima. Ovo vreme je izabrano na osnovu ranije ispitane pojave nastanka konvulzija kod laboratorijskih pacova (4), koje predstavljaju kontraindikaciju za dalje izlaganje hiperbaričnim uslovima.

Neurološko ispitivanje CNSa podrazumevalo je, osim nastanka konvulzije sledeće: refleks fleksije, refleks hvatanja, refleks ispravljanja, izazivanje reakcije, test ekvilibrijuma, kornealni refleks, pupilarni refleks, reakcija na auditorni stimulus, refleks odmahivanja glavom, refleks širenja prstiju, što je modifikovano prema Tupper-u i Wallace-u (1980) (6). Postojanje aktivnosti je ocenjeno sa 1, dok je odložena ili spora aktivnost i odsustvo aktivnosti ocenjeno sa 0.



Slika: Nepromjenjeni eritrociti kontrolne grupe (levo) i ehinocit u 40. Minutu (desno), njihova pojava govori o stepenu oštećenja eritrocita i sklonosti ka nastanku rupture

Grafik: Skor pregleda CNSa posle dekompresije u funkciji broja eritrocita sa rupturiranom membranom u 40-om minuti

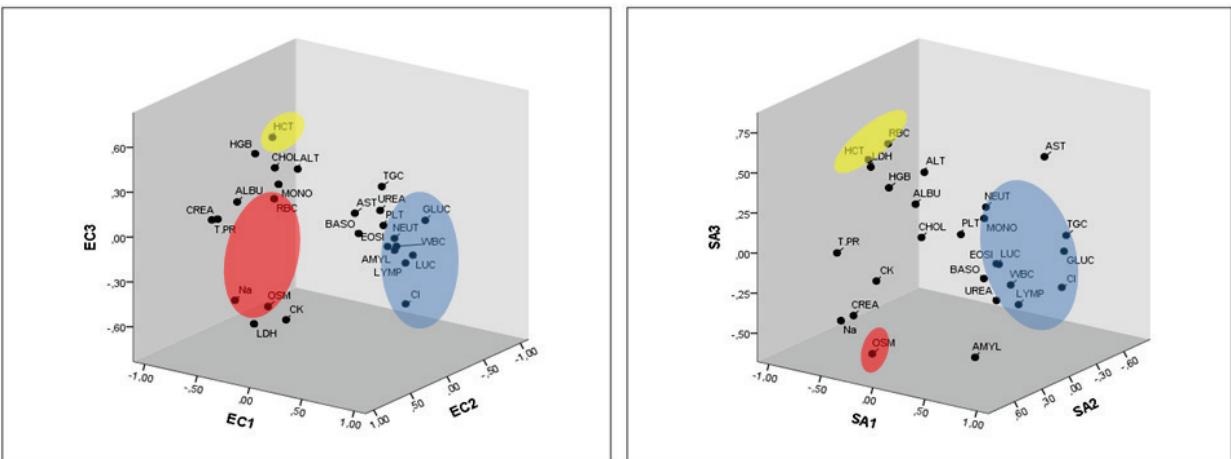
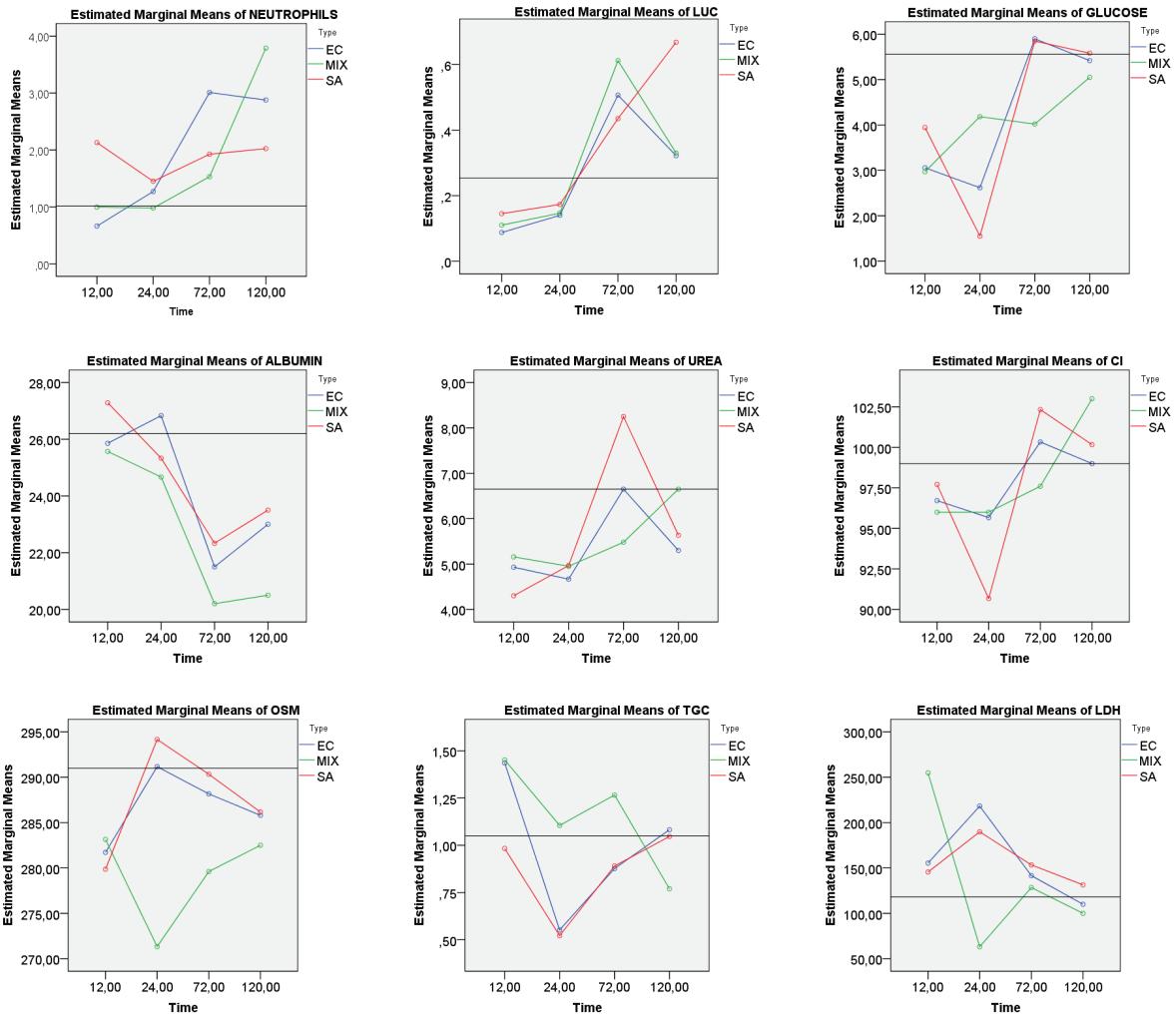


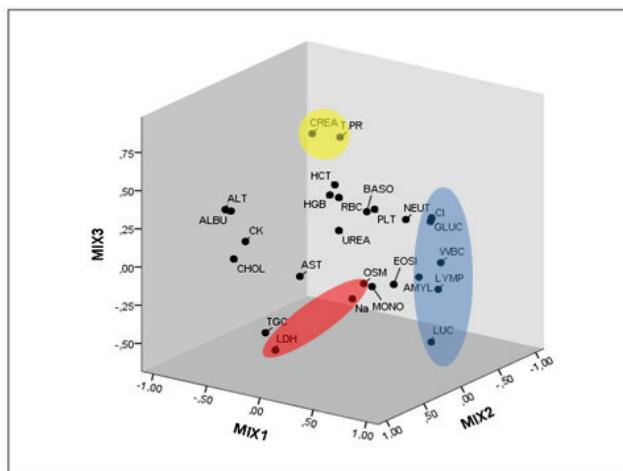
Prilikom trovanja kiseonikom dolazi do: zadržavanja oksidacije glukoze, fruktoze i laktoze, sputavanja hemoreceptora u aorti i glomus coraticumu, povećanja tonusa n.vagusa i smanjenja minutnog volumena srca, dilatacije krvnih sudova pluća, konstrikcija, cerebralnih i renalnih krvnih sudova, pojava tonično - kloničnih konvulzija, plućnog edema, atelektaza i alveolokapilarne blokade (7). Toksični efekat kiseonika na centralni nervni sistem (CNS) naziva se „Bert-ov efekat“, a ime je dobio po *Paul-u Bert-u*, koji je 1878. demonstrirao konvulzije kod ptica izloženih pritisku od 15-20 ATA (apsolutni pritisak vazdušnog omotača). Takozvani „Smith-ov efekat“ predstavlja efekat kiseonika na plućni sistem, koji je dobio naziv po *Lorain-u Smith-u*, koji je 1899. opisao fatalnu pneumoniju kod pacova četiri dana posle izlaganja životinja 73% kiseoniku pod pritiskom od 1 apsolutne atmosfere. Kod akutnog trovanja dominiraju simptomi vezani za CNS, dok kod hroničnog trovanja dominiraju pulmonarni simptomi (8). Detaljnija istraživanja pokazala su, pored manifestnih konvulzija i promene u EEG zapisu (9). Razloge pomenutih promena možemo naći u izmenjenoj cirkulaciji u CNS-u, promenama metabolizma NO i NADPH, promenama u citoskeletu usled oksidativnog stresa i dr. (10). Akutno trovanje kiseonikom koje se javlja u obliku oksigenskih konvulzija ili kiseoničnog grča, uočava se i prepoznaje po simptomima neuroloških ispada. Nastaje ukoliko se kiseonik upotrebljava pod većim pritiskom od tri ili više ATA u dužem vremenskom periodu. Početak simptoma se ispoljava u vidu lakog podrhtavanja i fascikulacijama muskulature lica i vrata, koje polako prelaze u konvulzije, u manifestnu epilepsiju, disanje postaje površno, a završni stadijum vodi srčanoj aritmiji i komi. U EEG se uočavaju promene, koje su tipične za „grand-mal“. Grčevi, koji se javljaju, mogu da se spreče davanjem muskularnih relaksanata, barbiturata ili antikonvulziva pod kontrolom. Otpornost prema kiseoniku povećavaju sve antialkoholične droge, kao što je antabus (40).

DELOVANJE ŽIVIH AGENASA – Eksperimentalna sepsa kod miševa

Izazivanje eksperimentalne sepsa - U ogledima su korišćeni referentni sojevi Escherichia coli (ATCC 25922) i Staphylococcus aureus (ATCC 25923). Dobijene suspenzije standardnih sojeva (inokulum), uz predhodno snažno protresanje epruveta, sterilnim špricem uzimani su i aplikovani navedeni mikroorganizmi u cekum pacova, imajući pri tome u vidu da 1ml inokuluma sadrži približno 10^9 pomenutih bakterija. Model sepsa cekalna ligacija ipunktura (CLP) reprodukovana je korišćenjem tehnike objašnjenja i karakteristika modela po Wichtermanu sa malim modifikacijama. Hirurška intervencija izvedena je na anesteziranim pacovima sa tiopentobarbitolom 50 mg/Kg datog intraperitonealno. Abdominalna incizija rađena je u medijalnoj liniji 2 cm ispod nivoa cekuma a potom su urađene dve punkcije cekuma iglama promera 18. Kod jedne grupe životinja (MIX) cekum je propisno ekstrahovan kroz inciziju a potom potiskivanjem fekalnog sadržaja napunjen i tesno vezan silkom (3,0) za 1/3 niže od ileocekalne valvule uz očuvan kontinuitet gastrointestinalnog trakta. Dve punkture (otvora) su napravljene sterilnim iglama sa strane cekuma kroz antimezenteričnu površinu. Posle cekalne ligacije i punkture cekum je vraćen u peritonealnu duplju a incizija zatvorena u dva sloja (mišići i koža). Kod druge grupe životinja (EC) ekstrahovani cekum je predhodno ispražnjen podizanjem i istiskivanjem fekalija, nakon čega je podvezan i ispran fiziološkim rastvorom (prva punktura) i napravljen pripremljenim inokulumom od 1 ml (10^9) (druga punktura) koji sadrži čiste kulture gram negativnih bakterija E.coli. Kod naredne grupe životinja ekstrahovani cekum je predhodno ispražnjen podvezan i ispran. Nakon toga je izvršeno drugo punktiranje radi inokulacije Gram pozitivnih bakterija Staph.aureus (SA) u količini od 1 ml (10^9).

Uticaj vremena, vrste sepsa i njihove interakcije na vrednoti ispitivanih parametara kvi – Utvrđene su značajne razlike vrednosti istpivanih krvnih parametara u funkciji vrste sepsa. Kod svih ispitivanih parametara postojala je razlika između EC:MIX i SA:MIX vrste sepsa. Kod EC i SA sepsa nađene su više vrednosti eritrocita, ukupni proteini, albumini, kreatinin, natrijum i osmolarnost plazme kao i niže vrednosti triglicerida u odnosu na MIX sepsu. Uticaj momenta uzorkovanja krvi posle izazivanja sepsa pokazao se najznačajnijim faktorom koji utiče na sve ispitivane parametre osim na vrednost monocita. Postojanje statistički značajne interakcija vremena i vrste sepsa pokazuje da se tokom vremena vrednost pojedinih parametara različito menjala u funkciji vrste sepsa. Ova interakcija je bila statistički značajna za sledeće parametre: eritrociti, neutrofili, LUC, glukoza, ukupni proteini, urea, Na, Cl, osmolarnost i LDH. Vrednosti ALT i AST su značajno viša 12h posle inokulacije, da bi potom značajno opadao do 120h ispitivanja. Vrednost LDH je značajno viša 12h posle inokulacije bakterija, i pokazuje rast 24h posle inokulacije i potom lagan pad kod EC i SA sepsa, međutim kod MIX sepsa vrednost LDH opada ispod vrednosti kontrolne grupe, da bi potom rasla. Koncentracija uree značajno opada 12h posle sepsa da bi potom rasla do nivoa vrednosti iz kontrolne grupe. Više vrednosti uree nađene su 72h posle inokulacije kod SA sepsa. Vrednost glukoze je značajno niža 12 i 24h posle inokulacije kao i 72h (samo za MIX sepsu), dok kasnije teži ka vrednostima kontrolne grupe. Kreatinin kod EC i SA sepsa značajno raste u 12 i 24h od inokulacije bakterija, da bi potom opadao do nivoa kontrolnih vrednosti. Kada se radi o MIX sepsi primećen je blag porast kreatinina, ali sa drastičnim padom ispod kontrolnih vrednosti 72h posle inokulacije. Koncentracija Na je značajno snižena 24 h posle inokulacije uzročnika, međutim 48h posle inokulacije koncentracija Na i dalje opada kod MIX sepsa i značajno raste iznad vrednost kontrolne grupe kod SA i EC sepsa, da bi se u 72. i 120.satu njihove vrednosti ponovo srele na nivou ispod kontrole grupe. Vrednost hlorida bila je snižena 12h nakon inokulacije, u 48h je izmerena najniža vrednost, koja je potom rasla. Najveće opadanje je postojalo kod SA vrste sepsa, dok je najveći porast na kraju postojao kod MIX i SA modela sepsa. Koncentracija albumina bila je nešto viša kod SA sepsa ili nešto niža kod EC i MIX sepsa 12h posle inokulacije, da bi potom pokazala konstantan pad do 72h, a 120h je nađen lagan porast, ali su vrednosti i dalje bile daleko ispod referente. Vrednost ukupnih proteina je bila snižane u odnosu na kontrolnu kod MIX sepsa, dok je njihova vrednost najpre rasla u prva 24 časa kod EC i SA sepsa, a potom opadala. Kod sva tri tipa sepsa u 120h vrednosti ukupnog proteina su bile iznad kontrolnih. Osmolarnost se ponašala bifazno a pokazan je značajan uticaj interakcije vrsta sepsa×vreme. Osmolarnost je bila ispod kontrolnih vrednosti kod sve tri vrste sepsa 12h po inokulaciji, potom je pokazala drastičan porast kod SA i EC sepsa i dalji pad kod MIX sepsa 48h posle inokulacije. Od 72 do 120h osmolarnost plazme je rasla kod MIX sepsa, a opadala kod EC i SA sepsa i vrednosti se susreće na nivou ispod kontrolnih. Vrednost CK je bila ispod kontrolnih vrednosti, a ona je rasla do 48h pa opadala od 48 do 120h kod SA i EC sepsa, dok je vrednost CK u MIX sepsi najpre bila povišena pa je opadala. Vrednosti amilaze su bile značajno snižete 12h posle inokulacije a potom su skoro linearno rasle do 120h i nalazile su se nešto iznad kontrolnih vrednosti. Koncentracija triglicerida je bila snižena kod SA sepsa i povišena kod EC i MIX sepsa 12h po inokulaciju, potom je pokazala opadanje 48h uz podizanje vrednosti do kraja ogleda kod EC i SA sepsa i dalji pad kod MIX sepsa.





GENSKI FAKTORI – Genotipovi stres sindroma svinja i biohemijski parametri kod bledog i vodnjikavog mesa

Savremeno svinjarstvo odlikuje visoko industrijalizovana proizvodnja. Jednostrana selekcija svinja u cilju postizanja što boljih proizvodnih kvaliteta dovela je do povećane aktivacije kataboličke ose i stres osjetljivosti kod životinja. Pojava jedinki čije je meso bledo, sočno i vodnjikavo (PSE-pale, soft, exudative) ili mrko, suvo i čvrsto dovelo je do otkrivanja stres sindroma kod svinja (Allison, 2004). Geni odgovorni za nastanak stres sindroma obeleženi su sa Hal-1843, jer su vezani za pozitivnu reakciju na halotan test (Fuji et al, 1991). Recesivni homozigoti Hal-*nn* su osjetljivi na stres u odnosu na dominantne homozigote Hal-*NN* i heterozigote Hal-*Nn* koji su rezistentni. Vremenom je ustanovljeno da je Hal lokus povezan sa lokusom koji određuje H i S krvnu grupu, zatim fosfoheksozo-izomerazu i 6-fosfoglukodehidrogenazu (Omelka, 2004; Imlah et al, 1984; Andresen i Jensen, 1980).

NN i nn genotip uvek produkuje sebi slične genotipove, ali Nn genotip može produkovati tri moguća genotipa i to NN:2Nn:nn. Nekontrolisano razmnožavanje heterozigota u našoj populaciji svinja zapravo dovodi do širenja gena za stres osjetljivost.

Cilj ovog rada jes da se na osnovu prisustva različitih subtipova fosfoheksozo-izomeraze ispita genska ravnoteža populacije svinja.

MATERIJAL I METODE - Tipovi fosfoheksozo-izomeraze su utvrđeni elektroforezom na skrobnom gelu uz specifično bojenje elektroforegrama (Detter et al, 1968). Analizirano je u dva testa preko 600 grla svinja. Genotipovi su obeleženi kao: Phi BB – stres osjetljiva grla, Phi AB – heterozigoti i Phi AA – stres rezistentna grla. Vršeno je poređenje zastupljenosti pojedinih genotipova sa očekivanim frekvencama, shodno Hardy-Weinberg-ovom zakonu. Korišćen je χ^2 -test. Vršeno je ispitivanje sledećih čistih rasa svinja: jorkšir, landras, hempšir, pietren i durok, kao i različite kombinacije njihovih meleza.

REZULTATI - Kada se pogleda Tabela 1 može se primetiti opadanje phi^{BB} genotipa, kao rezultat izlučenja jedinki sa ovim genotipom iz populacije. Međutim, postoji porast populacije heterozigotnih plotkinja, što govori u prilog činjenici da se nedovoljno vrši selekcija na stres gen. Krajnji rezultat bi mogao biti nekontrolisano kretanje gena kroz populaciju svinja i porast broja stres osjetljivih jedinki. Rezultati χ^2 -testa (Tabela 2) pokazuju da ne postoji značajno odstupanje frekvence pojedinih izoenzima phi u odnosu na teorijsku frekvencu prema Hardy-Weinberg-ovom zakonu. Ova činjenica ukazuje da je populacija svinja u genskoj ravnoteži.

Frekvence heterozigota i homozigota tipa phi^{BB} je dosta visoka bez obzira na rasu i meleženje (Tabela 3). Gibson i sar. (2006) su pokazali da u populaciji duroka, landrasa, hempšira i jorkšira procenat homozigota phi^{AA} je bio 88,9% dok je heterozigota bilo 10,8%, a phi^{BB} je bilo u zastupljenosti od 0,24%. Istraživanja Houde-a i sar. iz 2001. i 2002. godine pokazale su pad heterozigota sa 30 na oko 6%, što je vidan napredak.

Naši rezultati pokazuju da je ideo recesivnih homozigota najveći kod trorasnih meleza. Ispitivanjem rasnog sastava zaključili smo da kod trorasnih meleza sa hempširom značajno raste procenat stresnog alela u populaciji (neprikazani rezultat). Znatno veći problem jesu heterozigoti u populaciji svinja. Trorasni melezi sa velikim jorkširom daju preko 58% recesivnih jedinki.

Heterozigoti su vrlo veliki problem na farmama. Smatra se da ako 3% svinja razvije stresni odgovor u toj populaciji svinja postoji barem 30% recesivnih heterozigotnih nosilaca (Houde et al, 2001).

Tabela: Rezultati ispitivanja frekvencije genotipova phi

	Broj	Genotipovi					
		phi ^{AA}	%	phi ^{AB}	%	phi ^{BB}	%
I test	407	67	16.46	166	40.78	174	42.75
II test	227	58	25.6	99	43.6	70	30.8
Ukupno	1.00	0.17/0.26		0.41/0.44		0.43/0.38	

Tabela : Testiranje dobijenih frekvenci sa Hardy-Weinberg-ovom teorijskom frekvencijom

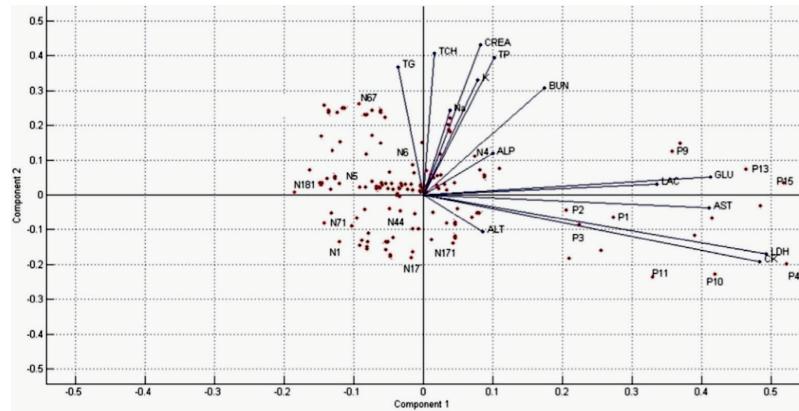
	Broj	Genotipovi			χ^2	Frekvencija alela	
		phi ^{AA}	phi ^{AB}	phi ^{BB}		A	B
I test – očekivano	407	56	189	162	0.1488	0.37	0.63
I test – nađeno		67	166	174			
II test – očekivano	227	50	113	64	0.1299	0.47	0.53
II test – nađeno		58	99	70			

Tabela : Frekvencija genotipova unutar čiste rase i višerasnih meleza

	Čista rasa	Broj	Genotipovi			Ukupno	Frekvencija alela (%)	
			phi ^{AA}	phi ^{AB}	phi ^{BB}		A	B
Čista rasa	Dvorasni melezi	Broj	17	11	7	35	44.29	55.72
		%	48.57	31.43	20.00	100		
Trorasni melezi	Trorasni melezi	Broj	47	40	15	102	37.75	62.26
		%	46.08	39.22	14.71	100		
Četvororasni melezi	Četvororasni melezi	Broj	95	119	36	250	33.40	66.60
		%	38.00	47.60	14.40	100		

U našim populacijama svinja postoji genetička ravnoteža kada je u pitanju frekvencija homozigota i heterozigota. Ipak broj homozigotnih na stres je prilično visok, a visok udeo heterozigotnih jedinki ukazuje da se moraju pojačati selekciione mere za redukciju stresa tj. stresnog sindroma kod svinja.

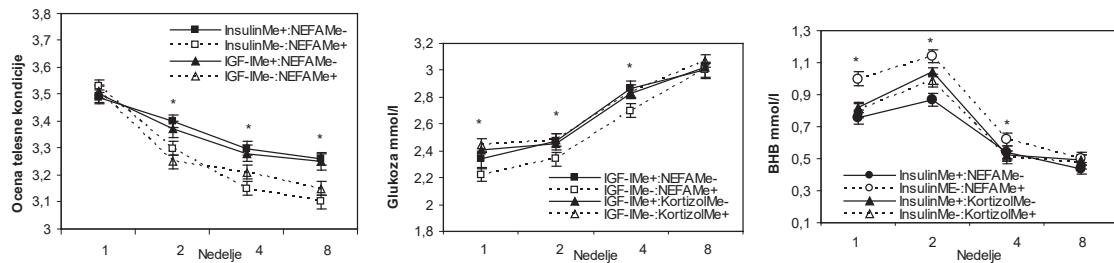
Qu i saradnici su ipitivali da li je moguće razlikovati životinje koje će razviti bledo i vodnjikavo meso (PSE) pomoću biohemijskih parametara krvi. (Meat science, 128, 24-29, 2017). Analiza diskriminatorske funkcije (DFA) uspela je da se jasno identifikuje PSE meso koristeći pet biohemijskih parametara kao ulazne podatke. To može se zaključiti da su CK, LDH, AST, GLU i LAC u krvi dobri pokazatelji PSE mesa, a model klase je efikasnost inspekcije PSE meso. MOguće je koristiti biohemiske parametre koji efikasno ukazuju da se može razviti visok rizik za PSE meso merenjem CK u krvi, LDH, AST, GLU i LAC.

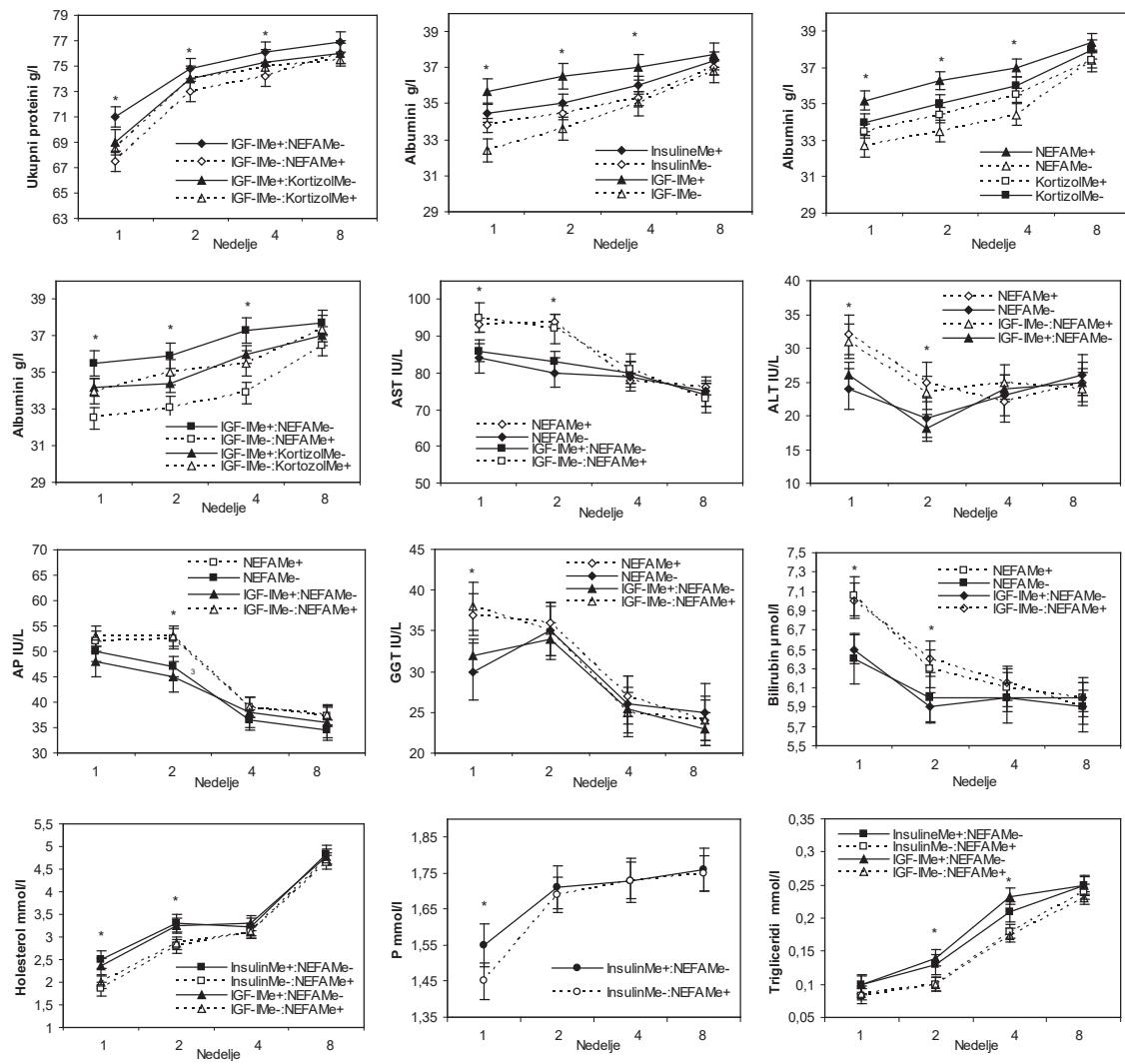


Grafikon: Glavne komponente u proceni nastanka bledog vodnjikavog mesa tokom delovanja genskih faktora

DELOVANJE NEGATIVNOG ENERGETSKOG BILANSA – Metabolička adaptacija krava kod delovanja anaboličkih i kataboličkih indikatora metabolizma

U periodu rane laktacije kod krava dolazi do značajnih metaboličkih promena koje nastaju kao posledica započinjanja laktacije i negativnog energetskog bilansa kod krava. Da bi zadovoljila nadolazeće potrebe za proizvodnjom mleka i nadomestila smanjen unos hrane kod krava se razvija homeoretska adaptacija i metabolički stres, koji se ogledaju u dominaciji kataboličkih procesa u odnosu na anaboličke. Cilj ovog rada je da se ispitaju razlike u metaboličkoj adaptaciji krava u ranoj laktaciji na osnovu vrednosti anaboličkih (insulin, IGF-I) i kataboličkih (NEFA, kortizol) pokazatelja metabolizma krava u prvoj nedelji posle teljenja. Kod krava opterećenih metaboličkim stresom (vrednosti kataboličkih parametara iznad medijane i anaboličkih ispod medijane) imaju sledeće metaboličke adaptacije: višu vrednost STH, BHB (kriterijumi insulin, IGF-I, NEFA, insulin+NEFA, IGF-I+NEFA); bilirubina; AST; ALT; GGT; AP (kriterijumi NEFA i IGF-I+NEFA) i MDA (kriterijum NEFA); a nižu vrednost glukoze ukupnih proteina, albumina (kriterijumi IGF-I, NEFA, IGF-I+NEFA); uree, Ca, Mg, SOD (kriterijumi NEFA i kortizol); holesterola, triglicerida (kriterijumi insulin, IGF-I, NEFA, insulin+NEFA, IGF-I+NEFA); P (kriterijum insulin+NEFA) i ocene telesne kondicije (kriterijumi insulin, IGF-I, NEFA, insulin+NEFA, IGF-I+NEFA). Krave sa višom koncentracijom koritzola imaju višu glikemiju i nižu koncentraciju BHB. Krave opterećene metaboličkim stresom klasifikovane na osnovu sva četiri indikatora pokazuju višu vrednost STH, nižu vrednost holesterola i triglicerida i nižu ocenu telesne kondicije. Razlike su najizraženije u prve dve nedelje posle teljenja, da bi potom opadale ili se gubile, dok su razlike u telesnoj kondiciji najvidljivije u kasnijim nedeljama ogleda.





DELOVANJE HRANIDBENIH FAKTORA – Adaptacija mlečne žlezde krava na dodavanje selena i cinka

Cilj jednog našeg istraživanja je bio da se ispita uticaj dodavanja selena i cinka u hrani na koncentraciju selena i cinka krvi i mleku, broj somatskih ćelija u ranoj laktaciji kao i histološke karakteristike vimena krava značajne za procenu zdravlja vimena po isključenju krava iz proizvodnje. U eksperiment je uključeno 30 visoko-mlečnih krava Holštajn-frizijske rase su praćene tokom celog ciklusa laktacije, koje su držane u štalskim uslovima. Sve krave su bile približne telesne građe i mase, starosti od 3-4 laktacije i davale su približno istu količinu mleka (oko 7000 l/laktaciji). Postojale su dve grupe po 15 krava. Prvu grupu su činile krave kojima nikada tokom predhodnih laktacija nisu dati dodaci selena i cinka, a druga je ogledna koja je dobijala organski cink i selen u hrani u periodu 14-21 dan pre teljenja (kompleks Bioplex Zinc 240 mg/kg hrane i Sel-Plex 0,30 mg/kg hrane; Alltech). *Analiza krvi - Krv* je uzeta u prvom mesecu laktacije (oko 30 dana) iz *v.coccygea* kako bi se odredila koncentracija selena i cinka u krvi. Kada su prikupljeni svi uzorci krvi, krvni serumi su dalje analizirali atomskom apsorpcionom spektrometrijom (AAS) na aparatu Perkin Elmer Elan 6100 ICPMS, Massachusetts, USA. Koncentracija selena i cinka određena je prema postupku koji su opisali Tamasi i sar. (2008) i Maas i sar. (1992).^{77,78} *Analiza mleka - Mleko* je za potrebe eksperimenta uzeto u momentu kada je uzorkovana i krv. Pomoću Milkoscan aparata određen je broj somatskih ćelija. Kada su prikupljeni svi uzorci mleka, mlečni serumi su izdvojeni i dalje analizirani atomskom apsorpcionom spektrometrijom (AAS) na aparatu Perkin Elmer Elan 6100 ICPMS, Massachusetts, USA. Metodologija je ista kao i za krvni serum. *Histološka analiza vimena – Vimena* 30 krava Holštajn-frizijske rase su

uzimana za histološka ispitivanja po isključenju ovih krava iz proizvodnje. Za ispitivanje su korišćene 120 četvrti vimena krava, kojim je merena dužina papila i dužina *ductus papillaris*-a, i od kojih su uzeti uzorci tkiva za histološki pregled. Analiza histoloških preparata je rađena na Leica mikroskopu. Čakljeva kvantitativna metoda, koju opisuju Mayer i Klein (1961) je korišćena radi procena stepena oštećenja alveolarnog epitela, alveolarnog lumena i intraalveolne strome. Leukocitarna infiltracija, uglavnom limfocita i polimorfonuklernih neutrofilnih granulocita (PMN) je kategorizovana u dva područja vimena krava: 1. cistrna i 2. parenhim. Promene su utvrđene na uvećanju svetlosnog mikroskopa od 10x i 40x. Stepen leukocitarnog infiltrata smo utvrdili na osnovu prisutnosti određnih ćelija zapaljenskog odgovara u vidnom polju, gde nekoliko neutrofilnih granulocita i limfocita predstavlja leukocitarni infiltrat od 0% do 25%; značajan broj neutrofilnih granulocita i limfocita sa retkim makrofagama je leukocitarni infiltrat od 25,1% do 50%; masivna infiltracija limfocita, značajan broj makrofaga i retki eozinofilni granulociti su leukocitarni infiltrat od 50,1% do 75%; i masivna infiltracija limfocita i makrofaga sa nekoliko plazmocita i eozinofilnih granulocita predstavlja leukocitarni infiltrat od 75,1% do 100%. Reparacioni procesi podrazumevali su nalaz granuloma i hiperplaziju/hiperplaziju vezivnog tkiva žlezdanog dela vimena. *Statistička analiza podataka - Razlike u koncentraciji selena i cinka u krvi odnosno mleku kod krava koje su dobijali ove mikroelemente i koje nisu dobijale određen je pomoću t-testa.* Veza između dodavanja selena i cinka i zastupljenosti krava sa deficitom selena i cinka u ranoj laktaciji određena je Hi-kvadrat testom. Značajnost razlike u broju somatskih ćelija između odgledne i kontrolne grupe određena je t-testom, dok je veza između dodavanja selena i cinka i pojave broja somatskih ćelija preko 400.000/ml određena Hi-kvadrat testom. Uticaj dodavanja selena i cinka na debljinu *ductus papillaris*-a, stepen ćeljske infiltracije i nalaz reparacionih procesa ispitana je pomoću Cochran-Armitage testa za trend (određeno je za svaku ispitivanu četvrt vimena posebno). Ispitana je i korelacija i testirana značajnost korelacije između koncentracije selena i cinka u krvi i mleku, broja somatskih ćelija, stepena celularne infiltracije i debljine keratinskog sloja.

Rezultati ispitivanja pokazuju da dodavanje selena i cinka kod krava u periodu pred teljenje pozitivno utiče na vrednost ovih mikroelemenata u krvnom serumu i mleku tokom rane laktacije, tako da je koncentracija ovih elemenata značajno viša u mleku i krvi kod krava koje su dobijale suplemente selena i cinka. Kod krava suplementiranih ovim mikroelementima postoji značajno manji prosečan broj somatskih ćelija tokom laktacije koja sledi. Nađena je manje izražena infiltracija parenhima vimena leukocitima, značajno deblji keratinski sloj *ductus papillaris*-a i manje izraženi reparacioni procesi koji ukazuju na hroničnu inflamaciju vimena u preparatima dobijenim posle isključenja krava iz proizvodnje. Navedeni rezultati predstavljeni su u Tabeli 36. Dodavanje selena i cinka kroz hrani je u vezi sa statusom selena i cinka kod ispitivanih krava, jer u grupi krava koje nisu dobijale ove elemente postoji značajno veće učešće krava koje imaju deficit ovih elemenata u krvi. Kod krava kojima su u hrani bili dodavani ovi mikroelementi postoji značajno manje učešće onih krava čija je prosečna vrednost broja somatskih ćelija bila preko 400.000/ml. Histološke karakteristike vimena krava takođe su u značajnoj vezi sa dodavanjem selena i cinka, tako da kod krava koje su dobijale ove suplemente postoji trend povećanja broja krava sa niskom celularnom infiltracijom parenhima, kao i trend povećanja broja krava čija je debljina *ductus papillaris*-a preko 200 µm. Reparacioni procesi u smislu nalaza granuloma i hiperplazije/hipertrofije vezivnog tkiva izraženiji su u grupi krava koje nisu dobijale selen i cink u hrani. Svi rezultati su prikazani u Tabeli 37. Mikrofotografije karakterističnih nalaza u vezi sa histologijom vimena (keratinskim slojem *ductus papillaris*-a, infiltracije leukocita u perialveolarnom prostoru uz dilataciju alveola, deskvamaciju epitela, sakupljanje imunoloških ćelija u alveolarnom prostoru i reparacioni procesi) prikazani su na slikama 3-6.

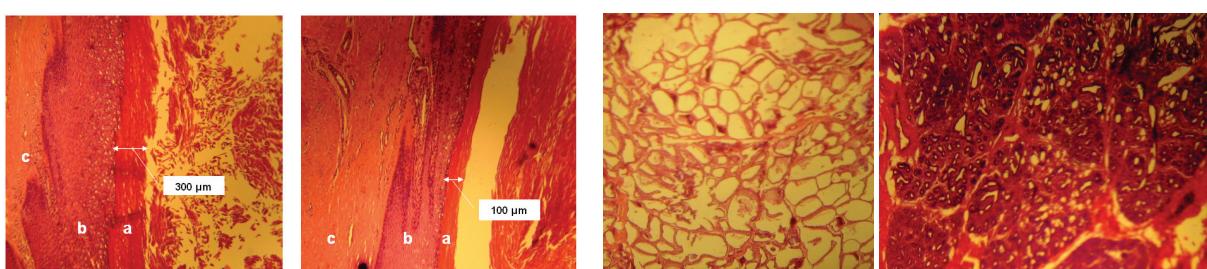
Uticaj selena na broj somatskih ćelija u mleku i histološke karakteristike vimena može se objasniti na sledeći način. Prodor bakterija i njihov rast u mlečnoj žlezdi su glavni uzrok nastajanja mastitisa kod krava. Nakon prodora bakterija dolazi do niza kaskadnih reakcija. Prvo neurofilni granulociti iz krvi dolaze do mesta infekcije uz narušavanje krvno-mlečne barijere. Neutrofilni granulociti su prva linija odbrane organizma od prodora bakterija. Funkcija neutrofilnih granulocita je u fagocitovanju i uništavanju bakterija. Nakon fagocitovanja bakterija nastaju niz hemijskih reakcija uništavanja bakterije, pri čemu se oslobođaju citotoksični slobodni radikali i proinflamatorni citokini. Inflamatorne materije nastale oslobođanjem visoko reaktivnih molekula se ublažuju antioksidansima koji predstavljaju intracelularni mehanizam odbrane od oksidacije. Superoksid dismutaza, glutation peroksidaza i katalaza u mlečnoj ćeliji, uklanjaju superokside i prokside pre nego što oni stupe u reakciju sa metalnim katalizatorima ćelije i stvore razorna toksična jedinjenja za ćeliju. Ovaj intracelularni mehanizam odbrane dovodi da smanjenja oštećenje mlečne ćelije tokom akutne faze inflamacije. Sordillo i sar. (1997) su uočili da pojedini vitamini i mikroelementi imaju značaja u poboljšavanju imunološkog sistema mlečne žlezde, pošto su Atros hi i sar. (1986) i Hogan i sar. (1993) u svojim istraživanjima zaključili da do pojave mastitisa dolazi kod krava čiji je nivo u plazmi glutation peroksidaze i vitamina E vrlo nizak. Dodavanjem u hrani vitamina E i selena, dolazi do pojačavanja aktivnosti glutation peroksidaze i redukcije pojave mastiti. Ustanovljeno je da nizak nivo glutation peroksidaze smanjuje antioksidativnu sposobnost odbrambenog sistema mlečne žlezde i dovodi do pojave mastitisa i povećanja

broja somatskih ćelija u mleku. Koncentracija selena i aktivnost glutation peroksidaze međusobno pozitivno koreliraju. Selen je sastavni deo ovog enzima, pa bi mogli objasniti zbog čega krave koje nisu dobijale selen imaju veću infiltraciju inflamatornih ćelija sa izraženim upalnim procesima. Nedostatak selena provocira inflamatorne procese zbog smanjene antioksidativne aktivnosti tkiva, kada dolazi do nagomilavanja imunih ćelija kao odgovor na prolongiranu inflamaciju, pa zbog toga koncentracija selena negativno korelira sa stepenom celularne infiltracije u parenhimu vimena krava. Kinal i sar. (2005) i Cortinhas i sar. (2010) su dali odgovor zašto dolazi do smanjenja broja somatskih ćelija u mleku koje su kao suplement u hrani dobijale organski cink. Odgovor je da je došlo do bržeg formiranja keratinskog sloja *ductus papillaris*-a i samim tim bržeg njegovog zatvaranja kod krava hranjenim suplementom organskog cinka. Glavnu održavajuću ulogu u *ductus papillaris*-u čini keratin, koji ga oblaže. Keratinozne deskvamirane epitelne ćelije *ductus papillaris*-a stvaraju materiju sličnu vosku, koja lepi patogene mikroorganizme za keratin i tako onemogućava njihov prodror u cisternu i parenhim vimena krava. Smatra se da keratinski sloj *ductus papillaris*-a predstavlja njegovu fizičku barijeru i samim tim sprečava prodror potencijalnih patogenih mikroorganizama u mlečnu žlezdu. Snižena koncentracija cinka ispod 9,64 µmol/l dovodi do stanjenja keratinskog sloja *ductus papillaris*-a za polovicu čime se značajno smanjuje otpornost vimena. Ovakvi rezultati potkrepljuju naše nalaze u kojima koncentracija cinka u mleku i krvi pozitivno korelira sa debjinom keratinskog sloja *ductus papillaris*-a, kao i rezultate koji pokazuju zašto sa opadanjem debline keratinskog sloja *ductus papillaris*-a raste broj somatskih ćelija i stepen ćeljske infiltracije parenhima vimena. Patohistološke karakteristike vimena koje su ispitivane u našem ogledu predstavljaju karakteristične znake upalnih procesa i odlikuju se nalazima kao što je edem, oštećenje epitela sekretnih ćelija parenhima i leukocitarna infiltracija različitog stepena uz pojavu reparacionih procesa (granulomi i fibroza vezivnih septi). Histološkim pregledom 184 parenhima vimana krava, koje su poslate na ekonomsko iskoriscavanje. Takođe su radili i izolaciju uzročnika koji su doveli do određenih promena u parenhimima krava. Od svih uzoraka gde su izolovani uzročnici, samo se u 3,1% uzoraka nisu oučili patohistološke promene. U ostalih 96,9% uzoraka su bile uočljive komponente zapaljenja koje su pokazane i u našem radu.

Razlike u vrednostima ispitivanih parametara kod krava koje su dobijale i koje nisu dobijale selen i cink u hrani pre teljenja

	Krave suplementirane	Krave nesuplementirane	p
Selen u krvi (µmol/l)	0,69±0,12	0,51±0,16	<0.01
Selen u mleku (µmol/l)	0,63±0,2	0,09±0,025	<0.01
Cink u krvi (µmol/l)	13,59±4,5	10,93±3,49	<0.05
Cink u mleku (µmol/l)	33,1±7,3	24,78±8,21	<0.05
Broj somatskih ćelija (000/ml)	380±150	479±110	<0.05
Keratinski sloj <i>d.papillaris</i> -a (µm)	303,5±15,20	241,7±20,24	<0.01
Infiltracija leukocita u parenhim vimena (%)	38,5±15,7	65,5±19,1	<0.01
Reparacioni procesi (broj granuloma u preparatu)	3,5±1,5	7±2,2	<0.01

Keratinski sloj *ductus papillaris*-a (dve slike levo) i intersticijalna i alveolarna infiltracija (dve slike desno)



DELOVANJE EGZOGENIH TOKSINA - Toksični efekat sulfadimidin natrijuma

Sulfadimidin (sulfametazin) je najčešće upotbljavani sulfonamid u našim uslovima. Koristi se za tretman različitih infekcija kako gram pozitivnim tako i gram negativnim mikroorganizmima, a važan je deo protokola za terapiju kokcidioze kod živine. Klinički se koristi za terapiju infekcija urinarnih i digestivnih organa, kao i za prevenciju infekcije mekih tkiva i CNS. Princip delovanja sulfonamida zasniva se na njihovoj sposobnosti da istisnu para-aminobenzoevu kiselinu (PABA) iz bakterije, čime biva onemogućena adekvatna sinteza folne kiseline neophodne za rast i razmnožavanje bakterija. Takođe, sulfonamidi su antagonisti vitamina B kompleksa (Fink-Gremmels et al, 2003; Jezdimirović, 2009). Poznato je da sulfonamidi predstavljaju značajne rezidue u proizvodima stočarske proizvodnje (Wang et al, 2006). Njihovo prisustvo je posledica nekritičke terapije ili upotrebe sulfonamida kao promotora rasta kod životinja (Jurić, 2001). Ovi podaci su značajni uzimajući u obzir da oko 3% ljudske populacije pokazuje preosetljivost na sulfonamide (Tilles, 2001), a značajno raste i rezistencija kod mikroorganizama. Toksični efekat sulfonamida se ogleda u nefrotoksičnosti i hepatotoksičnosti, a klinički identifikujemo: letargiju, anoreksiju, leukopeniju, agranulocitozu, koagulopatije, blagu hemoliznu anemiju, konjuktivitis, oliguriju, hematuriju, neuropatije i pad proizvodnje mleka i jaja (Gupta, 2007; Leitner et al, 2010). Cilj našeg rada je da se ispita uticaj hronične aplikacije sulfonamida na prirast i biohemijske pokazatelje toksičnosti na laboratorijskom modelu.

MATERIJAL I METODE - U ogled je uključeno 96 laboratorijskih pacova Wistar soja. Formirane su četiri grupe i to jedna kontrolna (K) i tri ogledne koje su dobijale 0,066% (O1), 0,2% (O2) i 0,6% (O3) sulfadimidin-natrijuma u vodi za piće tokom osam nedelja. Po završenom oglednom periodu uzorkovana je krv u kojoj su određivani sledeći parametri: gvožđe (Ferrozine metoda), trigliceridi (metoda po Wahlefeld-u), holesterol (metoda po Trinders-u), ureja (metoda po March-u), mokrana kiselina (metoda sa fosfovolframovom kiselinom), kreatinin (metoda po Jaffe-u) i alkalna fosfataza (metoda po Morgenstern-u). Svi parametri su određivani spektrofotometrijski (SMAC analajzer). Izmerena je i masa etla pacova, a po žrtvovanju i apsolutna i relativna (% u odnosu na masu tela) masa jetre i bubrega. Korišćena je precizna vaga Sartorius.

REZULTATI - Rezultati istraživanja pokazuju da laboratorijske životinje koje su tokom ogleda dobijale terapijsku (O2) ili subterapijsku (O1) dozu sulfadimidin-natrijuma pokazuju bolji prirast u odnosu na kontrolnu grupu (K), ali taj nalaz nije statistički signifikantan. Prosečna telesna masa pacova koji su primali opvišene doze leka (O3) statistički je značajno niža u odnosu na grupe K, O1 i O2. Masa bubrega i jetre opada sa porastom koncentracije sulfonamida.

Pad telesne mase može se objasniti činjenicom da sulfonamidi remete sintezu značajnih aminokiselina i K vitamina. Pojedini rezultati ukazuju da sulfonamidi mogu dovesti do aktivacije štitaste žlezde, što deluje katabolički pa utiče na masu (NRA, 2000). Analiza metabolita pokazuje da hronična aplikacija povišenih doza sulfonamida dovodi do oštećenja funkcije bubrega. Uremijsko stanje dovodi do hronične autointoksikacije, koja za posledicu ima kaheksiju i pad telesne mase. Pored navedenog, dislipidemija i poremećaj koncentracije gvožđa govori u prilog propadanja bubrega (Kaneko et al, 2008). Dislipidemija sa izmenjenom koncentracijom alkalne fosfataze ukazuje na oštećenje integriteta jetre (Kerr, 2002), a predpostavka može biti podržana činjenicom da masa jetre opada u grupi koja je primala najvišu koncentraciju leka. Nefrotoksičnost se može objasniti sposobnošću sulfonamida da se kristališu u bubrežnim tubulima zbog izmene pH vrednosti. Hepatotoksičnost uključuje nekrozu hepatocita i izazivanje holestaze (Gupta, 2007; Leitner et al, 2010).

Hronična aplikacija sulfadimidin-natrijuma dovodi do boljeg prirasta kada se lek nalazi u optimalnoj dozi ili je subdoziran. Lek dat u takvoj dozi ne izaziva toksične efekte. Povišene koncentracije leka dovode do pada telesne mase i poremećaja funkcije jetre i bubrega. Toksični efekat leka zavisi od doze, ali je racionalna upotreba leka sa aspekom dužine primene leka, takođe, neophodna.

Tabela : Kretanje mase tela i ogana kod pacova u oglednom periodu

	Kontrolna	Grupa O1	Grupa O2	Grupa O3
Telesna masa (g)	407	421	413,2	274 ^{a,b,c}
SD	50	35	30,5	31,4
Apsolutna masa jetre (g)	10,4	10,7	10,5	7,5 ^{a,b,c}
SD	1,8	1,4	1,4	0,8
Relativna masa jetre (%)	2,56	2,6	2,54	2,76
SD	0,33	0,36	0,31	0,32
Apsolutna masa bubrega (g)	2,5	2,3	2,5	1,9 ^{a,b,c}
SD	0,4	0,2	0,3	0,2
Relativna masa bubrega (%)	0,61	0,54 ^a	0,61	0,68 ^b
SD	0,07	0,02	0,1	0,07

Tabela : Vrednost metabolita krvi kod četiri ispitivane grupe pacova

	Kontrolna	Grupa O1	Grupa O2	Grupa O3
Gvožđe (U/l)	25	24,5	24,7	35 ^c
SD	6,5	6,2	2,9	10
Trigliceridi (mmol/l)	0,6	0,8	0,6	0,3 ^{a,b,c}
SD	0,2	0,3	0,2	0,06
S.cholesterol (mmol/l)	1,4	1,4	1,5	1,9 ^{a,b,c}
SD	0,1	0,1	0,2	0,3
Urea (mmol/l)	6,8	5,5	6,7	10,6 ^{a,b,c}
SD	1,2	1,7	0,7	1,3
Mokraćna kis.(μmol/l)	155	145	187,5	245,2 ^{a,b}
SD	26,8	31,4	56,9	24,9
Kreatinin(μmol/l)	62	44 ^a	39,5 ^a	40,4 ^a
SD	5,7	5,7	4,9	4,9
Alkalna fosfataza (U/l)	191	232,3	189,3	409,8 ^{a,b}
SD	84,6	141,8	28,0	114,0

^a-statistički značajna razlika u odnosu na kontrolu,^b-statistički značajna razlika u odnosu na grupu O1,^c- statistički značajna razlika u odnosu na grupu O2

SKOROVANJE PACIJENATA KOD TRAUMA/BOLESTI NA OSNOVU PATOFIZIOLOŠKIH MARKERA – Upotreba APACHE skor sistema kod ljudi i APPLE skor sistema kod pasa

Dolazak pacijenta sa politraumom u jedinicu intenzivne nege zahteva konstantan monitoring i procenu velikog broja vitalnih parametara, kako bi se predvodo tok procesa i stanja organizma. Za tu svrhu u humanoj medicine je razvijen APACHE sistem skorovanja (eng., Acute Physiologic Assessment and Chronic Health Evaluation II Scoring System), dok je u veterinarskoj medicine kod pasa opisan APPLE (eng., The Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation Score) sistem skorovanja. Ovi skorovi se zasnivaju na merenju opštih kliničkih i patofizioloških markera, čije vrednosti prolaze kroz složen sistem jednačina kada se dobija jedinstvena cifra – skor koja ukazuje na rizik od mortaliteta kao posledica delovanja navedene trauma/bolesti.

Acute Physiologic Assessment and Chronic Health Evaluation (APACHE) II Scoring System

Physiologic Variable†		Point Score								
		+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
1	Temperature, core (°C)	≥41°	39– 40.9°	—	38.5– 38.9°	36– 38.4°	34– 35.9°	32– 33.9°	30– 31.9°	≤29.9°
2	Mean arterial pressure (mm Hg)	≥ 160	130– 159	110– 129	—	70–109	—	50–69	—	≤ 49
3	Heart rate	≥ 180	140– 179	110– 139	—	70–109	—	55–69	40–54	≤ 39
4	Respiratory rate (nonventilated or ventilated)	≥ 50	35–49	—	25–34	12–24	10–11	6–9	—	≤ 5
5	Oxygenation: a) $\text{FIO}_2 \geq 0.5$: use A-aDO ₂	≥ 500	350– 499	200– 349	—	< 200	—	—	—	—
	b) $\text{FIO}_2 < 0.5$: use PAO ₂ (mm Hg)	—	—	—	—	> 70	61–70	—	55–60	< 55
6	Arterial pH	≥ 7.7	7.6– 7.69	—	7.5– 7.59	7.33– 7.49	—	7.25– 7.32	7.15– 7.24	< 7.15
7	Serum sodium (mmol/L or mEq/L)	≥ 180	160– 179	155– 159	150– 154	130– 149	—	120– 129	111– 119	≤ 110
8	Serum potassium (mmol/L or mEq/L)	≥ 7	6–6.9	—	5.5–5.9	3.5–5.4	3–3.4	2.5–2.9	—	< 2.5
9	Serum creatinine (micromol/L or mg/dL); double point score for patients with acute renal failure	≥ 3.5	2–3.4	1.5– 1.9	—	0.6–1.4	—	< 0.6	—	—
10	Hematocrit (%)	≥ 60	—	50– 59.9	46– 49.9	30– 45.9	—	20– 29.9	—	< 20
11	White blood cells (in 1000s)	≥ 40	—	20– 39.9	15– 19.9	3–14.9	—	1–2.9	—	< 1

Score = 15 minus actual GCS (see table Glasgow Coma Scale)

Acute physiology score is the sum of the 12 individual variable points.

Add 0 points for age < 44 years; 2 points, 45–54 years; 3 points, 55–64 years; 5 points, 65–74 years; 6 points ≥ 75 years.

Add chronic health status points: 2 points for elective postoperative patient with immunocompromise or history of severe organ insufficiency; 5 points for nonoperative patient or emergency postoperative patient with immunocompromise or severe organ insufficiency.†

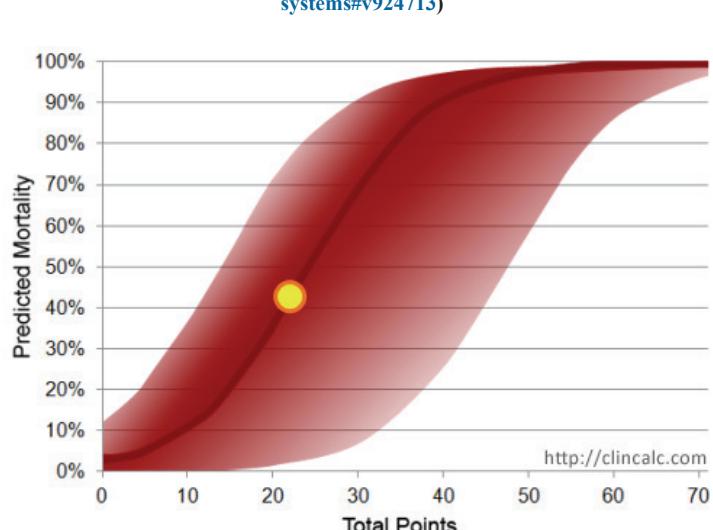
* APACHE II score = acute physiology score + age points + chronic health points. Minimum score = 0; maximum score = 71. Increasing score is associated with increasing risk of hospital death.

† Choose worst value in the past 24 hours.

[‡] Chronic health status: Organ insufficiency (eg, hepatic, cardiovascular, renal, pulmonary) or immunocompromised state must have preceded current admission.

§ This variable is optional; use only if no arterial blood gases are available.
A-a DO₂ = alveolar–arterial oxygen gradient; FIO₂ = fractional inspired oxygen.

ed from Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE: APACHE II: A severity of disease classification system. Critical Care Medicine 13:818-829, 1985.



Onlajn APACHE kalkulator i grafički odnos dobijenog skora i predikcije mortaliteta

(<https://clincalc.com/IcuMortality/APACHEII.aspx?example>)

APPLE_{full} Score SI units

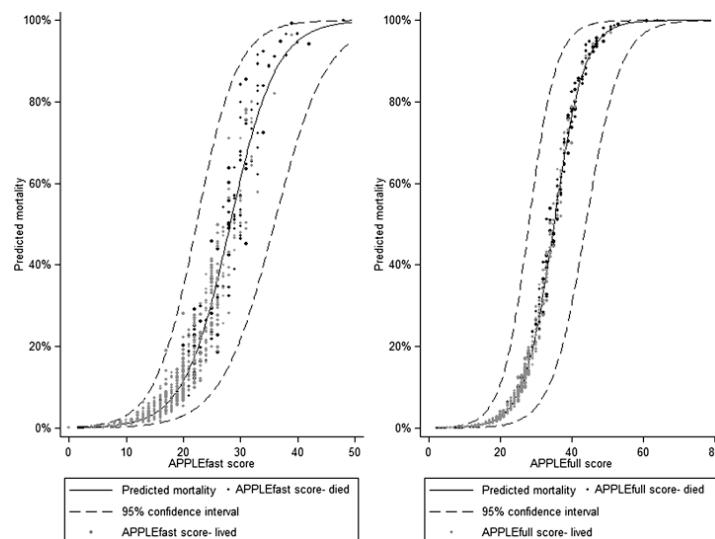
			creatinine (umol/l) 0-55	1 56-120	8 121-200	9 >200
		9 <5.1	wbc ($\times 10^9/l$) 5.1-8.5	2 8.6-18	3 >18	
6 <26	7 26-30	9 31-32	albumin (g/l) 33-35	2 >35		
10 <90	4 90-94	1 95-97	SpO ₂ (%) 98-100			
			total bilirubin (umol/l) 0-4	6 5-8	4 9-16	3 >16
			mentation score 0	5 1	7 2	8 3
			respiratory rate (bpm) <25	3 25-36	5 37-48	6 49-60
			age (years) 0-2	6 3-5	8 6-8	7 >8
	3 2	4 1	fluid score 0			
			lactate (mmol/l) 0-1.9	2 2.0-7.9	3 8.0-11.0	6 >11

Footnote: See Table 3 for calculation of 'fluid score' and 'mentation score'. A value of zero is ascribed for each parameter in the central zone. 'Mentation score' is collected at admission, for all others utilise the most abnormal value identified over the 24 hour period following admission. If history and physical exam fail to prompt assessment of SpO₂ or fluid score, assign zero.

APPLE_{fast} Score SI units

7 <4.6	8 4.6-5.6	9 5.7-9.0	10 9.1-15.0	glucose (mmol/l) >15.0	
8 <26	7 26-30	6 31-32		albumin (g/l) 33-35	2 >35
				lactate (mmol/l) <2	4 2-8 8 8-10 12 >10
5 <151	6 151-200	3 201-260		platelet count 261-420,000	1 >420
				mentation score 0	4 1 6 2 7 3 14 4

Footnote: See Table 3 for calculation of 'mentation score'. A value of zero is ascribed for each parameter in the central zone. 'Mentation score' is collected at admission, for all others utilise the most abnormal value identified over the 24 hour period following admission.



Grafički odnos dobijenog APPLE skora i predikcije mortaliteta kod pasa
(<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1939-1676.2010.0552.x>)

Zadatak za vežbanje: Pronađite na internetu slobodno dostupan onlajn kalkulator za izračunavanje APACHE ili APPLE skora i promenom vrednosti pojedinih patofizioloških markera ocenite kako se menja rizik za nastanak nepovoljnog ishoda odnosno mortaliteta. Pokušajte da objasnite kako promene u vrednostima pojedinačnih parametara utiču na rizik za nastanak mortaliteta, a kako se taj rizik menja kada postoje promene u vrednostima više parametara.

Interpretacija:

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Šta je patološka fiziologija?
2. Koje su metode patološke fiziologije?
3. Zdravlje je:
 - a) fizičko blagostanje
 - b) psihičko blagostanje
 - c) potpuno fizičko, psihičko i socijalno blagostanje*

4. Etiologija je nauka o:

- a) uzroku bolesti*
- b) toku bolesti
- c) patološkim promenama
- d) lečenju bolesti

5. Kako se dele etiološki činioci?

6. Kako glasi Arnd-Šulcov zakon vezan za kvalitet i kvantitet delovanja etioloških činilaca?

7. Šta proučava patogeneza?

8. Od čega zavisi pleotropizam etioloških činilaca?

9. Kako se dele bolesti prema toku i trajanju?

10. Nabroj 4 faze bolesti

11. Latentni period bolesti je:

- a) period od momenta kada agens dođe u dodir sa organizmom do pojave prvih nespecifičnih znakova bolesti*
- b) period od momenta kada agens dođe u dodir sa organizmom do pojave prvih specifičnih znakova bolesti
- c) period kada se vide specifični znaci bolesti
- d) period stišavanja patološkog procesa

12. Recidiv je:

- a) ponovno manifestovanje bolesti posle kliničkog ozdravljenja*
- b) povratak u fizioško stanje
- c) faza oporavka
- d) ništa od navedenog

13. Smrt može nastati usled:

- a) prestanka rada srca
- b) prestanka disanja
- c) prestanka moždane funkcije
- d) sve navedeno je tačno*

14. Osnovni uzroci čelijske smrti su:

- a) hiperkapnija
- b) hipokapnija
- c) hipoksija*
- d) metabolička acidozija.*

15. Klinička smrt se karakteriše:

- a) prestankom svih vitalnih funkcija,*
- b) očuvanom srčanom akcijom i paralizom disanja,

- c) paralizom disanjai padom krvnog pritiska.
16. Biološka smrt se karakteriše:
- a) reverzibilnim promenama u centralnom nervnom sistemu i drugim tkivima,
 - b) ireverzibilnim promenama u centralnom nervnom sistemu i drugim tkivima.*
17. Rana (vulnus) je:
- a) lokalna mehanička povreda,*
 - b) opšta mehanička povreda.
18. Blast sindrom je:
- a) lokalna mehanička povreda,
 - b) opšta mehanička povreda,*
 - c) nije mehanička povreda.
19. Crush sindrom je:
- a) lokalna mehanička povreda,
 - b) opšta mehanička povreda,*
 - c) nije mehanička povreda.
20. Koje od navedenih tvrdnji za opekomine su tačne:
- a) rani šok (prvih 6-12h) nastaje zbog hipovolemije izazvane plazmorejom i nadražaja ogoljelih nervnih završetaka,*
 - b) akutna bubrežna insuficijencija retko nastaje u opekominama,
 - c) dehidracija u opekomina je hipertonija (ćelijska),
 - d) hipoalbuminemija je posledica gubitka plazme i pojačanog raspadanja belančevina na mestu opekomine,*
 - e) defibrinacioni sindrom - diseminovana intravaskularna koagulacija (DIK) može da se javi u opekominama.*
21. Najosetljivije ćelije na ionizujuće zračenje su:
- a) germinativne ćelije (gameti),*
 - b) ćelije kostne srži,*
 - c) ćelije hrskavice,
 - d) mišićne ćelije,
 - e) epitelske ćelije creva.*
22. Najvažniji put unošenja hemijskih materija u organizam je:
- a) respiratorni trakt*
 - b) koza i sluzokoza
 - c) digestivni trakt
23. Hemijski etiološki faktori mogu biti:
- a) egzogeni i endogeni*
 - b) prirodni i veštački*
 - c) neorganski i organski*
 - d) direktni i indirektni

24. Hemijski etiološki faktori ostvaruju toksične efekte:

- a) direktnim delovanjem*
- b) povećanim utroškom kiseonika
- c) konverzijom u reaktivne metabolite*
- d) kompetitivnim delovanjem*
- e) utroškom slobodnih radikala
- f) remećenjem jonske i osmotske ravnoteže*
- g) blokiranjem enzima*

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Opšta reakcija ćelije na povredu i ćelijska smrt
2. Patofiziologija hipoksije, reperfuzije i hiperoksije
3. Patofiziologija inflamacije
4. Lokalni i sistemski efekti i ishodi inflamacije
5. Patofiziologija groznice
6. Patofiziologija šoka
7. Sepsa, septični šok i SIRS
8. Patofiziologija stresa
9. Genski etiološki faktori - hromozomske aberacije
10. Genski etiološki faktori - mutacije
11. Patofiziologija starenja
12. Patofiziologija blast mehaničkih povreda
13. Patofiziologija delovanja promena u vazdušnom pritisku
14. Patofiziologija kraš mehaničkih povreda
15. Patofiziologija lokalnih mehaničkih povreda - rana
16. Patofiziologija sistemskog delovanja visokih ambijentalnih temperatura
17. Patofiziologija opeketina i opeketinske bolesti
18. Patofiziologija delovanja niskih ambijentalnih temperatura
19. Patofiziologija delovanja hemijskih etioloških faktora i intoksikacija
20. Patofiziologija delovanja zračenja
21. Patofiziologija delovanja električne energije
22. Patofiziologija kinetoza
23. Patofiziologija delovanja bioloških etioloških faktora

PATOFIJOLOGIJA INFLAMACIJE I IMUNOLOŠKOG SISTEMA

Inflamacija je odgovor ćelija, tkiva i organa na štetne endogene i egrzogene faktore. Osnovni znaci zapaljenja su: crvenilo, otok, bol, temperatura i oštećenje funkcije. Postoje i brojne sistemske promene koje nastaju tokom inflamacije, a predstavljaju odgovor akutne faze, koji se manifestuje brojnim hematološkim i hematohemijskim promenama.

U postupku dijagnostike inflamacije postoje dva puta. Specifične metode koje detektuju uzročnika, biološki ogledi i serološke reakcije, koje spadaju u domen mikrobiologije i imunologije. Patofiziološka dijagnostika predstavlja ispitivanje univerzalnog odgovora organizma na inflamaciju. U toku ovog procesa dolazi do promena u hemodinamici: transudacija i eksudacija, hemotaksa i fagocitoza. Sistemski efekti akutne inflamacije se manifestuju u vidu febre, promena u plazmi, promena u broju leukocita i sedimentaciji eritrocita. Patofiziološko ispitivanje zapaljenja predstavlja dokazivanje promena proteina plazme ili seruma, povećanja koncentracije fibrinogena, ispitivanje sedimentacije eritrocita, dokazivanje proteina akutne faze i nekih specifičnih belančevina krvne plazme, određivanje diferencijalna krvne slike i dr.

U toku dijagnostičkog postupka najvažnije je pravilno postaviti i protumačiti algoritam ispitivanja koji podrazumeva pravilno postavljena pitanja i odgovore u postupku dijagnostike inflamacija, a to su:

1. Da li u organizmu postoji proces upale ili nekroze? Ukoliko postoje trebao bi da postoji neki kardinalni znaci upale i/ili neke od promena u krvnoj slici i promena u belančevinama krvne plazme;
2. Da li je zapaljenje akutno ili hronično? Ukoliko postoji povećanje koncentracije proteina akutne faze, što se u elektroforezi ispoljava porastom alfa frakcije globulina, smatramo da postoji akutni proces. Na hronično zapaljenje ukazuje povećanje koncentracije svih klasa gammaglobulina;
3. Da li je zapaljenje izazvano bakterijama, virusima ili je aseptično? Neutrofilija prati bakterijske infekcije, limfocitoza prati virusne infekcije, dok blaga neutrofilija ukazuje na aseptični proces;
4. Kakav je ishod zapaljenja? Najbolje je pratiti sedimentaciju eritrocita, belu krvnu sliku i fibrinogen, čija normalizacija nalaza ukazuje na ozdravljenje.

Sedimentacija eritrocita se određuje u pipeti po Westergreenu, promera 2,5mm sa podeocima od po 1 mm. Postupak je sledeći: pacijentu se izvadi krv, koja se pomeša sa antikoagulansom tako da odnos krvi:citrat (antikoagulans) bude 4:1, krv sa antikoagulansom se uvuče u pipetu do oznake 0, pipeta se postavi uspravno u stalak i očitava se za 1 čas, 2 časa, a po potrebi i duže. U zapaljenskom procesu sedimentacija eritrocita je ubrzana, a brzina sedimentacije govori o jačini inflamatornog procesa. Ubrzana sedimentacija je karakterističan nalaz kod anemije, oligocitemije i hiperlipemije. Sedimentacija je najbrža kod konja, dok je najsporija kod preživara, kod kojih se preporučuje da se pipeta ukosi kako bi sedimentacija bila vidljivija. Fiziološke vrednosti posle 1 sata sedimentiranja eritrocita u pipeti su: kod konja 69, govečeta 1, ovce/koze 1-4, svinja 2-8, pasa 0,5-8, čoveka 1-3(muškarci) i 3-5 (žene). Posle 2 sata

vrednosti sedimentacije su sledeće: kod konja 71, govečeta 2, ovaca/koza 3-10, pasa 1-26, čoveka 4-6 (muškarci) i 6-10 (žene).

Pri pregledu bele loze hematološkim analajzerom ili brojanjem u komoricama najčešće se primećuje povećan broj elemenata bele loze, osim u određenim masovnim virusnim infekcijama. Limfocitoza može biti apsolutna ili relativna. Neutrofilija u perifernoj krvi postoji kada je nalaz neutrofila preko 75%.

Pri analizi bele loze treba misliti o određenim species-specifičnim nalazima. Kod goveda u akutnoj upali najpre dolazi do neutropenije i leukopenije, uz skretanje neutrofila u levo, a kako inflamacija napreduje broj elemenata bele loze raste. Kod hroničnih infekcija dominiraju zreli segmentirani neutrofili sa monocitom, a ukupan broj leukocita može ostati u fiziološkim granicama. Virusne infekcije goveda dovode do leukopenije uzrokowane neutropenijom. Kod svinja dominiraju limfociti, a u upali se povećava broj neutrofila. Apsolutni broj neutrofila može biti prediktivni faktor zaštite zdravlja svinja čak i pre infekcije. Kod pasa i mačaka se javlja leukocitoza, neutrofilija i često monocitoza. U toku teškog zapaljenskog procesa može se javiti leukopenija sa neutropenijom i skretanje neutrofila u levo. Hronična zapaljenja prati normalan ili povećan broj leukocita sa nalazom zrelih neutrofila.

Sledeća metoda za ispitivanje zapaljenskog procesa je koncentracija fibrinogena. Fibrinogen se određuje reakcijom sa amonijum-sulfatom. Fibrinogen u prisustvu određene koncentracije amonijum-sulfata i pri određenoj vrednosti pH koaguliše u vidu sitnih agregata, koji prave zamućenje i određuju se turbidimetrijski. Za izvođenje analize se koristi krv sa oksalatom ili citratom, a pre analize treba odvojiti krvnu plazmu. U toku upalnih procesa koncentracija fibrinogena kao proteina akutne faze je povišena.

Pored fibrinogena postoje i drugi značajni proteini akutne faze čija koncentracija raste u inflamaciji. Značajni su haptoglobin, serum amiloid A, alfa kiseli glikoprotein, ceruloplazmin, C-reaktivni protein (nema klinički značaj kod preživara), alfa 1-antitripsin i alfa 2-makroglobulin. U akutnoj inflamaciji proteini akutne faze mogu porasti više stotina i hiljada puta, a određuju se metodama ELISA testa ili nefelometrijom. Za određivanje C-reaktivnog proteina koristi se Latex-CRP reagens koji daje reakciju aglutinacije vidljivu golim okom (rezultat se u odnosu na intenzitet obeležava sa jednim do četiri krstića).

C3 frakcija komplementa se određuje imunometrijski. Koncentracija C3 frakcije raste prateći proteine akutne faze, a može opadati zbog stvaranja imunih kompleksa. Istom metodom se određuju i interleukini.

Frakcije serumskih proteina se određuju elektroforezom. Kod analize akutnog zapaljenja nalazimo porast koncentracije α_1 i α_2 frakcije globulina (zbog porasta koncentracije proteina akutne faze) i pada koncentracije beta frakcije (zbog izlaska transferina u intersticijum). Ukoliko se javi porast koncentracije imunoglobulina govorimo o hroničnoj inflamaciji i aktivaciji humoralnog imuniteta.

Kod akutnog bakterijskog zapaljenja dobijamo srednje izraženu vrednost sedimentacije eritrocita, leukocitozu, izraženu neutrofiliju i relativnu limfopeniju. U razmazu krvi se vide nesegmentirani leukociti sa skretanjem krvne slike u levo. Koncentracija fibrinogena je vrlo povišena, a koncentracija albumina je snižena zbog izlaska albumina iz krvotoka. U ovom

procesu proteini akutne faze su povišeni. Kod virusna zapaljenja u akutnom toku dolazi do usporene sedimentacije, a broj leukocita u perifernoj krvi je snižen (zbog hemotakse i infiltracije u tkiva). U krvnoj slici je vidljiva relativna neutropenija, sa limfocitom i monocitom. Koncentracija fibrinogena i proteina akutne faze je blago povišena. Kod nespecifičnih upala postoji slab odgovor akutne faze i javljaju i znaci specifične obrane (antitela). Sedimentacija eritrocita je vrlo ubrzana, a razvija se i eozinofilija, uz visoku koncentraciju fibrinogena. Kod hronične nespecifične upale javljaju se znaci slični akutnoj upali, uz razvoj anemije zbog gubitka Fe i transferina.

Patogeneza poremećaja imunog sistema dovodi do nekoliko pravaca razvoja bolesti i to: recidivirajuće infekcije, oportunističke infekcije, sklonost ka neoplazmama i autoimune bolesti.

Veterinarskoj medicini je poznat veći broj autoimunih bolesti. Kod bolesti zglobova koji daju kliničku sliku upale i ne reaguju na antiinflamatornu terapiju sumnja se na reumatoidni artritis. Ovaj poremećaj se dijagnostikuje određivanjem reumatoidnog faktora (autoantitela) u reakciji aglutinacije. Pozitivan rezultat postoji kod imunoposredovanog reumatoidnog astritisa, sistemskog lupusa eritematozusa, Sjogrenovog sindroma, bakterijskog endokarditisa, dirofilarioze, osteoartritisa i hroničnih virusnih infekcija. Pri korišćenju ovih analiza važno je napomenuti da zamrznuti serumi često daju lažno negativnu reakciju, te zato uvek treba raditi sa svežim serumom.

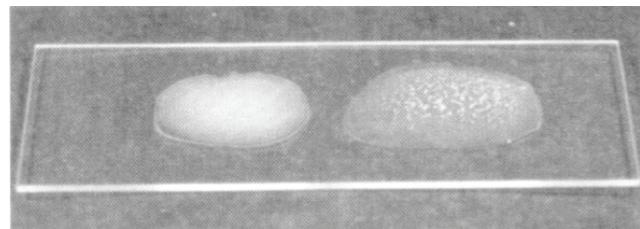
Dijagnostika lupusa eritematozusa vrši se ispitivanjem neutrofila sa citoplazmatskim inkruzionim fagocitovanim materijalom. Fagocitoza nastaje kao posledica opsonizacije ćelija antinuklearnim autoantitelima (ANA). Fagocitovane inkruzije su ružičasto ili tamnocrvene boje. Ove ćelije se nazivaju ćelije lupusa eritematozusa (eng. abr. LE cells). U sistemskom lupusu eritematozusu klinički dominiraju znaci glomerulonefritisa i vaskulitisa, zbog položenja kompleksa, što predstavlja vrlo značajnu orientaciju za klinički rad.

Zadaci za vežbanje

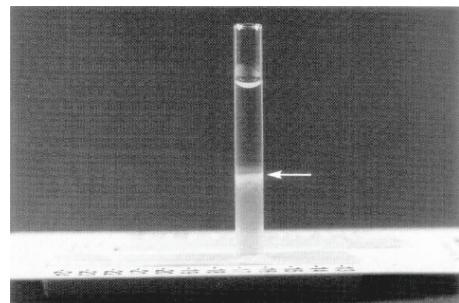
Zadatak 1: Nacrtajte dijagrame kretanja telesne temperature karakteristične za febris continua, febris remittens, febris intermittens i febris recurens.

Zadatak 2: Aglutinacija i precipitacija su po mehanizmu reakcije antigen-antitelo veoma slične reakcije. Navedite u kojim uslovima se dešava aglutinacija a u kojim precipitacija i od čega zavisi koji će se tip reakcije javiti.

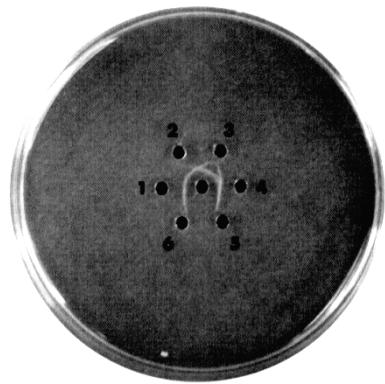
Zadatak 3: Na fotografiji je prikazana reakcija aglutinacije. Nacrtajte šemu u kojoj ćete opisati aglutinaciju i obeležiti pozitivnu reakciju.



Zadatak 4: Na fotografija je predstavljena zona precipitacije. Navedite elemente od kojih zavisi vidljivost kompleksa AG-AT u reakciji precipitacije i nacrtajte krivu.



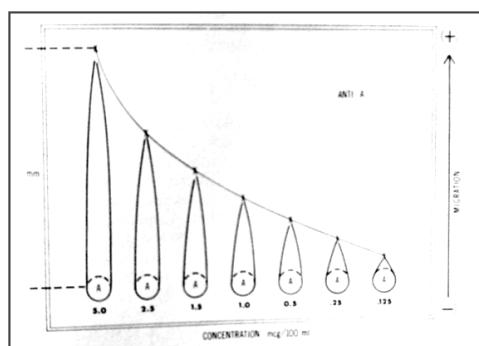
Zadatak 5: Na fotografiji je prikazan agar gel imunodifuzni test. Objasni principe ovog testa i način očitavanja rezultata.



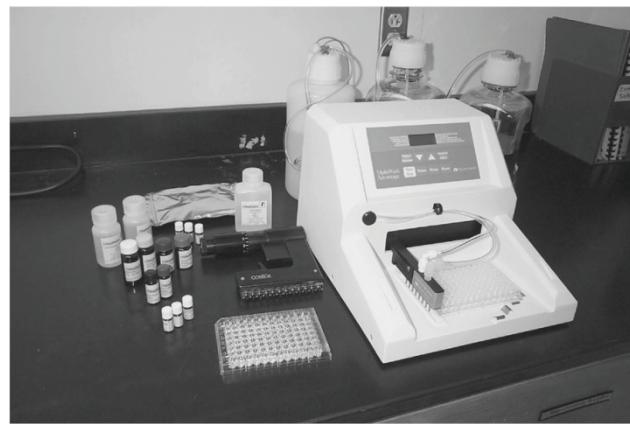
Zadatak 7: Objasni principe kvantifikacije radioimunodifuzije i formiranje krive koncentracije.

Zadatak 8: Nacrtajte sisteme u reakciji vezivanja komplementa (RVK) i objasnite kako se tumači rezultat reakcije.

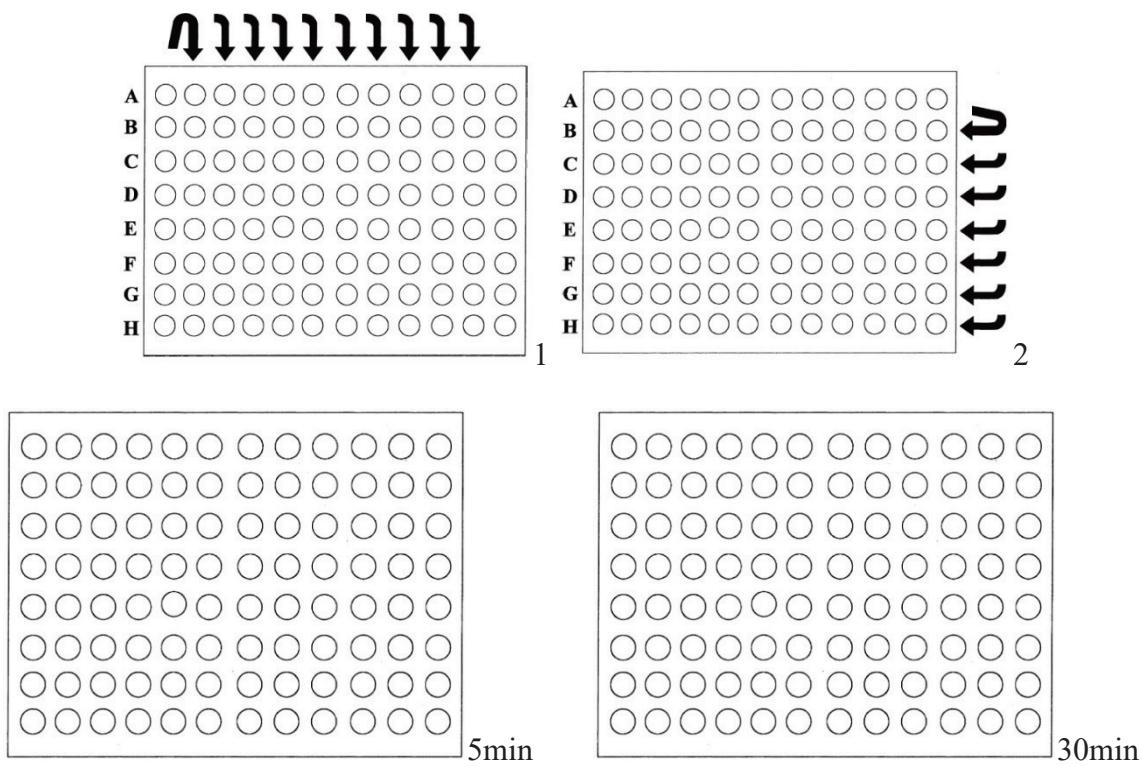
Zadatak 9: Na slici je prikazan rezultat elektroimunodifuzije. Objasnite ovu metodu i tumačenje rezultata koji se dobijaju ovom analizom.



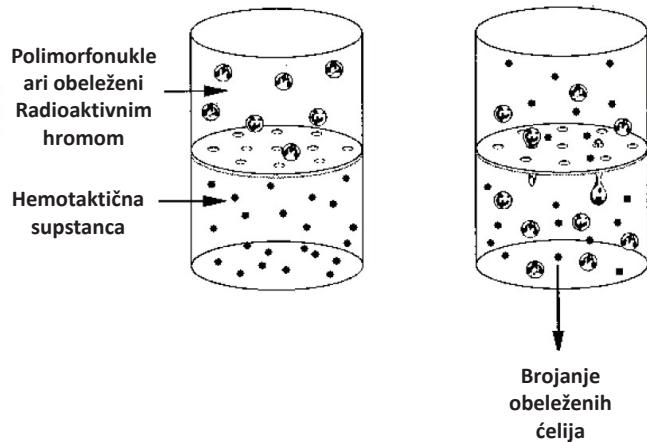
Zadatak 10: Na slici je prikazana aparatura i reagensi za izvođenje ELISA testa. Obeležite sve značajne elemente ovog aparata.



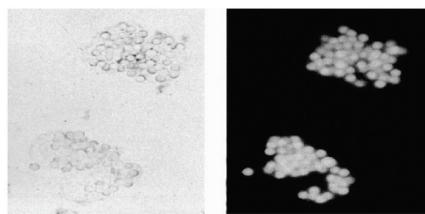
Zadatak 11: Na prikazanoj ploči za mikrotitraciju izvršena je dilucija antiga u poljima od 1-11, a posle ispiranja i inkubacije vršena je dilucija antitela od A do H. Ubeležite u prazna polja mikroploče očekivanu promenu boje posle 5 i 30 minuta tako što ćete intenzitet boje obeležiti od najslabije do najjače sa: -, ±, +, ++,+++



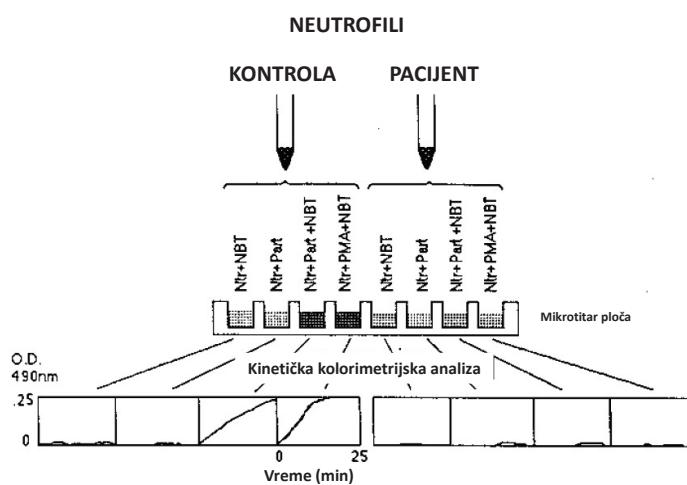
Zadatak 12: Na slici je data šema testa hemotaksije neutrofila. Objasni ovaj test pomoću navedene šeme.



Zadatak 13: Na fotografijama je prikazan test fagocitoze. Objasni principe fagocitnog testa.

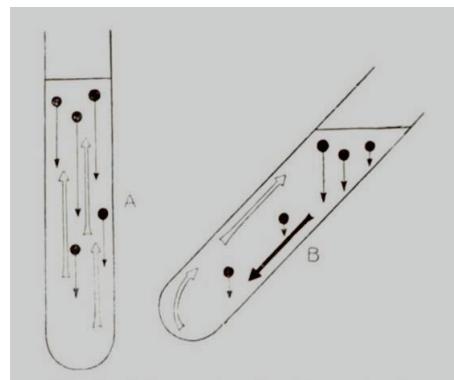


Zadatak 14: Na šemi je prikazana reakcija bojenja neutrofila nitroblu-tetrazolijumom. Objasni značaj i upotrebu nitroblu-tetrazolijum kinetičke metode u imunološkim merenjima



Zadatak 15: Navedite elemente osnovne elemente dijagnostike inflamacije.

Zadatak 16: Na fotografiji je prikazan postupak sedimentacije eritrocita. Kako sed određuje i tumači brzina sedimentacije eritrocita?



Zadatak 17: Navedite značaj proteina akutne faze i metode kojima se oni određuju?

Zadatak 18: Navedite naziv frakcija serumskih proteina koje rastu u akutnim i u hroničnim inflamacijama?

Zadatak 19: AGID i kvantifikacija radioimunodifuzije u patološkoj fiziologiji

Zadatak 20: ELISA, principi, izvođenje, vrste i primena u patološkoj fiziologiji

Zadatak 21: Racionalna dijagnostika zapaljenja-pitanja koja treba postaviti

Zadatak 22: Specifične i nespecifične metode dijagnostike zapaljenja

Zadatak 23: Određivanje sedimentacije eritrocita

Zadatak 24: Dokazivanje CRP

Zadatak 25: Dokazivanje i procena Ig

Slučaj:

Dijagnoza: Idiopatska imuna hemolizna anemija

Hematology

RBC	1.67 M/ μ L	Low	(5.50 - 8.50)	[■]			
HCT	12.8 %	Low	(37.0 - 55.0)	[■]			
HGB	4.0 g/dL	Low	(11.9 - 18.0)	[■]			
MCV	76.7 fL		(60 - 77)			[■]	
MCH	24.13 pg		(19.36 - 24.36)			[■]	
MCHC	31.5 g/dL	Low	(31.6 - 35.6)	[■]			
WBC	177.80 K/ μ L	High	(6.00 - 17.00)				
NEU	153.80 K/ μ L	High	(3.00 - 11.50)				[■]
Band	15.70 K/ μ L	High	(0.00 - 0.60)				[■]
LYM	3.25 K/ μ L		(1.00 - 3.60)			[■]	
MONO	4.29 K/ μ L	High	(0.04 - 1.35)			[■]	
EOS	0.76 K/ μ L		(0.00 - 1.25)		[■]		
PLT	128 K/ μ L	Low	(150 - 500)		[■]		

Chemistry

BUN	28 mg/dL	High	(10 - 24)				[■]
CREA	0.9 mg/dL		(0.5 - 1.4)			[■]	
Ionized Calcium	5.9 mg/dL		(5.3 - 6.0)			[■]	
Na	151 mmol/L		(141 - 152)			[■]	
K	3.5 mmol/L	Low	(3.6 - 5.4)		[■]		
TP	6.5 g/dL		(5.4 - 7.1)				
ALB	2.8 g/dL		(2.6 - 3.3)		[■]		
GLOB	3.7 g/dL		(2.7 - 4.4)		[■]		
ALT	123 U/L	High	(0 - 55)				[■]
ALKP	890 U/L	High	(0 - 97)				[■]
TBIL	0.3 mg/dL	High	(0.0 - 0.2)			[■]	
CHOL	339 mg/dL	High	(135 - 270)			[■]	
TRIG	96 mg/dL		(26 - 344)		[■]		
GLU	90 mg/dL		(65 - 118)		[■]		

Tumačenje:

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Šta je zapaljenje?

2. Perakutna zapaljenja:

- a) Nastaju naglo, traju kratko, bez jasno vidljivih kliničkih znakova, uglavnom se završavaju smrću*
- b) Odlikuju se jasno vidljivim znacima upale i završavaju regeneracijom
- c) Daju jasan imunološki odgovor
- d) Ništa od navedenog nije tačno

3. Hronična zapaljenja mogu nastati na dva načina i to su: _____.

4. Nabroj osnovne znake inflamacije na srpskom i latinskom jeziku (5).

5. Promene u hemodinamici koje nastaju tokom inflamacije idu sledećim redosledom:

- a) Vazokonstrikcija pa vazodilatacija*
- b) Vazodilatacija pa vazokonstrikcija

6. Vazokonstrikcija u inflamaciji:

- a) Traje par sekundi*
- b) Traje par minuta
- c) Traje par sati

7. Za ranu vazodilataciju je karakteristično:

- a) Javlja se nekoliko minuta posle početne vazokonstrikcije*
- b) Dovodi do povećanog protoka krvi kroz zapaljeno područje*
- c) Javlja se rubor i calor*
- d) Pada filtracioni pritisak
- e) Ne javlja se transudat

8. Tokom kasne vazodilatacije razvija se:

- a) Transudat
- b) Eksudat*

9. Povećana propustljivost krvnih sudova nastaje kao posledica delovanja:

- a) Histamina*
- b) Bradikinina
- c) Epinefrina
- d) Serotonin

10. Antihistaminici mogu u potpunosti sprečiti kasnu fazu vazodilatacije.

DA

NE*

11. Staza krvi u zapaljenskoj regiji:

- a) Nastaje zbog gubitka tečnosti iz dilatiranih krvnih sudova

- b) Dovodi do slepljivanja eritrocita
- c) Dovodi do potiskivanja leukocita prema endotelu krvnih sudova za koje se vežu
- d) Sve navedeno je tačno*

12. Koje vrste selektina postoje?

- a) A,B i C
- b) S1,S2 i S3
- c) P,E i L*
- d) Alfa,beta i gama

13. Za vezivanje leukocita za endotel krvnih sudova najčešće su zaduženi:

- a) Beta1 integrini
- b) Beta2 integrini*
- c) Beta3 integrini

14. Šta je dijapedeza?

15. Šta je hemotaksa i nabroj najmanje tri hemotaktične supstance.

16. U toku akutne inflamacije kod psa učekujemo:

- a) Dominaciju neutrofila u prvih 6-24 časa
- b) Dominaciju monocita u prvom danu inflamacije
- c) Dominaciju neutrofila u prvih 6-24 časa, a zatim ih zamenjuju monociti*

17. U toku virusnih infekcija dominantna ćelijska populacija su:

- a) Bazofili
- b) Neutrofili
- c) Limfociti*
- d) Monociti

18. Fagocitoza je mehanizma koji se sastoji od tri međusobno povezane faze i to su: _____
_____.

19. Osnovni proces u fagocitozi je:

- a) intracelularna digestija*
- b) hemotaksa

20. Šta je fagozom?

21. Frustrirajuća fagocitoza se dešava:

- a) kada se enzimi fagocita oslobađaju u međućelijsku sredinu*
- b) kada nema dovoljno lizozomalnih enzima
- c) kod taloženja imunih kompleksa na velikoj površini*
- d) ništa od navedenog

22. Kortikosteroidi se koriste kao antiinflamatorni lekovi, a njihov mehanizam delovanja se zasniva na sledećem: _____.

23. IL-5 je bitan hemotaktički faktor za:

- a) Neutrofile
- b) Eozinofile*
- c) Bazofile
- d) Monocyte

24. Za nastanak hiperpireksije, inapetence i povećano lučenje proteina akutne faze posebno je odgovoran:

- a) IL-1*
- b) IL-12
- c) IL-18
- d) TNF

25. U stadijumu incrementi groznica nastaje isključivo kao posledica delovanja proinflamatornih citokina.

DA
NE*

26. Brzi, rani skok temperature nastaje usled lokalnog oslobađanja norepinefrina u preoptičkom jezgru hipotalamus, aktivacijom neuronskih alfa-1 adrenoceptora, bez učešća preoptičkih prostaglandina. DA* NE

27. Šta je resorptivna febra?

28. Febris intemittens pokazuje varijacije od jednog stepena i praćenja je naizmeničnom drhtavicom i znojenjem.

DA*
NE

29. Glavni medijator toksičnog šoka i sepse je:

- a) IL-1
- b) IL-12
- c) IL-18
- d) TNF*

30. Griznicu u toku upale izazivaju sledeći proinflamatori citokini _____ (*nabroj koji*), koje sintetišu _____ (*napiši koje vrste ćelija*). Ovi citokini deluju na termosenzitivne neurone u preoptičkim jezgrima stimulišući sintezu _____, koji menjaju prag osetljivosti termostata.

31. Povećanu sintezu proteina akutne faze stimulišu citokini, a posebno:

- a) IL-1*
- b) IL-6*
- c) IL-12
- d) IL-18

32. Fiziološki koncentracija proteina akutne faze iznosi

- a) 1% plazmatskih proteina
- b) 5% plazmatskih proteina
- c) 10% plazmatskih proteina*
- d) 20% plazmatskih proteina

33. Nabroj barem 5 proteina akutne faze.

34. Povišeni nivo haptoglobina nalazi se u akutnim inflamacijama:

- a) Bakterijske etiologije*
- b) Virusne etiologije
- c) Gljivične etiologije
- d) Kod prionskih bolesti

35. Serum amiloid A vrlo je krotistan u ranoj detekciji infekcije:

- a) Vimena krava*
- b) Jetre
- c) Bubrega
- d) CNSa

36. Ceruloplazmin je:

- a) Brzoreagujući protein akutne faze
- b) Spororeagujući protein akutne faze*

37. Nabroj šest vrsta citokina.

38. Koncentracija C-reaktivnog proteina raste i kod lakih infekcija, često i bez znakova hematoloških poremećaja.

DA*
NE

39. Koncentracija CRP kod goveda uvek raste tokom akutne faze.

DA
NE*

40. Sedimentacija eritrocita tokom upale je ubrzana zbog:

- a) Povećane koncentracije akutnih proteina*
- b) Hiperlipidemije
- c) Razvoja anemije u hroničnom toku*

41. Apsolutni broj neutrofila kod svinja je vrlo osetljiv pokazatelj zaštite u toku bolesti, čak i pre njenog kliničkog ispoljavanja.

DA*
NE

42. Katabolizam tokom upale dešava se zato što proinflamatorni citokini stimulišu lučenje:

- a) Glukagona
- b) Prostaglandina*
- c) Glukokortikoida*
- d) Aldosterona

43. Nabroj 4 moguća ishoda akutne inflamacije.

44. Hronična inflamacija ima sledeće osobine:

- a) Infiltracija zapaljenskog područja mononuklearima
- b) Tkivnom destrukcijom
- c) Zamena oštećenog tkiva vezivom
- d) Sve navedeno je tačno*

45. Nabroj četiri faze stvaranja ožiljnog tkiva po redosledu.

46. Kod životinja sa deficitom imunoglobulina, komponenti komplementa ili fagocita javljaju se:

- a) Recidivirajuće infekcije bakterijske etiologije*
- b) Recidivirajuće infekcije virusne etiologije

47. Usled nedostatka T limfocita najčešće dolazi do _____ infekcija.

48. Za dijagnostiku kombinovane imunodeficijencije arapskih konja neophodno je da postoje sledeći kriterijumi:

- a) Mali broj ili odsustvo cirkulišućih limfocita
- b) Hipoplazija limfatičnih organa
- c) Odsustvo IgM iz seruma pre uzimanja kolostruma
- d) Dva od tri navedena kriterijuma*

49. T imunodeficijencija mačaka odlikuje se:

- a) Hipotrihозом*
- b) Hipertrihозом
- c) Bez razvoja timusa*
- d) Puno limfocita u parakorteksu limfnih čvorova koji nisu funkcionalni

50. FeLV virus može da izazove:

- a) Supresiju T limfocita
- b) Blokadu odgovora T ćelija na citokine
- c) Hemolitičku anemiju
- d) Sve navedeno je tačno*

51. Pored karakteristike reakcije preosetljivosti napiši kome tipu pripada:

- a) IgE se vezuju za membranu mastocita, eozinofila i bazofila _____
- b) Stvaranje imunih kompleksa _____
- c) IgG i IgM se vezuju za membranu ćelija i tkiva, a aktivirajući komplement i efektorske ćelije _____
- d) Reakcija kasne preosetljivosti _____

52. Reakcija preosetljivosti tipa I dešava se:

- a) Posle prvog kontakta životinja sa antigenom
- b) Posle ponovnog kontakta senzibilisane životinje sa antigenom

53. Senzibilizacija tokom hipersenzitivne reakcije tipa jedan podrazumeva vezivanje _____ (kog tipa Ig), za specifične *Fc/Fab receptore* (zaokruži tačan odgovor) sledećih vrsta ćelija _____.

54. Hipersenzitivna reakcija tipa I može biti opšta ili lokalna što zavisi od:

- a) Stepena senzibilizacije životinje
- b) Količine unetog antiga
- c) Načina ulaska antiga u organizam
- d) Svi odgovori su tačni*

55. Nabroj vazodilatatorne medijatore koji učestvuju u anafilaktičkoj reakciji (3)

56. Anafilaktočki šok kod goveda ima sledeće karakteristike:

- a) Javlja se sistemska hipertenzija
- b) Javlja se plućna hipertenzija*
- c) Organ šoka je burag
- d) Histamin nije najbitniji medijator ove preosetljivosti*
- e) Javlja se učestalo mokrenje i defekacija*
- f) Može se javiti edem pluća*

57. Kod ovaca u toku anafilaksije reaguju digestivni i respiratorni organi, ali dominantniju sliku daju:

- a) Digestivni simptomi
- b) Respiratori simptomi*

58. Teška dijareja tokom anafilaktičke reakcije kod konja nastaje kao posledica:

- a) Gastritis
- b) Vazodilatacije krvnih sudova
- c) Hemoragičnog kolitisa*
- d) Torzije kolona

59. Kod svinja se tokom anafilaktičke reakcije dešava:

- a) Sistemska i plućna hipertenzija*
- b) Sistemska hipertenzija i plućna hipotenzija
- c) Sistemska hipotenzija i plućna hipertenzija

60. Kod pasa tkivo šoka u anafilaktičkoj reakciji je:

- a) Pankreas
- b) Bubrezi
- c) Jetra*
- d) Slezina

- e) Pluća
- f) Creva

61. Alergija na mleko kod visokomlečnih krava nastaje usled:

- a) Nedovoljnog izmuzanja krava*
- b) Promena na Fisternbergovoj rozeti
- c) Ulaska kazeina u krvotok*
- d) Producetka perioda laktacije preko 500 dana

62. Tokom sistemske anafilaktičke reakcije na sastojke hrane u najvećem procentu sličajeva dešavaju se:

- a) Hemoragične dijareje i povraćanje
- b) Alergijski dermatitis*
- c) Insuficijencija bubrega
- d) Artropatije

63. Tokom hroničnog alergijskog bronhitisa u sputumu se može zapaziti:

- a) Velika količina bakterija
- b) Velika količina virusa
- c) Velika količina eozinofila*
- d) Velika količina bazofila
- e) Velika količina monocita

64. Antigen/antitelo kompleksi u hipersenzitivnoj reakciji tipa II:

- a) Su slobodni u cirkulaciji
- b) Fiksirani su*
- c) Aktiviraju komplement*

65. Za izoimunske hemolitičke anemije tačne su sledeće konstatacije:

- a) Spadaju u reakcije preosetljivosti tipa II*
- b) Nastaje kada plod nasledi krvnu grupu oca, bez obzira na krvnu grupu majke
- c) Nastaje kada plod nasledi krvnu grupu oca, koja se razlikuje od krvne grupe majke*
- d) Ne mora da dođe do kontakta krvi majke i ploda
- e) Mora doći do kontakta krvi majke i ploda*

66. Pemfigus vulgaris nastaje kao posledica preosetljivosti tipa:

- a) I
- b) II*
- c) III
- d) IV

67. Šta čini kliničku sliku pemfigus vulgarisa?

68. Autoimuni glomerulonefritis kao posledica preosetljivosti tipa II najčešće se javlja kod:

- a) Pasa
- b) Mačaka
- c) Konja*

- d) Goveda
69. Myasthenia gravis nastaje kao posledica stvaranja autoantitela protiv:
- a) Adrenalinskih receptora
 - b) Mišićnih vlakana
 - c) Mijelinske opne neurona
 - d) Acetilholinskih receptora*
70. Čime se klinički odlikuje myasthenia gravis?
71. Hipersenzitivna reakcija tipa III odlikuje se:
- a) Slobodnim cirkulišućim Ag/At kompleksima*
 - b) Fiksiranim Ag/At kompleksima
72. Imunski kompleksi mogu da dovedu do sledećih poremećaja:
- a) aktivacija komplementa je deo ove reakcije*
 - b) ne mogu aktivirati makrofage
 - c) Ag/At kompleks može da aktivira trombocite*
 - d) povećavaju vaskularnu propustljivost*
73. Zaokruži tačan odgovor:
- a) ako su antigeni u višku javlja se serumska bolest*
 - b) ako su antitela u višku javlja se serumska bolest
 - c) ako su antitela u višku javlja se Arthusova reakcija*
 - d) ako su antigeni u višku javlja se Arthusova reakcija
74. Opiši kliničku sliku serumske bolesti.
75. Mezangio-proliferativni glomerulonefritis ima tri tipa. Pored opisa navedi kome tipu pripada:
- a) Imuni kompleksi se zadržavaju subendotelno _____
 - b) Imuni kompleksi se zadržavaju u bazalnoj membrani_____
 - c) Imuni kompleksi se zadržavaju subepitelno_____
76. Sistemski lupus eritematozus nastaje kao posledica:
- a) Hipersenzitivne reakcije I i II
 - b) Hipersenzitivne reakcije II i III*
 - c) Hipersenzitivne reakcije III i IV
77. U toku lupusa eritematozusa nastaju antitela na:
- a) Ćeliju opnu
 - b) Citoplazmatske proteine
 - c) Jedro*
78. Kako nastaju i šta predstavljaju ćelije lupusa eritematozusa?

79. U toku lupusa eritematozusa javlja se čitav spektar kliničkih simptoma, što zavisi od toga na šta su stvorena autoantitela.

DA*

NE

80. Lupus kod konja je:

- a) Generalizovana digestivna bolest
- b) Generalizovana kožna bolest*
- c) Generalizovana respiratorna bolest
- d) Generalizovana bubrežna bolest

81. Lupus kod pasa najčešće se manifestuje:

- a) Febrilnim stanjem sa simetričnim artritisom*
- b) Trombocitopenijom
- c) Nervnim poremećajima
- d) Perikarditisom

82. Šta su reumatoidni faktori kod pasa?

- a) Autoantitela na IgM
- b) Autoantitela na IgA
- c) Autoantitela na IgG*
- d) Autoantitela na IgE

83. Hipersenzitivna reakcija tipa IV se može preneti sa jedne životinje na drugu serumom.

DA

NE*

84. Preosetljiva reakcija tipa IV nastaje:

- a) Par minuta po kontaktu senzibilisane jedinke sa antigenom
- b) 1-2 sata posle kontakta senzibilisane jedinke sa antigenom
- c) 24-72 sata posle kontakta senzibilisane jedinke sa antigenom*

85. Očitavanje tuberkulinske kožne probe izvršićete:

- a) U toku sat vremena posle aplikacije tuberkulina
- b) U toku istog radnog dana posle aplikacije tuberkulina
- c) Nijedan od odgovora nije tačan*

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Patofiziologija inflamacije
2. Primarne imunodeficijencije
3. Nedostatak komplementa
4. Poremećaj funkcije leukocita i makrofaga
5. Sekundarne imunodeficijencije
6. Patofiziologija alergijske reakcije preosetljivosti tip I
7. Patofiziologija alergijske reakcije preosetljivosti tip II
8. Patofiziologija alergijske reakcije preosetljivosti tip III
9. Patofiziologija alergijske reakcije preosetljivosti tip IV
10. Patofiziologija autoimunih bolesti

PATOFIJOLOGIJA POREMEĆAJA METABOLIZMA TEČNOSTI, ACIDO-BAZNOG STATUSA I JONA

Postoje četiri osnovne osobine telesnih tečnosti a to su: izovolemija (održavanje stalne zapremine i odnosa telesnih tečnosti), izotonija (održavanja stalnog osmotskog pritiska – koji se javlja između dva rastvora različite koncentracije jona), izojonija (održavanje stalnog kvalitativnog i kvantitativnog sastava i međusobnog odnosa jona) i izohidrija (održavanje stalne koncentracije vodonikovih jona, tj. acido-bazne ravnoteže telesnih tečnosti).

Poremećaj prometa telesnih tečnosti se javlja u vidu: promene volumena telesnih tečnosti (dehidratacija i hiperhidratacija), promene osmolarnosti (hiperosmolarnost/hipertonija ili hiposmolarnost/hipotonija), promene koncentracije pojedinih jona (u smislu hiper ili hipo izmena) i promene acidobazne ravnoteže (acidoza i alkaloza).

Primarni poremećaj telesnih tečnosti, jona i acidobazne ravnoteže je redak slučaj, te se dijagnostički postupci vezani za ovaj sistem, najčešće izvode kao dopunski, uz obaveznu analizu svih mogućih faktora koji mogu da dovedu poremećaja ovog sistema. Neophodno je poznavati osnovne uzroke, koji dovode do poremećaja metabolizma tečnosti, acidobazne ravnoteže i jona.

Uzroci dehidratacije su: smanjen unos vode, povećano odavanje vode (dijareja, povraćanje, znojenje, eksudacija, poliurična faza bubrežne insuficijencije, u dijabetes melitusu i insipidusu).

Uzroci hiperhidratacije su: povećan unos vode i/ili soli, infuzije natrijuma ili bikarbonata, hiperadrenokorticizam, oligurična faza bubrežne insuficijencije, primarni aldosteronizam i dekompenzovana srčana slabost.

Uzroci respiratorne acidoze su: opstrukcija vazdušnih puteva, depresija respiratornog centra (nervne bolesti, lekovi, toksemije), kardiopulmonarni arest, neuromuskularne bolesti (botulizam, miastenija gravis, polimiozitis, hipokalemijska miopatija mačaka), restriktivne bolesti (diafragmatska hernija, pneumotoraks, piotoraks, hemotoraks i fibroza pluća), plućne bolesti (respiratorični distres sindrom, pneumonija, plućni edem, COPD i fibroza pluća).

Uzroci metaboličke acidoze su: diabetična ketoacidoza, uremična acidoza, laktična acidoza, hipoadrenokorticizam, dijareja i renalna tubularna acidoza.

Uzroci respiratorne alkaloze su: levo-desni šant, kongenitivne srčane bolesti, plućne bolesti, neke vrste anemija, nervne bolesti, hepatične bolesti, bol, groznica i hipertireoidizam, mehanička ventilacija.

Uzroci metaboličke alkaloze su: povraćanje, diuretska terapija, oralna primena organskih anjona, hiperadrenokorticizam i primarni hiperaldosteronizam.

Uzroci hiperkalemije su: pseudohiperkalemija (trombocitoza, povećan broj leukocita, hemoliza), smanjenja urinarna ekskrecija kalijuma (uretralna obstrukcija, ruptura uretera, anurijsko ili oligurijsko oštećenje bubrega, hipoadrenokorticizam) i povećan unos kalijuma.

Uzroci hipokalemije su: povraćanje, dijareja, hronične bubrežne bolesti, opstruktivna diureza, diureza u ketoacidozi i aplikacija furosemida.

Uzroci hipernatremije su: gubitak vode bez gubitka soli ili gubitak hipotonične tečnosti (povraćanje, dijareja, opstrukcija tankih creva, pankreatitis, peritonitis, osmotska dijareja u diabetusu) i povećan unos soli.

Uzroci hiponatremije: poremećaji sa normalnom osmolarnošću (hiperlipidemija, izražena hiperproteinemija), poremećaji sa povišenom osmolarnošću (hiperglikemija) i poremećaji sa smanjenom osmolarnošću (hiperhidratacija, bolesti jetre sa ascitesom, kongestivne srčane bolesti, nefrotski sindrom, uznapredovale renalne bolesti, proliv, dijareja, gubici preko kože, peritonemua, psihogena polidipsija, sindrom nedovoljnog lučenja ADH i miksedemska koma u hipotireoidizmu).

Uzroci hiperkalcemije: višak PTH, vitamina D3 i veliki unos Ca putem hrane.

Uzroci hipokalcemije: malapsorpcija promene u lučenju i delovanju PTH i promene u metabolizmu vitamina D3.

Uzroci hiperhloremije: jak selektivni gubitak natrijuma, primena hlorida, renalna retencija hlorida, hiperhloremijska metabolička acidozna usled dijareje i gubitka bikarbonata. Pojava perzistentne hiperhloremije indikuje pregled na Na, K i gasne analize krvi.

Uzroci hipohloremije: su slični kao u hiponatremiji, a najčešće hronično povraćanje i agresivna terapija tiazidina. Perzistentna hipohloremija zahteva dalja ispitivanja.

Dijagnostički postupak poremećaja metabolizma tečnosti je ispitivanje promena u ekstracelularnoj tečnosti (ispitivanje volumena i osmolarnosti), promena u intracelularnoj tečnosti, izojonije i izohidrije.

Promene volumena ekstracelularne tečnosti ispituju se analizom koncentracije ukupnih proteina i brojanjem eritrocita. Dehidratacija dovodi do porasta koncentracije proteina i povećanja broja eritrocita po mililitru krvi. Ove pojave se mogu otkriti i manje pouzdanom metodom ispitivanja hematokrita. U istraživačke svrhe koristi se određivanje volumena tečnosti dilucionom radioizotopskom tehnikom.

Promene osmolarnosti se određuju u odnosu na promenu koncentracije natrijuma u serumu, a merenje osmolarnosti može se vršiti i direktno osmomometrom. Hipernatremija znači i hiperosmolarnost, osim u slučaju hiperlipidemije ili hiperproteinemije (kada lipidi i proteini zauzimaju određenu zapreminu u tečnosti i ne sadrže Na) ili u slučaju dijabetesa kada tečnost izlazi ekstracelularno, čime razblažuje natrijum, te je osmolarnost povećana zbog glukoze.

Promene u intracelularnoj tečnosti se ispituju na osnovu promena srednjeg volumena eritrocita i srednje koncentracije hemoglobina u eritrocitima. Diferencijalno dijagnostički postupak dat je u tabeli 7 .

Tabela 7: Diferencijalna dijagnoza dehidratacije i hiperhidratacije pomoću parametara krvne slike, proteinemije i koncentracije Na

	Dehidratacija			Hiperhidratacija		
	Hipoton.	Izoton.	Hiperton.	Hipoton.	Izoton.	Hiperton.
HT	+++	+	+	+	--	---
MCHC	--	0	+	+	0	--
MCV	+	0	--	+	0	--
Na	--	0	+	-	0	+
PROT	+	+	+	--	--	--

Kod topotnog stresa mlečnih krava koncentracija proteina, broj eritrocita i eritrocitni indeksi mogu dati nejasnu sliku, jer dominira smanjen unos hrane i povišen unos tečnosti, pa treba dati adekvatno tumačenje dehidratacije.

Ispitivanje izojonije podrazumeva biohemijsko određivanje koncentracije Na, K, Ca, Mg, H i OH. Za određivanje jona se koriste klasične titrimetrijske metode ili klasičnim komercijalnim kitovima u plamenom fotometru, odnosno selektivne elektrode koje su prilagođene za određene vrste jona. Sa kliničkog aspekta treba posmatrati odnos (K, Na i OH) / (Ca, Mg i H). Kada koncentracija jona iz brojčica raste ili koncentracija jona iz imenioca opada nastaju grčevi skeletne muskulature i poremećaji u radu srca, dok obrnuti proces smanjuje tonus muskulature i srčani rad.

Za procenu stanja izojonije treba posmatrati pH seruma, koncentraciju bikarbonata, parcijalni pritisak kiseonika i ugljenik-4-oksida kao i odnos Na-bikarbonata i ugljene kiseline koji bi trebao da je 20:1 (Henderson-Haselbahova jednačina). U tabeli 8 su prikazani parametri vezani za poremećaj acidobazne vrednosti.

Tabela 8: Koncentracija bikarbonata i pH vrednost krvi u različitim acido-baznim poremećajima

Mmol/l bikarbonata	pH	Poremećaj
20-26	7,35-7,45	Normalno stanje
14-20	7,35-7,45	Kompenzovana acidoza
Ispod 14	Ispod 7,35	Dekompenzovana acidoza
26-40	7,35-7,45	Kompenzovana alkaloza
Iznad 40	Iznad 7,45	Dekompenzovana alkaloza

Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: U tabeli su prikazani vrste poremećaja acidobazne ravnoteže. Napiši kako pravce kretanja metabolita u navedenim poremećajima.

Naziv poremećaja	Koncentracija metabolita			
	pH	H ⁺	pCO ₂	HCO ₃ ⁻
Respiratorna acidoza				
Respiratorna alkaloza				
Metabolička acidoza				
Metabolička alkaloza				

Zadatak 2: Napisati Handersen-Haselbahovu jednačinu i objasniti njen značaj.

Zadatak 3: U tabeli su date vrednosti hematokrita kod različitih poremećaja zapremine krvi. Upišite moguće uzroke koji daju kombinaciju datu kombinaciju promena volumena i broja ćelija

Kretanje hematokrita	Normovolemija	Hipovolemija	Hipervolemija
Normalno			
Policitemija			
Oligocitemija			

Zadatak 4: U tabeli su prikazane vrednosti koncentracije bikarbonata i pH vrednosti. Protumačite nalaz koncentracije bikarbonata i pH vrednosti.

Mmol/l bikarbonata	pH	Tumačenje
20-26	7,35-7,45	
14-20	7,35-7,45	
Ispod 14	Ispod 7,35	
26-40	7,35-7,45	
Iznad 40	Iznad 7,45	

Zadatak 5: U tabeli su dati parametri značajni za navedene poremećaje. Upišite kako se menja vrednost zadatih parametara u navedenim poremećajima.

	1	2	3	4	5	6	7
Hematokrit							
Hemoglobin							
Broj eritrocita							
Proteinemija							
MCHC							
MCV							
Na							
pH							
Bikarbonati							
K							

1. Izotoniska dehidratacija usled povraćanja
2. Izotoniska dehidratacija usled proliva
3. Hipotoniska dehidratacija kod dijabetesne ketoacidoze
4. Hipotoniska dehidratacija u Morbus Adisoni
5. Izotoniska hiperhydratacija u hroničnoj srčanoj insuficijenciji
6. Hipertonijska hiperhydratacija u primarnom aldosteronizmu (Conn-ov sindrom)
7. Hipotoniska hiperhydratacija u paraneoplastičnom sindromu sa lučenjem ADH

Zadatak 6: Kalijum u metaboličkoj sponi sa vodonikovim jonima i pH – tabelarni prikaz

Zadatak 7: Vodonikovi joni i gasovi krvi u dijagnostici acido-bazne ravnoteže-tabelarni prikaz

Zadatak 8: Promene osnovnih laboratorijskih pokazatelja i izovolemiji i izojoniji-tabela

Zadatak 9: Kontrola ravnoteže vode-dijagram toka u oliguriji

Zadatak 10: Klinička procena poliurije-dijagram toka

Zadatak 11: Kontrola kaliemije, indikacije i dijagram toka

Zadatak 12: Određivanje volumena krvi i plazme

Zadatak 13: Tumačenje nalaza kod promene zapremine krvi i plazme-tabela

Zadatak 14: Određivanje osmolarnosti plazme i procena hidriranosti

Zadatak 15: Određivanje hlorida u serumu

Zadatak 16: Osđivanje Na i K u serumu

Zadatak 17: Određivanje bikarbonata u serumu i procena pH – tabelarni prikaz

Zadatak 18: Određivanje pH, pCO₂, Standardni bikarbonat (SBC), Puferska baza (BB), Višak baze (BE), sa tabelarnom procenom rezultata

Pitanja za pismenu proveru znanja

POREMEĆAJI ACIDOBАЗNE RAVNOTEŽE

1. pH vrednost:
 - a) je negativni logaritam koncentracije vodonikovih jona *
 - b) je negativni logaritam koncentracije natrijumovih jona
 - c) je pokazatelj ravnoteže kiselih i baznih sastojaka*
 - d) krvne plazme je od 7,5-7,9
 - e) intracelularni pH varira od 6,0-7,4*
2. Koji od navedenih organa igra značajnu ulogu u regulaciji acidobazne ravnoteže
 - a) Pluća*
 - b) Mozak
 - c) Jetra
 - d) Bubrezi*
 - e) Pankreas
3. Bikarbonatni pufer je *ekstracelularni/intracelularni (zaokruži tačan odgovor)* značajan za transport _____ u krvi, čime se održava acidobazna ravnoteža i održava respiraciju.
4. Eritrociti regulišu acidobazu ravnotežu zahvaljujući :
 - a) Hemoglobinu*
 - b) Bikonkavnom izgledu
 - c) Jedru
5. Na koji način se izračunava vrednost koncentracije ugljene kiseline u venskoj krvi?
6. Henderson-Haselbahova jednačina pokazuje odnos između vrednosti:
 - a) pH i koncentracije bikarbonata*
 - b) pH i koncentracije fosfata
 - c) pH i koncentracije hlorida
7. Kod respiratorne acidoze pCO₂ je:
 - a) Smanjen
 - b) Povećan*
8. Kompenzacija kod metaboličke alkaloze je:
 - a) Smanjena plućna ventilacija*
 - b) Povećana plućna ventilacija
9. Kompenzacija kod respiratorne alkaloze je:
 - a) Smanjena plućna ventilacija
 - b) Povećana plućna ventilacija
 - c) Bubrezi izlučuju više NaHCO₃, KHCO₃ uz retenciju Cl-jona*
 - d) Bubrezi izlučuju višak H⁺

10. Kompenzatori odgovor kod primarne respiratorne acidoze jeste:

- a) Smanjena plućna ventilacija
- b) Povećana plućna ventilacija
- c) Bubrezi izlučuju više NaHCO_3 , KHCO_3 uz retenciju Cl -jona
- d) Bubrezi izlučuju višak H^+ *
- e) Bubrezi zadržavaju bikarbonate*

11. Procena acidobaznog statusa vrši se pomoću određivanja i izračunavanja sledećih šest parametara i to su:_____.

12. U toku alkaloze desiće se:

- a) Prelazak kalijuma iz ekstraćelijskog u intraćelijski prostor
- b) Sniženje nivoa jonizovanog kalcijuma
- c) Pojava neuromišićne razdražljivosti
- d) Sve od navedenog je tačno*

13. Smanjena razdražljivost nervnih ćelija je posledica acidoze.

DA* NE

14. Mišićna tetanija nastaje kada pH krvi pređe:

- a) 7,0
- b) 7,4
- c) 7,8*
- d) 8,7

15. U toku acidoze javlja se hiperventilacija.

DA*
NE

16. Metabolička acidozna nastaje u uslovima:

- a) viška vodonikovih jona*
- b) viška ugljendioksida

17. Metabolička alkaloza nastaje:

- a) zbog gubitka ugljendioksida
- b) viška hidroksilnih jona*
- c) manjka bikarbonata

18. Respiratorna acidozna nastaje zbog:

- a) smanjenja parcijalnog pritiska O_2
- b) smanjene eliminacije CO_2 *

19. Respiratorna alkaloza nastaje usled:

- a) endomilavanja hidroksilnih jona
- b) povećane eliminacije CO_2 *

20. U dekompezovanoj respiratornoj acidozi postoje sledeći poremećaji:

- a) povišena vrednost parcijalnog pritiska CO₂ u arterijskoj krvi*
- b) pH vrednost krvi ispod 7,32*
- c) hipokalijemija
- d) povišene koncentracije ionizovanog kalcijuma*
- e) izrazito povišene vrednosti aktuelnog bikarbonata u krvi

21. Respiratorna acidoza ima sledeće karakteristike:

- a) pCO₂ je povišen*
- b) hipokalijemija je čest nalaz
- c) nastaje pri neuromišićnim poremećajima disanja*
- d) bubrezi povećano zadržavaju bikarbonate*
- e) pH krvi je povišen

22. Respiratornu alkalozu može izazvati:

- a) privikavanje na veliku visinu*
- b) trauma grudnog koša
- c) hepatična koma*
- d) depresija centra za disanje lekovima
- e) hiperventilacija izazvana strahom*

23. Acidoza može postojati bez znakova acidemije

DA*
NE

24. Vrednost pH krvi zavisi od:

- a) Apsolutne koncentracije bikarbonata i ugljen dioksida
- b) Odnosa koncentracije bikarbonata i ugljen dioksida*

25. Sve dok je odnos bikarbonata:ugljen dioksidu 20:1 pH krvi ostaje u fiziološkim granicama

DA* NE

26. Acidozna koma se javlja kada pH krvi padne ispod 6,8

DA*
NE

27. Depresija centra za disanje usled primene anestetika doveće do respiratorne alkaloze.

DA
NE*

28. Respiratorna acidoza usled otežane ventilacije dovodi i do hipoksemije uvodeći metaboličke procese u anaerobne uslove, čime se kao komplikacija javlja i:

- a) Metabolička alkaloza
- b) Metabolička acidoza*
- c) Porast koncentracije mlečne kiseline*
- d) Porast koncentracije bikarbonata

29. Obim porasta koncetracije bikarbonata u plazmi tokom kompenzacije hronične respiratorne acidoze zavisi od funkcionalnog statusa bubrega i njegove sposobnosti da vrši ekskreciju vodonikovog jona.

DA*

NE

30. Objasniti razvoj respiratorne acidoze bez hipoksemije tokom primene opšte anestezije u hirurškoj intervenciji.

31. U početnoj fazi metaboličke acidoze javlja se:

- a) Kusmaulovo disanje*
- b) Biotovo disanje
- c) Čejn-Stoksovo disanje
- d) Nema promena u ritmu i karakteru disanja

32. Respiratori sistem može trajno kompenzovati metaboličku acidozu.

DA

NE*

33. Za dugotrajnu kompenzaciju metaboličke acidoze potrebno je da se aktivira:

- a) Jetra
- b) Bubreg*
- c) Pluća
- d) Koža

34. U toku respiratorne alkaloze afinitet hemoglobina prema kiseoniku se *povećava / smanjuje* (*zaokruži tačan odgovor*), pa se usled smanjenog snabdevanja tkiva kiseonikom metabolizam okreće anaerobnom putu uz stvaranje laktata, čime se alkaloza *pogoršava / delimično kompenzuje* (*zaokruži tačan odgovor*).

35. Povraćanje dovodi do:

- a) Metaboličke acidoze
- b) Metaboličke alkaloze*

36. Šta je kontrakciona alkaloza i kada ona nastaje?

37. Primarni hiperaldosteronizam dovodi do:

- a) Metaboličke alkaloze*
- b) Metaboličke acidoze

38. Koncetracija bikarbonata i pCO₂ se uvek menja u istom pravcu, osim kada postoji: _____
_____.

39. U toku acidoze, naročito kada je pH ispod 7,2 kontraktilnost srčanog mišića se:

- a) Smanjuje*
- b) Povećava

c) Ostaje nepromenjena

40. U acidozi može doći do oštećenja CNSa bilurubinom, jer: _____.

41. Glavobolja u toku acidoze, kao i promene na papili nastaje kao posledica:

- a) Vazodilatacije krvnih sudova CNSa*
- b) Vazokonstrikcije krvnih sudova CNSa

42. Alkalozna povećava oslobođanje amonijaka i povećava njegov toksični efekat na CNS.

DA*

NE

POREMEĆAJ PROMETA VODE

1. Ekstracelularna tečnost podrazumeva dva odeljka i to: _____.

2. Hipernatriemija dovodi do:

- a) Hiperosmolarnosti vanćelijske tečnosti*
- b) Hiperosmolarnosti intracelularne tečnosti
- c) Hipoosmolarnosti venćelijske tečnosti
- d) Hipoosmolarnost intracelularne tečnosti

3. Renin-angiotenzin-aldosteron sistem spada u hemodinamske regulatore sadržaja vode koji se aktiviraju kod hipovolemije i hipotenzije i kompenzuje je:

- a) Reapsorpcijom vode iz digestivnog tubusa
- b) Reapsorpcijom natrijuma i vode u bubrežima*
- c) Reapsorpcijom kalijuma i vode iz celularne partie
- d) Ništa od navedenog

4. Aktivacija simpatikusa tokom žeđi dovodi do:

- a) Vazodilatacije krvnih sudova bubrega
- b) Smanjenja glomerulske filtracije*
- c) Smanjenja ultrafiltracije Na*

5. Antidiurezni hormon dovodi do:

- a) Povećanja reapsorpcije natrijuma iz bubrežnih kanalića
- b) Povećanja reapsorpcije vode iz bubrežnih kanalića*
- c) Povećanja reapsorpcije netrijuma i vode iz bubrežnih kanalića

6. Osmotska regulacija metabolizma vode putem ADH aktivira se kod gubitka:

- a) Čiste vode*
- b) Natrijuma
- c) Vode i natrijuma

7. Iztonična dehidratacija nastaje usled:

- a) Podjednakog gubitka vode i elektrolita pri čemu se ne menja osmotska koncentracija ekstracelularne tečnosti*
- b) Povećanog gubitka natrijuma u odnosu na gubitak vode, kada pada osmolarnost ekstracelularne tečnosti
- c) Povećanog gubitka vode u odnosu na gubitak natrijuma, uz povećanje osmolarnosti ekstracelularne tečnosti

8. Hipotonična dehidratacija nastaje usled:

- a) Podjednakog gubitka vode i elektrolita pri čemu se ne menja osmotska koncentracija ekstracelularne tečnosti
- b) Povećanog gubitka natrijuma u odnosu na gubitak vode, kada pada osmolarnost ekstracelularne tečnosti*
- c) Povećanog gubitka vode u odnosu na gubitak natrijuma, uz povećanje osmolarnosti ekstracelularne tečnosti

9. Hipertonična dehidratacija nastaje usled:

- a) Podjednakog gubitka vode i elektrolita pri čemu se ne menja osmotska koncentracija ekstracelularne tečnosti
- b) Povećanog gubitka natrijuma u odnosu na gubitak vode, kada pada osmolarnost ekstracelularne tečnosti
- c) Povećanog gubitka vode u odnosu na gubitak natrijuma, uz povećanje osmolarnosti ekstracelularne tečnosti*

10. U toku iztonične dehidratacije aktiviraju se:

- a) Hemodinamski kompenzatori mehanizmi
- b) Osmotski kompenzatori mehanizmi
- c) Hemodinamski i kompenzatori organizmi*
- d) Nema aktivacije mehanizama za održavanje bilansa vode i jona

11. U iztoničnoj dehidrataciji velumen intracelularne tečnosti:

- a) Raste
- b) Pada
- c) Ne menja se*

12. U dehidrataciji vrednost hematokrita se:

- a) Povećava*
- b) Smanjuje

13. Tokom iztonične dehidratacije primećujemo:

- a) Poliuriju
- b) Oliguriju*
- c) Hiponatriuriju*
- d) Hipernatriuriju
- e) Hipohloruriju*
- f) Hiperhloruriju
- g) Hipernatriemiju

14. Hipotonična dehidratacija dovodi do:

- a) Intraćelijske dehidratacije
- b) Smanjenja zapremine ekstracelularnog prostora*
- c) Intraćelijske hiperhidratacije i ćelijskog edema*
- d) Povećanje zapremine ekstracelularnog prostora

15. Davanje diureтика radi rešavanja edema kod hipotonične hipohidratacije je:

- a) Indikovano
- b) Kontraindikovano*

16. U kom tipu dehidratacije se javlja intoksikacija vodom?

17. Objasniti mehanizam nastanka intoksikacije vodom tokom hipotonične dehidratacije.

18. U hipertoničnoj dehidrataciji zapremina intracelularne tečnosti se:

- a) Povećava
- b) Smanjuje*

19. Restrikcija vode životinjama sa dijabetes insipidusom doveće do:

- a) Hipertonične dehidratacije*
- b) Izotonične dehidratacije
- c) Hipotonične dehidratacije

20. Izotonična hiperhidratacija se karakteriše:

- a) Zadržavanjem vode u organizmu, bez poremećaja osmolarnosti ekstracelularne tečnosti*
- b) Povećanjem zapremine ekstracelularne tečnosti sa smanjenjem njene osmolarnosti
- c) Povećanjem zapremine ekstracelularne tečnosti sa povećanjem njene osmolarnosti

21. Hipotonična hiperhidratacija se karakteriše:

- a) Zadržavanjem vode u organizmu, bez poremećaja osmolarnosti ekstracelularne tečnosti
- b) Povećanjem zapremine ekstracelularne tečnosti sa smanjenjem njene osmolarnosti*
- c) Povećanjem zapremine ekstracelularne tečnosti sa povećanjem njene osmolarnosti

22. Hipertonična hiperhidratacija se karakteriše:

- a) Zadržavanjem vode u organizmu, bez poremećaja osmolarnosti ekstracelularne tečnosti
- b) Povećanjem zapremine ekstracelularne tečnosti sa smanjenjem njene osmolarnosti
- c) Povećanjem zapremine ekstracelularne tečnosti sa povećanjem njene osmolarnosti*

23. U izotoničnoj hiperhidrataciji:

- a) povećava se volumen ekstracelularne tečnosti i smanjuje volumen intracelularne tečnosti
- b) povećava se volumen ekstracelularne tečnosti i povećava volumen intracelularne tečnosti
- c) povećava se volumen ekstracelularne tečnosti, dok volumen intracelularne tečnosti ostaje nepromenjen*
- d) nijedan od iskaza nije tačan jer se volumen ekstracelularne tečnosti ne menja

24. Zašto se tokom hipotonijске hiperhidratacije dešava intoksikacija vodom? U čemu je patogenska sličnost sa hipotonijsom dehidratacijom? _____.

25. U hipertonijskoj hiperhidrataciji intracelularni prostor ulazi u:

- a) Dehidrataciju*
- b) Hiperhidrataciju

26. Koje su posledice smanjenja volumena vanćelijske tečnosti:

- a) tahikardija*
- b) smanjenje hematokrita
- c) smanjenje turgora kože*
- d) oligurija*

27. Povećanje intrakranijalnog pritiska dešava se u:

- a) iztonijskoj hiperhidraciji
- b) hipertonijskoj dehidraciji
- c) hipotonijskoj hiperhidraciji*
- d) hipotonijskoj dehidraciji*
- e) hipertonijskoj hiperhidraciji

28. Iztonijska dehidracija sa alkalozom i hipokalijemijom nastaje:

- a) u toku hroničnog krvarenja
- b) kod akutnog povraćanja*
- c) kod dugotrajnog znojenja koje se nadoknadi pijenjem vode
- d) u akutnoj bubrežnoj insuficijenciji

PATOFIZIOLOGIJA EDEMA

1. Nabroj četiri Starlingove sile.

2. U arterijskom delu kapilara tečnost se filtrira, dok se u venskom delu kapilara tečnost reapsorbuje. Objasniti zašto.

3. Zaokruši mehanizme koji dovode do edema:

- a) Povišenje hidrostatskog pritiska krvi
- b) Sniženje onkotskog pritiska plazme
- c) Povećanje propustljivosti endotela kapilara
- d) Opstrukcija limfnih puteva
- e) Sve navedeno je tačno*

4. Angiomuralni tip edema nastaje usled:

- a) Povišenje hidrostatskog pritiska krvi
- b) Sniženje onkotskog pritiska plazme
- c) Povećanje propustljivosti endotela kapilara*

d) Opstrukcija limfnih puteva

5. Morfološki razlog zbog koga češće dolazi do potpunog zatvaranja vena, uz relativno očuvan krvotok kroz arterijske krvne sudove je sledeći:

6. Edem zadnjih ekstremiteta tokom visokog graviditeta nastaje kao posledica:

7. Najveći deo onkotskog pritiska krvne plazme obezbeđuju:

- a) Albumini*
- b) Globulini
- c) Glukoza
- d) Holesterol

8. Smanjenje onkotskog pritiska nastaje u uslovima:

- a) Dugotrajnog gladovanja
- b) Bolesti jetre
- c) Sekretornih dijareja
- d) Opekomina većeg stepena
- e) Sve od navedenog je tačno*

9. Edem koji nastaje kao posledica infekcije sa Wulcheriom bancrofti nastaje kao posledica:

- a) Povišenje hidrostatskog pritiska krvi
- b) Sniženje onkotskog pritiska plazme
- c) Povećanje propustljivosti endotela kapilara
- d) Opstrukcija limfnih puteva*

10. Za srčani edem je karakteristično:

- a) Predhodi mu sršana slabost*
- b) Dolazi do aktivacije parasimpatikusa
- c) Smanjuje se perfuzija bubrega krvlju i zadržava se voda i natrijum*
- d) Slabost desnog srca dovodi do razvoja edema pluća*
- e) Slabost levog srca dovodi do razvoja edema pluća

11. Bubrežni edem:

- a) Nastaju kod nefritisa
- b) Nastaju kod nefrotskog sindroma
- c) Gubitka albumina putem bubrega
- d) Smanjene perfuzije bubrega krvlju uz očuvanu reapsorpciju Na
- e) Sve od navedenog je tačno*

12. Aktivacija renin-angiotenzin-aldosteron sistema u toku nefrotskog edema:

- a) Pogoršava postojeći edem*
- b) Umanjuje postojeći edem

13. Plućni edem se prema uzroku nastanka može podeliti na:_____.

14. Kod kardiogenog plućnog edema najpre nastaje:

- a) Intersticijalni edem*
- b) Alveolarni edem

15. Bez obzira na primarni uzrok bolesti kod nekardiogenog plućnog edema uvek dolazi do promena na alveokapilarnoj membrani.

DA*

NE

16. Hidrops ascites je:

- a) Nakupljanje tečnosti u mozgu
- b) Nakupljanje ternosti u pleuralnoj šupljini
- c) Nakupljanje tečnosti u peritonealnoj šupljini*
- d) Nakupljanje tečnosti u plućima

17. Hipotireoza dovodi do posebne vrste edema koja se naziva: _____.

18. Ciroza jetre često dovodi do pojave ascitesa jer:

- a) Raste pritisak u portalnom krvotoku*
- b) Pada pritisak u portalnom krvotoku
- c) Pada koncentracija aldosterona i ADH u krvotoku
- d) Raste koncentracija aldosterona i ADH u krvotoku*
- e) Smanjuje se volumen krvi i povećano se retenira natrijum u iz bubrega*
- f) Toksični medijatori obilaze jetru i ulaze u krvotok izazivajući perifernu vazodilataciju i vazokonstrikciju bubrežnih krvnih sudova*

19. Da li se tokom edema mogu javiti znakovi dehidratacije i zašto?

20. Pojava vodenaste tečnosti u peluralnoj duplji, bez vidljivih tkivnih fragmenata, mirisa i boje, čija je specifična masa manja od 1,015 a koncentracija proteina ne prevaziđa 25g/L i koja ne koaguliše ukazuje na:

- a) Eksudat
- b) Transudat*

21. Gust,kremast sadržaj iz perikardijalnog prostora, kiselog karaktera, koji ima specifičnu masu veću od 1,018 i vše od 30g/l proteina, koji daje pozitivnu Rivaltinu probu ukazuje na:

- a) Eksudat*
- b) Transudat

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Patofiziologija dehidracije
2. Patofiziologija hiperhidracije
3. Edem – Starlingova ravnoteža, patofiziologija nastanka, vrste
4. Klinička klasifikacija edema
5. Transudat i eksudat – definicija i diferencijalna dijagnoza
6. Transudat i eksudat u akutnom abdomenu
7. Podela poremećaja acido-bazne ravnoteže i njihove posledice
8. pH i kompenzatorni mehanizmi acido-baznog statusa
9. Acidozna
10. Alkaloza
11. Patofiziologija bilansa natrijuma
12. Patofiziologija bilansa kalijuma
13. Patofiziologija bilansa gvožđa
14. Patofiziologija bilansa bakra
15. Patofiziologija bilansa joda
16. Patofiziologija bilansa selena
17. Patofiziologija bilansa kobalta i vitamina B12
18. Poremećaj metabolizma kalcijuma i fosfata
19. Poremećaj metabolizma vitamina
20. Uticaj vitamina na metaboličke tokove u organizmu na primeru preživara

PATOFIJOLOGIJA POREMEĆAJA METABOLIZMA UGLJENIH HIDRATA, MASTI I PROTEINA

Poremećaji metabolizma **ugljenih hidrata** se ispituje kroz funkcionalne testove za endokrini pankreas. Mnoge životinje imaju latentnu sklonost ka nastanku dijabetesa, pa se kod ovih životinja vrši glukoza tolerans test uz aplikaciju kortizola. Latentni dijabetes može brzo preći u manifestnu formu usled stresa, čiji je kortizol glavni medijator.

Testovi za ispitivanje glikogenskog depoa u jetri i njene sposobnosti da održi normoglikemiju su:

1) Test tolerancije epinefrina se zasniva na osobini epinefrina da povećava glikogenolizu aktivacijom adenilat-ciklaze. Ako jetra nije oštećena, nakon parenteralne aplikacije epinefrina već za 40-60 minuta glikemija se povećava za 50% u odnosu na fiziološku vrednost, a za 1h vraća se u okvire normoglikemije. Izostajanje epinefrinskog efekta javlja se kod insuficijencije jetre ili kod praznih glikogenskih depoa tokom gladovanja.

2) Test opterećenja galaktozom se zasniva na sposobnosti galaktoza, koja je monosaharid, da se pretvori u glukuzu. Ovaj proces je enzimatski regulisan i odvija se u više etapa. Test se izvodi tako što se i.v. aplikuje rastvor galaktoze, a zatim se u vremenskim intervalima prati njeno nestajanje u krvi. Test se primenjuje kod preživara, konja i pasa korišćenjem 10 mL/kg telesne mase rastvora galaktoze, koncentracije 2,8 mM. Kod zdravih životinja, galaktoza se u vremenu od 1h metaboliše u glukozu, ali ako je oštećena jetra, galaktoza se duže ili kraće zadržava u krvotoku i nakon toga se javlja galaktozurija.

Glavni **lipidi** krvi su: holesterol (slobodni i esterifikovani), trigliceridi, ukupni fosfolipidi i neesterifikovane masne kiseline. Lipoproteini su složeni transportni oblici koji se sastoje od lipida i glikoproteina-zvani apoproteini. Prema kretanju u elektroforezi dele se na: hilomikrone, pre beta-lipoproteine, beta-lipoproteine i alfa-lipoproteine. Prema sastavu tj. gustini posle ultracentrifugiranja dele se na: VLDL (Very low density lipoproteins) – lipoproteini veoma niske gustine, LDL (Low Density Lipoproteins) – lipoproteini niske gustine, HDL (High Density Lipoproteins) – lipoproteini visoke gustine i VHDL (Very high Density Lipoproteins) – lipoproteini vrlo visoke gustine.

Povećana koncentracija lipida u krvi naziva se hiperlipidemija i ona može biti: postprandijalna, primarna (idiopatska hiperlipoproteinemija, idiopatska hiperhilomikronemija kod mačaka, deficijencija lipoproteinskih lipaza i idiopatska hiperholesterolemija), sekundarna (hipotireoidizam, diabetes mellitus, hiperadrenokorticizam, pankreatitis, holestaza, hepatična insuficijencija i nefrotski sindrom).

Holesterol se određuje standardnom fotometrijskom metodom. Reagens za holesterol je holesterol-oksidaza koja reaguje sa hromogenom i daje promenu boje u intenzitetu koja je proporcionalna sa koncentracijom holesterola. Indikacije za određivanje koncentracije holesterola su: primarna hiperlipoproteinemija, diabetes mellitus, nefrotski sindrom, bolesti tireoidee, bolesti jetre, malapsorptivni sindrom i dr. Povišene vrednosti holesterola se javljaju kod sledećih poremećaja: familijarna hiperlipoproteinemija, nefrotski sindrom, nekontrolisani dijabetes,

opstruktivna žutica, miksedem, ksantomatoza, akutne hemoragije i hipotireoidizam. Hipoholesterolemija se javlja kod: anemije, bolesti jetre, infekcije, kaheksije, glomerulonefritisa, stresa, dekompenzovanog srca, koronarne tromboze, akutnog infarkta miokarda, karcinoma i dr.

Trigliceridi se takođe određuju klasičnom fotometrijskom metodom. Indikacije za određivanje triglicerida su: hiperlipoproteinemije, trovanja teškim metalima, bolesti štitnjače, malapsortivni sindrom itd. Hipertriglyceridemija se javlja kod sledećih poremećaja: hiperlipoproteinemija, diabetes mellitus-a, nefrotskog sindroma, uremije bez nefroze, pankreatitisa, nekih glikogenoza, trovanja teškim metalima i dr. Snižene vrednosti triglicerida se javljaju kod sledećih poremećaja: hronična opstruktivna bolest pluća, infarkt mozga, hipertireoidizam, malapsorpcijski sindrom, nasledni nedostatak holesterol-acil transferaze i dr.

Frižiderski test se koristi za ispitivanje tipa hipertriglyceridemije. Test se izvodi na sledeći način: serum ispitanika se ostavi na temperaturi od +4°C, pa se nakon stajanja 18-24h vrši procena njegovog izgleda. Normalan serum i serum u izolovanoj hiperholesterolemiji je bistar. Kod nakupljanja VLDL (hipertriglyceridemija) serum pokazuje određeni stepen zamućenja. Lagane čestice hilomikrona formiraće flotacijom hilomikronski čep.

U humanoj populaciji razlikujemo 5 tipova hiperlipoproteinemije u zavisnosti od tipa lipoproteina koji dominira, frižiderskog test i kakva je koncentracija holesterola i triglicerida. Slična klasifikacija postoji i kod pasa.

Kod mlečnih krava je vrlo značajna pojava zamašćenja jetre, koja nastaje kao posledica negativnog energetskog bilansa u peripartalnom periodu, tj. na početku laktacije. Negativni energetski bilans se ogleda u stepenu lipomobilizacije čiji je pokazatelj koncentracija slobodnih masnih kiselina. Kada je njihova koncentracija 0,3-0,5 mmol/l smatra se da je proces lipomobilizacije u fiziološkim granicama, dok vrednosti preko 0,7 mmol/l ukazuju na intenzivnu nekontrolisanu lipomobilizaciju. Intenzivna lipomobilizacija narušava transport triglicerida iz jetre (nema dovoljno VLDL jer je narušena sinteza proteina) pa se oni nagomilavaju u hepatocitima.

Poremećaj metabolizma **proteina** je objašnjen kroz predhodna poglavља. Osnovne indikacije za ispitivanje metabolizma proteina su: ispitivanje hidriranosti организма, ispitivanje uzroka edema, ispitivanje uzroka infekcija, dokazivanje upale, ispitivanje autoimunih procesa, ispitivanje bolesti jetre, ispitivanje proteinurije, dokazivanje paraproteinemije, ispitivanje proteinskih nosača seruma, ispitivanje malognih neoplazmi, ispitivanje opeketina i dr.

Posebni proteini koji su značajni za dijagnostički postupak su **enzimi**. Oni i njihova katalitička aktivnost određuju se različitim kolorimetrijskim metodama, imunoenzimskim metodama i radio-imunoenzimskim metodama, različitim histohemijskim metodama bojenja a aktivnost im se izračunava posebnim formulama. Uzorak za ispitivanje enzima mogu biti: krv, serum, limfa, peritonealna tečnost, pleuralni izliv, bioptat, saliva, suze itd. Enzimi koji imaju istu ili sličnu enzimsku aktivnost, a različite fizičke ili fizičko-hemijske osobine nazivaju se izoenzimi i nastaju kao posledica stvaranja u različitim delovima ćelije. Prema mestu gde obavljaju svoju ulogu dele se na enzime lučenja (sekretorne) i intracellularne enzime. Organski enzimski profil se određuje na osnovu: nivoa aktivnosti enzima glavnih metaboličkih puteva, koji se porede jedan sa drugim, pomoću organospecifičnih enzima i raspodele izoenzima. Enzimi izlaze u

ekstracelularni prostor gde postoji koncentracioni gradijent između intracelularnih i ekstracelularnih prostora. Kod životinjskih ćelija postoji brza izmena enzima kroz ćelijske membrane, tako da kod najmanjeg oštećenja ćelija intracelularni enzimi izlaze ekstracelularno. Serumski enzimski profil se dobija ispitivanjem enzima u serumu ako postoji neko oboljenje. Mali broj enzima su organospecifični, pa se dijagnostika pomoću serumskih enzima vrši upoređivanjem dobijenih rezultata iz seruma i poznatim enzimskim profilom organa. Za poklapanje ovih profila potrebno je da postoji teško oštećenje organa, kao i da je tom prilikom zahvaćen samo jedan organ, kako se ne bi došlo do mešanja sa profilima drugih organa.

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE GLUKOZE U KRVI PAP METODOM (PEROKSIDAZA AKTIVNI PRINCIP) - Glukozo-oksidaza katalizuje proces oksidacije glukoze u glukonsku kiselinu i vodonik peroksid (H_2O_2). Oslobođeni vodonik peroksid u prisustvu enzima peroksidaze reaguje sa 4-aminoantipirinom (4-AAP) i 2,4-dihlorfenolom (2,4-DNP), gradeći iminohinon i vodu. Iminohinonska boja je crvena i njen intenzitet je direktno proporcionalan koncentraciji glukoze u uzorku.

Način izvođenja metode: Odmeriti 1 mL PAP reagensa u epruvetu i dodati 0,1 mL krvnog seruma. Epruvetu lagano promučkati i ostaviti u vodenom kupatilu na $37^{\circ}C$ tokom 20 minuta. Očitati apsorpciju na talasnoj dužini $\lambda=505$ nm. Koncentracija glukoze se izračunava prema sledećoj formuli:

$$\text{koncentracija glukoze (mmol)} = ((E_{uz}-E_{sp})/(E_{st}-E_{sp})) \times C_{st}$$

Euz – ekstinkcija uzorka, Esp – ekstinkcija slepe probe, Est – ekstinkcija standarda,

Esp – ekstinkcija slepe probe, Cst – koncentracija standarda.

4.2 PROBA NA ACETONSKA TELA U URINU NATRIJUM-NITROPRUSIDOM - Acetonska tela reaguju sa natrijum-nitroprusidom gradeći kompleksno obojeno jedinjenje. Boja ovog jedinjenja je crvena, a intenzitet se pojačava dodatkom sirčetne kiseline.

Materijal za izvođenje metode je: 50% NaOH, natrijum-nitroprusid, koncentrovana sirčetna kiselina.

Način izvođenja metode: U epruvetu uliti 3 mL mokraće i doda se par kapi 50% NaOH. U drugu epruvetu se doda na vrh noža natrijum-nitroprusid i rastvori se sa nekoliko mL destilovane vode, pa se po rastvaranju dodaje mokraći i mešavini se dodaje 1 mL sirčetne kiseline.

Ako posle dodavanja sirčetne kiseline dođe do intenziviranja crvene boje mokraća sadrži aceton, a ukoliko boja izostaje ili nastane žučkasta boja reakcija je negativna .

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE UKUPNIH LIPIDA U KRVNOM SERUMU - Masne kiseline u reakciji sa fosfovanilinom kiselinom daju crveno obojeni kompleksi. Materijal za

izvođenje metode: koncentrovana H_2SO_4 , o-fosforna kiselina, 0,6 g vanilina ($C_8H_8O_3$) u 100 mL vode, fosfovanilinski reagens, standard maslinovog ulja 5g/L u etanolu.

Način izvođenja metode: U tri epruvete pipetom se ukapaju reagensi prema sledećoj šemi:

	Proba	Standard	Slepa proba
Serum	10 μ L	/	/
Standard	/	10 μ L	/
H_2SO_4	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL

Sumporna kiselina se dodaje tako da se sa zida epruvete skinu zaostaci proteina. Epruvete se stave 10 minuta u vodeno kupatilo sa ključalom vodom, nakon čega se ohlade. Po hlađenju u epruvete se dodaje po 6 mL fosfovanilinskog reagensa. Sadržaj epruveta se izmeša i ostavi da se tokom 30 minuta razvije boja. Zatim se meri ekstinskučiju na 530 nm.

Koncentracija ukupnih lipida u serumu se izračunava prema sledećoj formuli:

$$C(g/L) = (E_{uz}/E_{st}) \times C_s.$$

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE HOLESTEROLA U KRVNOM SERUMU (PO KING-U)

- Reakcija po Kingu koja služi za dokazivanje holesterola je dvofazna. Najpre anhidrid sirćetne kiseline oduzima vodu i oksidiše holesterol. Novoformirano jedinjenje, koje je nezasićeni ugljovodonik, kondenzuje se u duže nizove. U drugoj fazi nizovi reaguju sa koncentrovanom H_2SO_4 i obrazuju obojene kompleksne produkte. Prvo se razvija crvena boja, koja prelazi u plavu i zatim u stabilnu zelenu.

Materijal za izvođenje metode: 96% alkohol, etar i hloroform; anhidrid sirćetne kiseline; koncentrovana H_2SO_4 ; standard holesterola (100 mg holesterola rastvoren u 100 mg hloroforma. 0,5 mL ovog rastvora, 4,5 mL hloroforma, 2 mL anhidrida sirćetne kiseline i 5 kapi koncentrovane H_2SO_4).

Način izvođenja metode: U konusnu epruvetu za centrifugiranje ulije se 8 mL 96% alkohola, 2 mL etra i 0,2 mL ispitivanog seruma. Epruveta se zatvoriti gumenim čepom, dobro promuća i ostavi položena pola sata na sobnoj temperaturi i potom izvršiti centrifugiranje. Bistri supernatant se odlije u Erlenmajerovu bočicu od 50 mL. Tečnost iz bočice treba da ispari zagrevanjem u kupatilu sa ključalom vodom. Suvom ostatku dodaje se 5 mL hloroforma, 2 mL anhidrida sirćetne kiseline i 5 kapi koncentrovane H_2SO_4 . Ostavi se da stoji u mraku na 37°C tokom 7 minuta i očita ekstinkcija standarda pa ekstinkcija probe na 660 nm.

Koncentracija holesterola se izračunava prema sledećoj formuli:

$$C(mg/L) = (E_{uz}/E_{st}) \times 250 \times 10.$$

BIURETSKA REAKCIJA ZA KVANTITATIVNO ODREDIVANJE KONCENTRACIJE PROTEINA

- Biuretska reakcija se odvija na peptidnim vezama proteina, a pozitivna je ako ispitivani materijal sadrži barem dve peptidne veze. Kompleksno biuretsko jedinjenje ljubičaste

boje dobija se kada proteini/peptidi dođu u reakciju sa razblaženim rastvorom bakar-sulfata u prisustvu NaOH. Intenzitet boje biuretskog kompleksa direktno je proporcionalan koncentraciji proteina u uzorku. Fotometrijsko merenje se vrši pomoću žuto-zelenog filtera (545 nm). Boja je stabilna nekoliko sati.

Materijal za izvođenje metode i njegova priprema: biuretski reagens, rastvor NaOH masene koncentracije 30 g/l. Biuretski reagens se pravi na sledeći način: rastvori se 17,3 g CuSO₄ x 5H₂O u 100 ml destilovane vode. U posebnoj čaši se rastvori 173 g Na-citrata i 100 g Na₂CO₃ (anhidrida) u 800 ml destilovane vode uz zagrevanje. Sadržaj se profiltrira u normalan sud od 1000 ml. Posle hlađenja dodaje se rastvor CuSO₄ i dopunjava sa destilovanom vodom do 1000 ml.

Način izvođenja metode: 1. 4,9 ml NaOH, 0,1 ml seruma, 1,0 ml biuretskog reagensa; 2. 5 ml NaOH i 1,0 ml biuretskog reagensa (slepa proba). Epruvete se izmešaju i stavljuju da odstope 15 minuta na sobnoj temperaturi zatim se očitava intenzitet razvijene boje na kolorimetru.

Koncentracija proteina u serumu se izračunava prema sledećoj formuli:

$$\text{koncentracija proteina (g/l)} = (E_{\text{uz}}/E_{\text{st}}) \times C_{\text{st}} \times 10$$

ODREĐIVANJE MASNIH KISELINA IZ LIPIDA GASNO-TEČNOM HROMATOGRAFIJOM - U ovoj vrsti hromatografije mobilna faza je gasovita, a stacionarna faza je tečna. Za određivanje masnih kiselina obično se koristi azot kao mobilni gas, uz primenu hidrogen-plamenog ionizacionog detektora. Inertni gas, kao mobilna faza, ima funkciju nosača ili transportera slobodnih masnih kiselina kroz kolonu. Kolona je izgrađena od inertnog čvrstog materijala i predstavlja nosač stacionarne faze, koju čini neisparljiva tečnost uniformno dispergovana duž kolone. Ta stacionarna faza selektivno zadržava različite slobodne molekule rastvora, tako da ovi napuštaju kolonu u različito vreme. Prolaskom gasa kroz odgovarajući detektor mogu se dobiti, pomoću pisača ili na monitoru, količine razdvojenih masnih kiselina.

Gasni hromatograf se sastoji od: a) injektirane kutije sa brzim grejanjem, b) metalne ili staklene dugačke kolone smeštene u termostatiranoj peći, c) detektor za registrovanje pikova koji se odnose na količinu selektivno razdvojenih masnih kiselina.

Postupak određivanja masnih kiselina gasnom hromatografijom odvija se u tri faze: 1) pripremanje apsolutno suvog metanola, 2) metanoliza i esterifikacija masnih kiselina, 3) hromatografsko razdvajanje i očitavanje.

Priprema apsolutnog metanola – U destilacioni balon (2 lit.) se stavlja 5 g magnezijumovih opiljaka i 0,5 g resublimovanog joda i spaja se sa povratnim kondenzatorom. Kroz otvor kondenzatora unosi se u balon 50 ml apsolutnog metanola i smeša se zagreva sve dok jod ne isčeze (nestanak boje), pri čemu se vodonik energično izdvaja, a magnezijum prelazi u Mg-metoksid. U slučaju slabog toka reakcije dodaje se naknadno 0,5 g joda i ponovo zagreva do potpunog formiranja metoksid-a. Sistemu zatim dodati 900 ml metanola i zagrevati u toku 30 min. Destiliše se metanol pod anhidrovanim uslovima umetanjem jedne suve otvorene cevi napunjene sa CuSO₄ i spojene sa kolektorskim adaptorom. Odbacuje se prvi 50 ml destilata. Balon sa suvim metanolom, koji je pokriven, stavlja se na vagu i vrlo lagano se pušta mehuriće HCl kroz metanol sve dok vodonikhlorid ne dostigne 6% od ukupne težine. Ovaj balon sadrži dva lateralna

otvora sa polietilenskim zatvaračima, pri čemu se kroz jedan od njih uvodi HCl u metanol, a drugi služi za izvođenje neapsorbovanog gasa. Gas HCl se predhodno propušta kroz koncentrovanu sumpornu kiselinu. Neapsorbovana HCl se hvata u posebnu bocu koja sadrži zasićeni voden rastvor NaOH. 6%-HCl-metanol se u polietilenskim balonima od 250 ml čuva na -20°C do jedne godine.

Način izvođenja metode:

Esterifikacija pojedinih klasa izolovanih lipida HCl-metanolom – U kivete koje sadrže pojedine frakcije lipida, predhodno razdvojene hromatografijom na tankom sloju, dodaje se 4 ml predhodno pripremljenog metanol-HCl rastvora i odmah uz povratni kondenzator drži se na suvom (peščanom) kupatilu na 86°C u trajanju od 2 časa (vreme potrebno za metanolizu triglicerida) odnosno 24 časa (za sfingomieline, cerebrozide i voskove). Posle esterifikacije kivete se odvoje od kondenzatora, zatvore se zapušaćem i ohlade na sobnoj temperaturi. U tako ohlađenu kivetu dodaje se 8 ml destilovane vode i energično pomeša. Smeši se potom doda 5 ml petrol-etra, dobro pomeša i ostavi da se emulzije razdvoje u faze. Gornja faza (petrol-estarska faza) se ukloni pažljivo pipetom i stavi se u graduisanu kivetu za centrifugiranje.

Hromatografija metilnih estara – Odredi se stabilnost instrumenata registrovanjem bazne linije na pisaču, u periodu 2h okvir u kome ta linija treba da je potpuno ravna i sledi najnižu horizontalnu liniju na registratorskom papiru. Posle stabilizacije injektirati 0,1 do 4 µl standardne smeše metil estara (sastoji se od laurata, miristata, palmitata, palmitoleata, stearata, oleata, linoleata, linolenata i arahidonata). Sadržaj se brzo unosi i izlači brizgalica. Na pisaču se odmah obeleži početna-referentna tačka merenja (sa O), značajnu za izračunavanje vremena retencije. Ako postoji računarsko kontrolisan proces, baždarenje i početno obeležavanje se automatski vrši.

Promene koje registruje detektor se upisuju u formi pikova na papiru pisača ili na računarskom dijagramu, pri čemu svaki pik treba da se po visini nalazi u okviru širine papira, ako je pisač u pitanju. Ukoliko je potrebno u toku analize smanjiti visinu pika, onda se pik mora obeležiti. Ako je razdvajanje u koloni kvalitetno pikovi će biti simetrični sa ravnom baznom linijom i neće se preklapati međusobno. Međutim, perfektno dobijanje pikova je vrlo teško ako se u uzorku-smeši nalazi dosta različitih kiselina sa različitim koncentracijama.

Posle završetka razdvajanja i registrovanja neophodno je odrediti vreme retencije za svaki pik (estar), merenjem rastojanja od obeležene tačke O do centra svakog pojedinačnog pika. Razdvojeni pikovi iz standardne miksture imaju redosled odvajanja: 12:0, 14:0, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3 i 20:4.

Nakon hromatografisanja standardne miksture i određivanja vremena retencije za svaki metil-estar iz smeše se u kolonu injektira 5 µl metil-estarskog ekstrata iz uzorka kao u predhodnoj analizi standarda. Odredi se vreme retencije.

Upoređivanjem vremena retencije kiselih estara iz standardne smeše sa onima iz analiziranog uzorka može se identifikovati kiselinski sastav (metil-estri) uzorka i njihov odnos koncentracija.

Površina pika se lako određuje softverski. Međusobnim upoređivanjem površine pika i ukupne površine svih pikova lako se određuje zastupljenost pojedine masne kiseline, tj. njenog metil-estra.

Prilikom rada sa gasnim hromatografom mora se paziti da kolone budu u dobrom stanju, tako da kapacitet razdvajanja i retencija za metil estre treba da budu nepromenjeni tokom dana. Kada se to više ne može postići kolonu treba zameniti.

Sjedinjenjem solventa i posebnom obradom, on se može konzervisati i čuvati za eventualne dodatne analize.

ODREĐIVANJE NEESTERIFIKOVANIH MASNIH KISELINA (NEFA) - NEFA vezane za albumin predstavljaju vrlo značajni pokazatelj energetskog metabolizma, a njihovo određivanje je posebno indikovano kod krava u peripartalnom periodu. NEFA se u svakodnevnom kliničkom radu određuje enzimatskom metodom upotrebljavajući Acil-CoA oksidazu, koja daje odličnu specifičnost i standardizovanu proceduru. Kao bojeni indikator koristi se 3-metil-N-etil-N-(β -Hidroksietil)-anilin, koji se boji ljubičasto.

Tok reakcija je sledeći: 1) aktivacija slobodnih masnih kiselina uz delovanje acil-CoA-sintetaze; 2) oksidacija cil-CoA sa acil-CoA-oksidazom uz nastanak vodonik peroksida; 3) oksidativno spajanje 4-aminofenazona i 3-metil-N-etil-(β -Hidroksietil)-anilina sa vodonik peroksidom u ljubičato-crvenkast proizvod.

Rastvori:

Rastvor 1 – acetil-CoA, ATP i acetil-CoA-sintetazu u tris puferskom rastvoru pH 7,6;

Rastvor 2 – acil-CoA-oksidaza, peroksidaza, 4-aminofenazon i 3-metil-N-etil-(β -Hidroksietil)-anilina.

Merenje se vrši standardnom fotometrijskom metodom pri talasnoj dužini od 546 nm, na 37°C, a meri se apsorbanca nasuprot slepoj probi reagensa.

U tabeli su prikazani sadržaji epruveta:

	Slepa proba	Standard	Uzorak
Dejonizovana voda	0,05 ml	/	/
Kalibracioni pool serum	/	0,05 ml	/
Serum/plazma	/	/	0,05 ml
Rastvor 1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Epruvete začepiti, sadržaj dobro promućati i staviti ih u vodeno kupatilo tokom 10 minuta.			
Rastvor 2	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Posle stavljanja rastvora 2 u epruvete ponovo dobro promućkati epruvete i 10 minuta ih staviti u vodeno kupatilo. Zatim se epruvete hlade na sobnoj temperaturi i meri se absorbanca rastvora. Postojanost obojenog proizvoda trebala bi da bude najmanje 20 minuta.

Izračunavanje se vrši po sledećoj formuli:

$$NEFA \text{ (mmol/l)} = (Aps.\text{uzorka}/Aps.\text{standarda}) \times Konc.\text{standarda}.$$

KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE LIPOPROTEINA SERUMA ELEKTROFOREZOM NA TANKOM SLOJU AGAROZE - Za izvođenje ove metode potrebno je: serum, puferски rastvor Na-barbitala koncentracije supstance 0,05 mol/l, pH 8,6 sa rastvorom EDTA koncentracije mase 0,35g/l; kolorimetrijska Fat Red 7B boja u smeši metanol-voda u odnosu 2; kadica za elektroforezu sa ugljenim elektrodama i poklopcem sa držačem za gel; agarozni gel; mikrolitarska pipeta; transformator jednosmerne struje i komora za sušenje gelova (temperatura 70°C).

Način izvođenja metode: U oba dela kadice sipa se po 100 ml pufera tako da se ne ovlaži pregradni zid. Pažljivo se izvadi pločica gela iz vrećice i na obeleženo mesto prema katodnom delu nanese 0,1 µl seruma. Ploča gela agaroze smesti se u poklopac, poklopi se kadica tako da krajevi gela budu uronjeni u pufer, a potom uključiti izvor jednosmerne struje. Razvijanje reakcije traje 45 minuta od uspostavljanja elektročnog kola. Po završenoj elektroforezi gel se izvadi iz poklopca, ocedi višak pufera i suši 30 minuta u komori za sušenje, a potom se na površinu gela se nanese 10 ml radnog rastvora boje. Bojenje gela traje 4 minuta, posle čega se boja ocedi, a gel ispira 20 sekundi u kadi sa smešom metanola i vode. Ukoliko se gel denzitometrički ispiranje se vrši samo u destilovanoj vodi. Po ispiranju gel se suši u komori oko 15 minuta, posle čega se koncentracija lipoproteina određuje denzitometrijski na 520 nm.

RAZDVAJANJE POJEDINIХ FRAKCIJA FOSFOLIPIDA IZ TKIVA HROMATOGRAFIJOM NA TANKOM SLOJU - Za izvođenje ove metode potrebni su: dobijeni ekstrakt lipida, mešavina hloroform-metanol-voda (65:25:5, v/v), pripremljene ploče sa silika-gelom, kade, tegla sa jodom i fen. Način izvođenja metode: Za hromatografiju se upotrebljavaju staklene ploče, dimenzija 20x20 cm. Na ploču se celom širinom stavlja tanak sloj adsorbensa (0,5 mm debljine). Kao adsorbens služi silika-gel, koji sadrži određenu količinu kalcijum-sulfata. Posle sušenja u sušilici, ploče se čuvaju u eksikatoru. Za razvijanje hromatograma na ploču se nanosi određena količina pripremljenog ekstrakta, na rastojanju 2 cm od osnove ploče. Ukoliko se ekstrakt nanosi na više mesta, razdaljine između mesta nanošenja ne sme biti manje od 1 cm. Supstance se nanose vrlo pažljivo da se ne naruši integritet sloja adsorbensa. Za razvijanje hromatograma upotrebljava se mešavina hloroform-metanol-voda (65:25:5, v/v).

Vreme razdvajanja traje oko 60 minuta. Posle razvijanja ploče se vade, osuše fenom i stave u teglu sa elementarnim jodom radi otkrivanja pojedinih lipidnih frakcija.

Pored opisane, kvalitativne metode, dobijene frakcije mogu se i kvantitativno odrediti. U tom cilju, frakcije se sastružu sa ploče, prenesu u retorte, eluiraju pomoću organskih rastvarača a

njihova količina se određuje kolorimetrijskim metodama, preko jedne od komponenata (P, holina, šećerne komponente, itd.).

ODVAJANJE PROTEINA KRVNOG SERUMA ELEKTROFOREZOM NA PAPIRU - Ova metoda se izvodi pomoću aparata za elektroforezu. On se sastoji iz tri osnovna dela: vlažne komore, elektroda i elektromagnetskog stabilizatora struje. Vlažna komora je sud koji se hermetički pokriva staklenom pločom. U komori se sa strane nalaze dve manje posude (komore), koje su ispunjene puferom. Ove posude su nepokretnom pregradom podeljene na spoljašnji i unutrašnji deo. U spoljašnjem delu pričvršćene su elektrode (sa jedne strane anoda+, a sa druge katoda-), koje su okružene staklenim labirintnim sistemom, što onemogućuje elektrolitičke promene u pufernog rastvoru. U unutrašnji deo bočnih posuda, koji je takođe ispunjen puferom, umaču se papirne trake za elektroforezu. Bočne posude su vezane spojnim mostom od plastike. Pošto se nakvase puferskim rastvorom, papirne trake se postave na spojni most, a zatim urone u unutrašnje pregrade bočnih posuda. Posle nanošenja materijala na papirne trake komora se hermetički poklopi staklenom pločom, da bi se postigla zasićenost vazduha vodenom parom, što sprečava isušivanje traka. Elektromagnetski stabilizator daje jednosmernu struju konstantnog napona. Obično se upotrebljava napon od 110 V ili 300-400 V, pri jačini struje od 2-4 mA. Elektroforetska komora je povezana sa stabilizatorom preko koga se aparat i uključuje, a pomenute komponente zahtevaju uzemljenje.

Za izvođenje ove metode potrebni su reagensi i pribor: a) fosfatni pufer pH=7,5 (odvojeno se rastvara 11,9 g Na₂HPO₄•12H₂O i 9,1 g KH₂PO₄ u destilovanoj vodi se svaki rastvor dopuni do 1 litra. Za dobijanje pufera potrebno je 900 ml rastvora Na₂HPO₄ sa 100 ml rastvora KH₂PO₄); b) boja (rastvor brom-fenol plavila masene koncentracije 5,0 g/l – rastvori se 2 g NH₄Cl u 1 litar rastvora sirćetne kiseline masene koncentracije 50 g/l i doda se 1 g kristalnog brom-fenolskog plavila, dobro se promeša i ostaviti da stoji 24h, uz povremeno mešanje, a sledećeg dana se profiltrira rastvor sirćetne kiseline masene koncentracije 2,0-5,0 g/l); c) svež serum; d) pribor za elektroforezu; e) list hartije za filtraciju; f) mikropipete za nanošenje seruma na papir za elektroforezu; g) štipaljke; h) kivete za boju; i) kivete za kiselinu; j) stativ; k) staklena ploča; l) uređaj za sušenje traka.

Način izvođenja metode: 1) napune se bočne posude fosfatnim puferom, tako da pufer prekrije gornju ivicu nepokretne pregrade, a nivo pufera u obe bočne pregrade mora biti izjednačen; 2) u spoljne pregrade postave se elektrode; 3) puferom iz kiveta nakvase se trake filter-papira za elektroforezu i postave se preko spoljnog mosta, tako da im krajevi budu uronjeni u pufer, koji se nalazi u unutrašnjim pregradama bočnih posuda; 4) na rastojanju 6-8 cm od kraja spojnog mosta nanos sei mikropipetom na papirne trake 0,010-0,015 ml seruma. Serum se nanosi sa strane katode. Pokrije se komora i spoji sa ispravljačem. Proveri se voltaža i snaga elektročnog polja; 5) razdvajanje frakcija belančevina traje 6-24h, u zavisnosti od voltaže.

Po završenom odvajanju napon se snizi na nulu, a potom se pribor isključi. Papirne trake se pažljivo vade i stave u komoru za sušenje (90-110°C) tokom 20-30 minuta. U toku sušenja frakcije se fiksiraju na hartiji.

Suve trake se prenesu pincetom u kivete sa bojom (kiseli rastvor brom-fenolskog plavila). Bojenje traje 20-30 minuta. Višak boje se ispere u 2,5% rastvoru sirćetne kiseline. Kiselinu treba menjati 2-3 puta. Po bojenju trake se osuše na vazduhu.

Za kvantitativno određivanje pojedinih frakcija proteina postoji više metoda. Obojene trake se mogu eluirati i potom fotometrirati na 550-600 nm, pa se ekstinkcija pojedinih frakcija određuje iz sledeće formule: $(\text{ekstinkcija frakcije} \times 10) / \text{ekstinkcija svih frakcija}$. Drugi metod je da se trake stave direktno u aparat (denzitometar), kada se kroz trake propušta snop svetlosti i intenzitet gašenja svetlosti proporcionalan je gustini frakcije. Propuštenu svetlost hvata fotoćelija i pretvara je u električni impuls, pa se formira kriva sa pikovima koji odgovaraju određenoj frakciji belančevina. Kvantitativni odnos frakcija proteina izračunava se preko površine pikova. Treća metoda za određivanje frakcija je da se neobojene trake izrežu ekstrahuju a količina proteina odredi po Kjeldahlu. Lokacija frakcije se određuje pomoću bojene trake istog uzorka.

Pri izvođenju ove metode serum mora biti svež i nehemoliziran.

Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Opiši metodu za određivanje glikemije u krvi.

Zadatak 2: Navedite postupak intravenskog glukoza tolerans-test (IVGTT) i nacrtajte dijagram koncentracije glukoze i insulina kod zdrave i obolele životinje.

Zadatak 3: Navedite način izračunavanja i K- vrednosti za funkcionalni status pankreasa preživara?

Zadatak 4: Navedite primenu i postupak izvođenja testa tolerancije epinefrina.

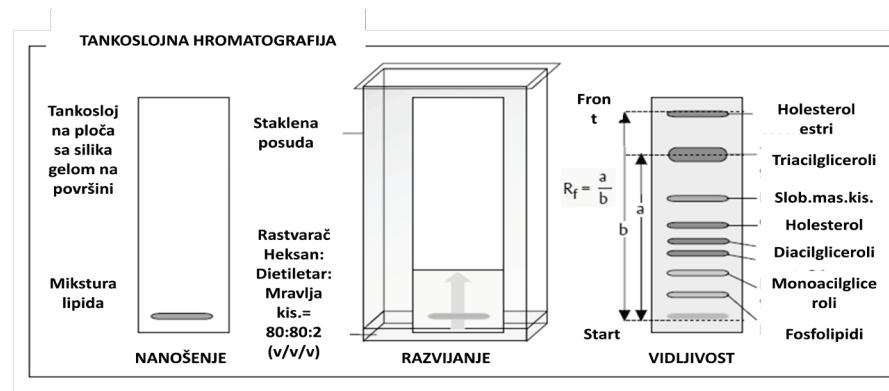
Zadatak 5: U tabeli su navedeni poremećaji koji nastaju kao posledica dijabetesa. Upišite vrednosti urina i krvi kod ovih dijagnoza.

Dijagnoza	Plazma		Mokraća	
	Glukoza	HCO ₃ ⁻	Glukoza	Ketoni
Ketoacidoza				
Hiperosmolarna koma				
Hipoglikemija				
Cerebrovaskularno oštećenje				

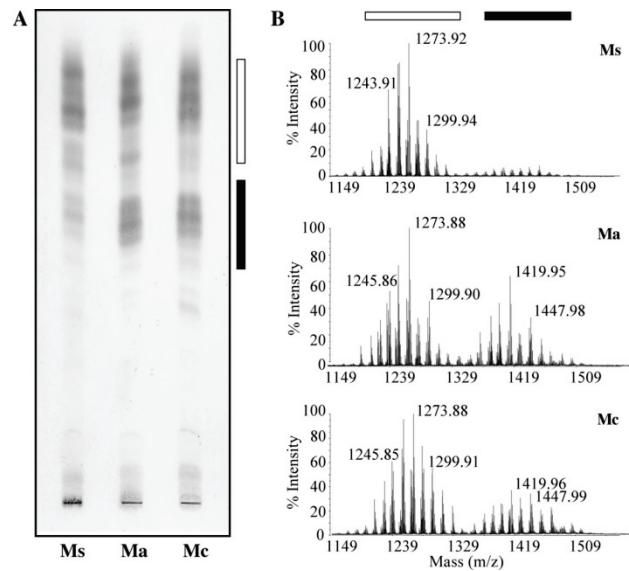
Zadatak 6: Na fotografiji je prikazana epruveta sa krvi. Navedite da li je koncentracija masti u prikazanom uzorku krvi normalna ili izmenjena.



Zadatak 7: Na fotografiji je prikazana metoda odvajanja lipida tankoslojnom hromatografijom. Objasnite ovu metodu.



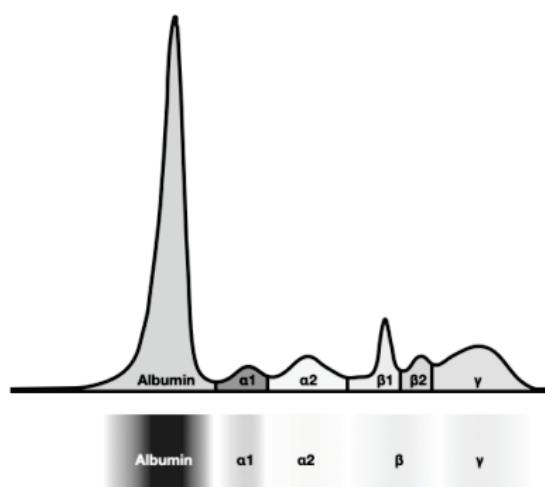
Zadatak 8: Na fotografiji su prikazani rezultati tankoslojne hromatografije i masenospektrofotometrijske analize uzorka lipida u tri različita uzorka. Objasnite i uporedite dve navedene metode i njihovu primenu.



Zadatak 9: Napišite podelu lipida prema kretanju u elektroforezi i prema gustini.

Zadatak 10: Objasnite metod izvođenja holesterol-oksidaza testa.

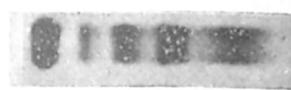
Zadatak 11: Na fotografiji je prikazan postupak denzitometrije i eluicije serumskih proteina. Objasnite ovaj postupak.



Zadatak 12: Na fotografiji su prikazani eletroforegrami proteina. Nacrtajte iznad zadatih eletroforegrama proteina mogući izgled denzitograma.



NORMALAN



NORMALAN



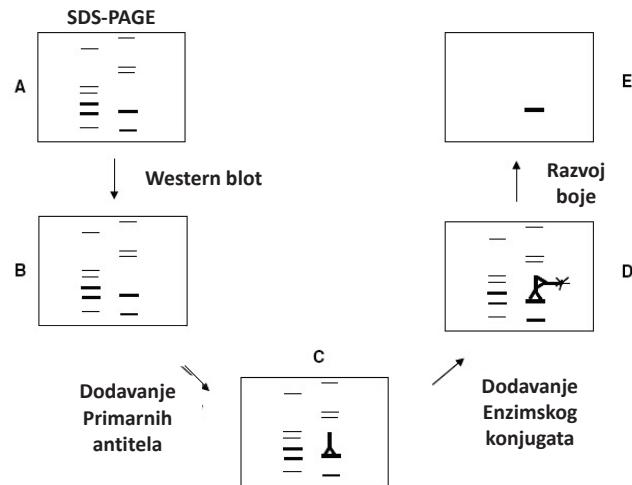
AKUTNO OŠTEĆENJE TKIVA
(povišene frakcije α_1, α_2)



NEFROTIČNI SINDROM
(niski alb, povišeni α_2)

Zadatak 13: Objasnite postupak i nacrtajte šemu ispitivanja paraproteinemija.

Zadatak 14: Na šemi je prikazana Western blot metoda. Objasnite za šta se ona koristi i postupak njenog izvođenja.



Zadatak 15: Navedite osnovne principe u dijagnostičkoj enzimologiji.

Zadatak 16: Određivanje ukupnih serumskih proteina

Zadatak 17: Određivanje fibrinogena

Zadatak 18: Elektroforeza proteina-denzitometrija i eluicija

Zadatak 19: Najčešće promene u elektroforegramu proteina

Zadatak 20: Elektroforetsko odrđivanje paraproteinemije

Zadatak 21: Određivanje glikemije u punoj krvi

Zadatak 22: Oralni glukoza tolerans test

Zadatak 23: Određivanje C-peptida (C-p) u metabolizmu ugljenih hidrata

Zadatak 24: Klinički i biohemski znakovi u ketoacidozi sa diferencijalnom dijagnozom – tabelarni prikaz

Zadatak 25: Glavni lipidi krvi i njihovo određivanje

Zadatak 26: Diferencijalna dijagnoza hiperlipoproteinemija – tabelarni prikaz

Slučaj:

Dijagnoza: Diabetična ketoacidoza sa steroidnom hepatopatijom i hroničnim pankreatitism

Hematology

RBC	6.74 M/ μ L	(5.50 - 8.50)				
HCT	48.9 %	(37.0 - 55.0)				
HGB	16.6 g/dL	(12.0 - 18.0)				
MCV	72.6 fL	(60.0 - 75.0)				
MCHC	34.0 g/dL	(30.0 - 37.5)				
RDW	10.0 %	LOW (11 - 17)				
WBC	19.35 K/ μ L	HIGH (6.0 - 17.0)				
Neutrophil	17.40 K/ μ L	HIGH (3.00 - 11.4)				
Lymphocyte	0.58 K/ μ L	LOW (1.0 - 4.0)				
Monocyte	0.77 K/ μ L	(0.15 - 1.35)				
Eosinophil	0.19 K/ μ L	(0.10 - 0.75)				
Basophil	0 K/ μ L	(0.00 - 0.10)				

Chemistry

GLU	509 mg/dL	HIGH (80 - 100)				
BUN	101 mg/dL	HIGH (10 - 25)				
CREA	3.7 mg/dL	HIGH (0.0 - 1.3)				
PHOS	3.2 mg/dL	LOW (3.3 - 5.8)				
Ca	8.4 mg/dL	LOW (9.5 - 11.8)				
Na	124 mmol/L	LOW (146 - 160)				
K	3.0 mmol/L	LOW (3.5 - 5.9)				
Cl	95.3 mmol/L	LOW (108 - 125)				
tCO ₂ (Bicarb)	12.0 mmol/L	LOW (13.9 - 30)				
Anion Gap	30.4 mmol/L	HIGH (11.8 - 23.1)				
TP	6.6 g/dL	(5.1 - 7.3)				
ALB	3.7 g/dL	HIGH (2.6 - 3.5)				
GLOB	2.9 g/dL	(2.6 - 5.0)				
A/G	1.3	(0.9 - 1.9)				
ALT	106 U/L	(26 - 200)				
AST	127 U/L	HIGH (15 - 50)				
ALKP	1532 U/L	HIGH (4 - 95)				
TBIL	0.48 mg/dL	HIGH (0.1 - 0.3)				
CHOL	205 mg/dL	(68 - 224)				
CK	189 U/L	(92 - 357)				
Hemolysis Index	26	(3 - 56)				
Lipemia Index	7	(0 - 35)				
Icterus Index	0	(0 - 0)				

Blood Gas Analysis (venous)

pH	7.29	LOW (7.35 - 7.45)				
PCO ₂	23.3 mmHg	LOW (32 - 49)				
PO ₂	48.8 mmHg	HIGH (24 - 48)				
HCO ₃	11.3 mmHg	LOW (13.9 - 30)				

Urinalysis (sample collected after fluid therapy)

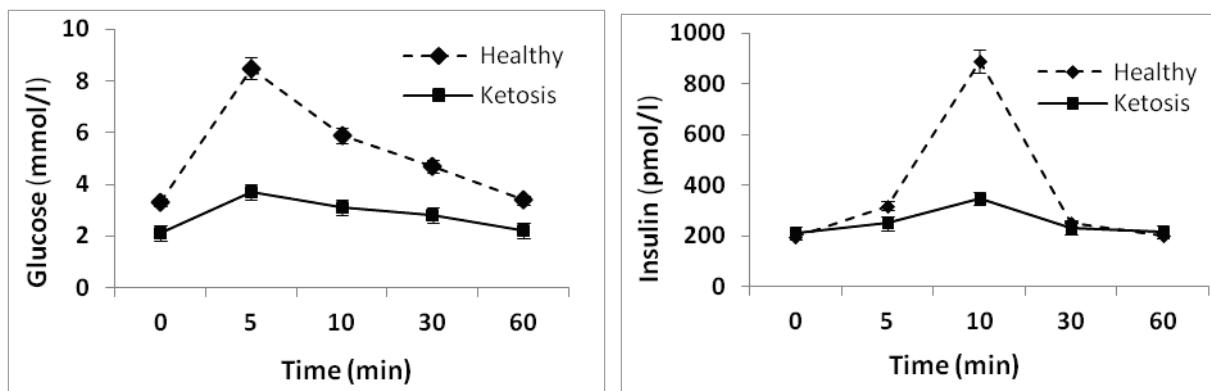
Specimen	Cystocentesis
Color	Yellow
Appearance	Cloudy
Specific gravity	1.014
pH	5.5
Protein	Trace
Glucose	3+
Ketones	1+
Bilirubin	1+
Blood	2+
Urobilinogen	0.2
Bacteria	Negative
Epithelial cells	0-3

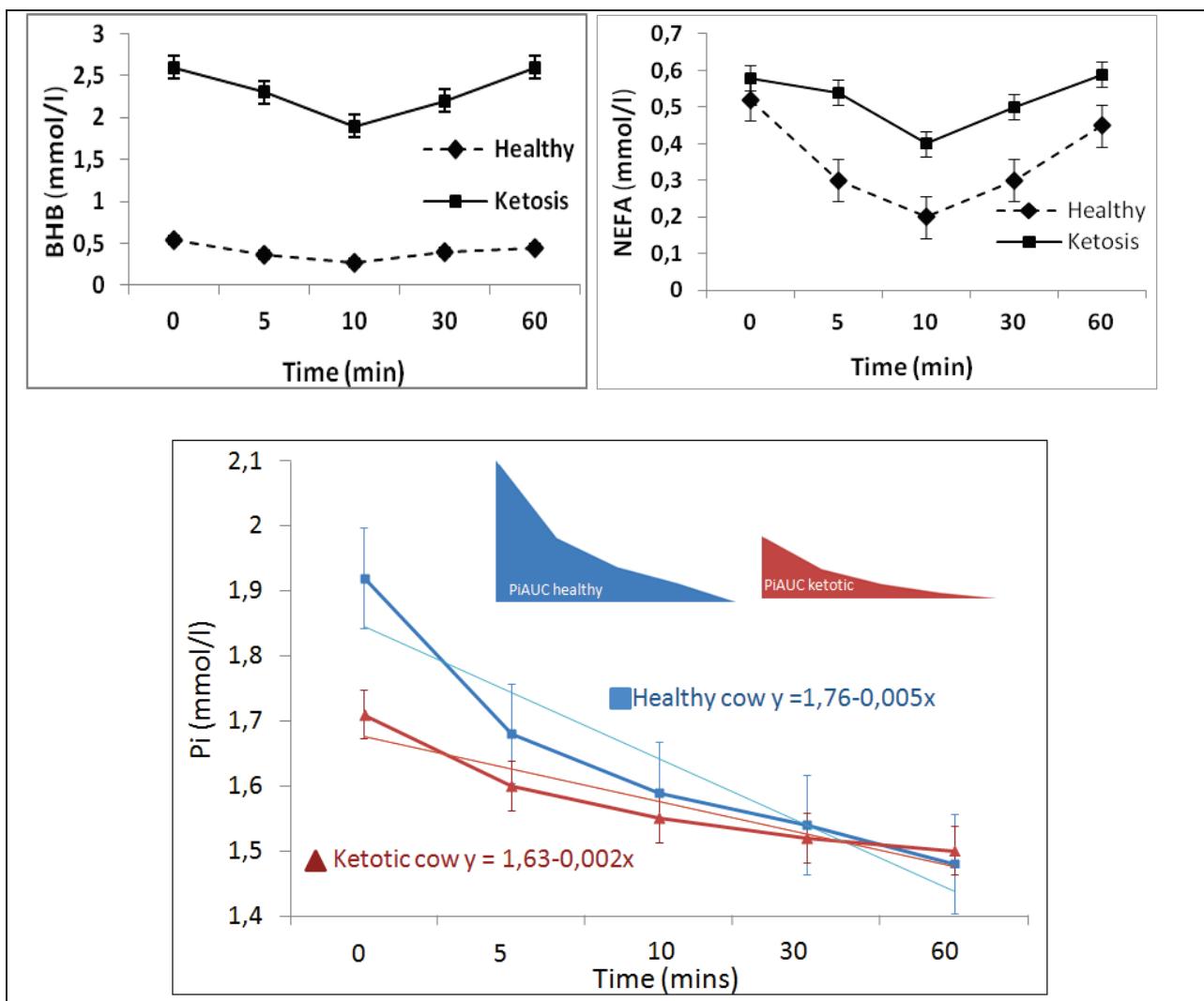
Tumačenje:

Slučaj

Odgovor zdravih i ketozih krava na IVGTT i koncentracija fosfora

Ketozi krave su dobar model za ispitivanje insulinske rezistencije. Ispitivali smo vezu između odgovora insulina, glukoze i neorganskog fosfora kod krava koje su u ketozi i koje nisu u ketozi. Pokazano je da kod krava u ketozi mnogo manje opada koncentracija fosfora posle intravenskog glukoza tolerans testa (IVGTT), dok je odgovor glukoze i insulina množajno slabiji uz slabiji klirens glukoze. Sve navedeno ukazuje da odgovor fosfora može biti od koristi prilikom analize insulinske rezistencije krava u ketozi. Kod krava aplikacija glukoze dovodi do pada koncentracije fosfora u krvi, a uslovljena je porastom vrednosti insulina. Kod ljudi je nađeno da je potrošnja glukoze kao efikasnost odgovora tkiva na insulin bila viša posle infuzije fosfata tokom studija sa euglikemiskim klampom. Nedostatak fosfora smanjuje lučenje insulina iz beta ćelija pankreasa. Nedostatak fosfata je u vezi sa insulinskog rezistencijom tkiva i intolerancijom na glukozu. Ketoza je jedan od najčešćih metaboličkih poremećaja kod krava. U svojoj osnovi ona nastaje kao posledica negativnog energetskog bilansa, kada se povećano koriste lipidi za energetske potrebe, za šta je potrebno postojanje insulinske rezistencije. Insulinska rezistencija u ketozi se odlikuje smanjenom koncentracijom insulina i glukoze, smanjenim odgovorom insulina na glukozu, povećanom lipidnom mobilizacijom i ketogenezom i smanjenjem vrednosti QUICKI indeksa insulinske rezistencije. Karakteristike insulinske rezistencije prilikom smanjenog unosa hrane su slabiji odgovor insulina na glukozu, niža glikemija i niži klirens glukoze tokom IVGTT, povećana lipidna mobilizacija i ketogeneza. Zbog negativnog energetskog bilansa i insulinske rezistencije kao zajedničke funkcionalne osnove bilo je opravdano napraviti model ogleda u kome će se naći krave u ranoj laktaciji koje su ušle i koje nisu ušle u ketozu, odnosno koje su se dobro i loše prilagodile metaboličkim promenama. Patofiziološke promene koje prate ranu laktaciju i ketozu omogućuju da se ovaj model iskoristi u izučavanju uticaja insulinske rezistencije na odgovor Pi tokom IVGTT. Naime, pad koncentracije fosfora u krvi nastaje kao posledica prelaska fosfora iz ekstracelularnog u intracelularni prostor, povećanog odavanja fosfora putem mokraće ili smanjenom apsorpcijom fosfora iz hrane. Prvi mehanizam je po svom trajanju kratkotrajan, dok ostala dva zahtevaju duže trajanje primarnog uzroka problema. Krave u ranoj laktaciji uzimaju manju količinu hrane u odnosu na potrebe što je značajan uzrok i jedan od glavnih znaka ketoze, pa se niža koncentracija Pi kod ketozih krava može povezati sa smanjenim unosom hrane. Takođe, u ketozi krava dolazi do pada pH vrednosti u krvi uz metaboličku acidozu, a poznato je da lekovi koji izazivaju metaboličku acidozu mogu dovesti do hipofosfatemije. Sa druge strane utvrđeno je da hipofosfatemija ima veze sa smanjenom proizvodnjom insulina i razvojem rezistencije na insulin, što je jedno od osnovnih karakteristika insulinske rezistencije u ketozi. Aplikacija glukoze dovodi do pada koncentracije fosfora tokom IVGTT. Poznato je da aplikacija insulina kod ljudi sa dijabetesom dovodi do blage hipofosfatemije. Krave koje su imale slabiji odgovor insulina tokom IVGTT pokazivale su manji klirens Pi, što potvrđuje značajnu ulogu insulina u procesu regulisanja koncentracije Pi.



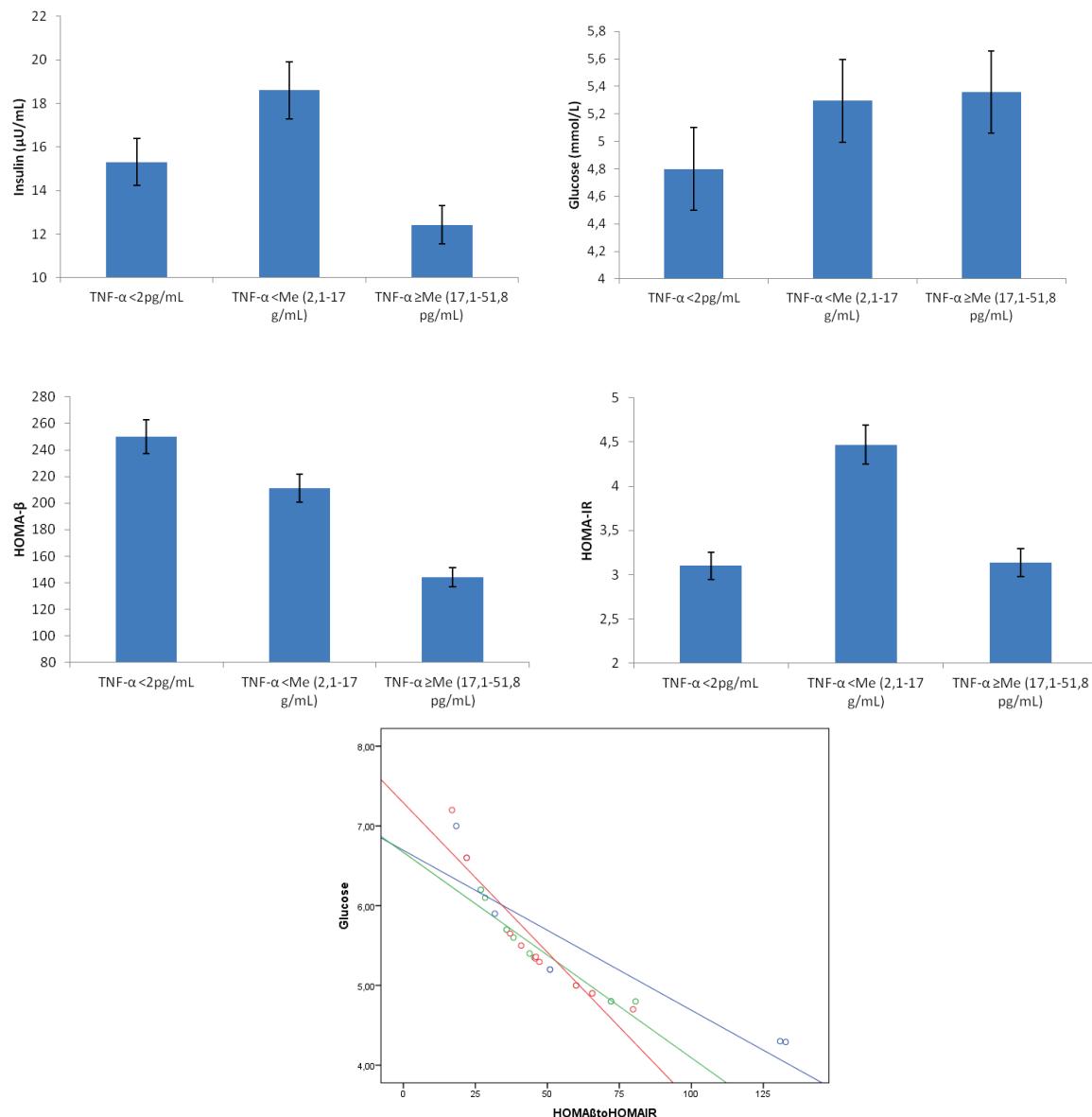


Slučaj:

TNF-alfa kod normoglikemijskih pasa i insulinska rezistencija

Cilj ovog rada je da se ispita povezanost cirkulišućeg TNF- α sa produkcijom insulina i indeksima insulinske rezistencije kod euglikemičnih pasa normalne telesne kondicije. U ogled je uključeno 70 pasa. Utvrđene su koncentracije TNF- α , pa su zatim napravljene grupe: 1. psi koji nemaju detektabilne koncentracije TNF- α (0-2,0 pg/ml) N=50, 2. psi čije se vrednosti TNF- α nalaze ispod medijane (2,1-17,0 pg/ml) N=10; i 3. psi kod kojih je koncentracija TNF- α iznad medijane (17,1-51,8 pg/ml), N=10. Koncentracija cirkulišućeg TNF- α utiče na vrednosti indeksa, glukoze i indeksa insulinske rezistencije. Vrednost insulina je bila najviša u grupi gde je TNF- α ispod Me, a najniža u grupi gde je TNF- α iznad medijane; dok se u grupi pasa sa nedetektibilnim vrednostima TNFalfa vrednost insulina nalazi između najviše i najniže. Vrednost glukoze je najniža kod prve grupe, pa raste sa porastom koncentracije TNF- α . HOMA- β indeks je pokazao tendenciju opadanja sa porastom koncentracije TNF- α , pa je najviši u grupi koja nema detektabilni nivo TNF- α , a najniži u grupi gde je TNF- α iznad medijane. HOMA-IR je pokazao najviše vrednosti u grupi pasa gde je TNF- α ispod Me, a najniže gde je TNF- α iznad Me, dok se nedetektibilna grupa se nalazi između ove dve vrednosti. Nađena je pozitivna korelacija između vrednosti HOMA- β i HOMA-IR. Promena vrednosti glikemije u funkciji količnika HOMA- β /HOMA-IR značajno

linearno korelira u sve tri ispitivane grupe ($R^2=0,51-0,78$, $p<0,001$). Glikemija najviše raste sa opadanjem vrednosti količnika HOMA- β /HOMAIR u grupi pasa kod kojih je vrednost TNF- α bila najviša. Na osnovi svega navedenog zaključujemo da cirkulišući TNF- α kod euglikemičnih pasa može imati uticaja na sve aspekte insulinske rezistencije, kao što je produkcija insulina i insulinska rezistencija perifernog tkiva. Promena glikemije u funkciji odnosa produkциje insulina i rezistencije tkiva je najnepovoljnija kod pasa sa visokim vrednostima cirkulišuće TNF- α u krvi, što kazuje da ovaj citokin može i samostalno uticati na glikemiju, nevezano za stepen insulinske rezistnecije kod pasa.



Povezanost količnika proizvodnje i insulinske rezistencije (HOMA β /HOMAIR) i glukoze kod tri eksperimentalne grupe pasa: crvena boja ($\text{TNF-}\alpha > \text{Me}$), zelena boja ($\text{TNF-}\alpha < \text{Me}$) i plava boja ($\text{TNF-}\alpha$ nedetektabilno).

Pitanja za pismenu proveru znanja

POREMEĆAJ PROMETA UGLJENIH HIDRATA

1. Nabroj tri vrste ćelija za koje je glukoza jedini izvor energije.

2. Vrednosti glikemije kod pasa je:

- a) 3,6-6,5*
- b) 2,8-4,2
- c) 3,5-5,9
- d) 10,0-11,0

3. Preživari imaju nižu vrednost glikemije od domaćih mesojeda.

DA*

NE

4. Hipoglikemija je pad koncentracije glikoze ispod _____ mM kod nepreživara, odnosno ispod _____ mM kod preživara.

5. Pad glikemije dovodi do neuromišićne razdražljivosti.

DA*

NE

6. Pad glikemije ispod _____ mM vodi u komu.

7. U toku hipoglikemije dešava se:

- a) Povećano lučenje insulina
- b) Povećano lučenje glukagona*
- c) Povećano lučenje epinefrina*
- d) Smanjeno lučenje glukokortikoida

8. Glukagon utiče na glikogenolizu u skeletnim mišićima.

DA

NE*

9. Glukokortikoidi se povećano luče tokom hipoglikemije:

- a) Osmah po nastanku hipoglikemije
- b) Nekoliko sekundi po nastanku hipoglikemije
- c) U slučaju produžene hipoglikemije (više sati ili dana)*

10. Hipoglikemija prasadi na sisi nastaje usled:_____.

11. Neadekvatna temperatura držanja prasadi predisponira ove mladunce ka nastanku hipoglikemije.

DA* NE

12. Kako se objašnjava pojava dijareje tokom hipoglikemije prasadi?

13. Hipoglikemična koma prasadi javiće se ukoliko vrednost glikemije smanji na:

- a) 5% fiziološke vrednosti
- b) 10% fiziološke vrednosti*
- c) 15% fiziološke vrednosti
- d) 50% fiziološke vrednosti

14. U kojim od navedenih poremećaja nalazimo hipoglikemiju:

- a) insulinomu*
- b) akutnoj insuficijenciji jetre*
- c) glikogenozi *
- d) povećanom lučenju hormona nadbubrežne žlezde
- e) povećano lučenje epinefrina

15. Hipoglikemija može da se javi u:

- a) hroničnoj insuficijenciji jetre*
- b) feohromocitomu
- c) hipopituitarizmu*
- d) hipertireoidizmu
- e) hiperinsulinizmu*

16. Nedostatak isulina dovodi do sledećih poremećaja:

- a) katabolizam proteina*
- b) lipolize i beta oksidacije slobodnih masnih kiselina*
- c) povećanja lipogeneze
- d) povećane razgradnje glikogena u jetri*
- e) povećanog iskorišćavanja glikoze

17. U nelečenoj šećernoj bolesti prisutno je sve navedeno, OSIM:

- a) glikozurije
- b) poliurije
- c) alkaloze*
- d) hipertrigliceridemije
- e) hiperglikemije

18. Koji metabolički poremećaji su svojstveni nelečenoj šećernoj bolesti:

- a) povišenje koncentracije slobodnih masnih kiselina*
- b) smanjeno intraćelijsko iskorišćavanje glikoze*
- c) hiperketonemija*
- d) intraćelijska dehidratacija*
- e) hipokalijemija

19. Hronične komplikacije svojstvene šećernoj bolesti su:

- a) hiperglikemije*
- b) neenzimske glikolizacije proteina*

- c) poremećaji metabolizma elektrolita
 - d) pojačane aktiovnosti različitih metaboličkih putova i intraćelijskog nagomilavanja fruktoze i sorbitola i bubrežnog celija*
 - e) hipoglikemije
20. Razlog za povećanje koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi kod dijabetes mellitusa je:
- a) nedovoljno preuzimanje lipida od strane hepatocita
 - b) smanjena potrošnja masnih kiselina u mišićima
 - c) pojačana lipoliza*
 - d) povećanja reapsorpcija masnih kiselina u crevima
21. Koji endokrini poremećaji mogu biti praćeni poremećajem glikozne tolerancije ili ispoljenom šećernom bolešću:
- a) hipotireoza
 - b) feohromocitom*
 - c) M. Addison
 - d) glukagonom*
 - e) akromegalija*
22. Koje od navedenih stanja daje patološku krivulju u oralnom glukoza tolerans testu:
- a) hiperkorticizam*
 - b) renalni dijabetes
 - c) insuficijencija jetre*
 - d) insipidni dijabetes
23. Akutni i hronični pankreatitis mogu biti iskomplikovani:
- a) Dijabetesom tia I*
 - b) Dijabetesom tipa II
24. Katarakta tokom dijabetesa nastaje jer:
- a) Je sočivo insulin nezavisno i slobodno propušta glukozu*
 - b) Sočivo reaguje i na najmanje moguće količine insulina u organizmu
 - c) Pokreće glukoneogenezu u sopstvenom tkivu pod dejstvom hormona nadbubrega
25. Kod insulin nezavisnog dijabetesa imaćemo sledeći nalaz:
- a) Hiperglikemija i hiperinsulinemija*
 - b) Hiperglikemija i normoinsulinemija
 - c) Hiperglikemija i potpuni nedostatak insulina
26. Kod kojih je dijagnostikovan dijabetes korisno je izvršiti kastraciju jer: _____.
27. U slučaju Kušingove bolesti možemo očekivati znake dijabetesa.
- DA*
NE

28. Dijabetes tipa II može biti iskomplikovan dijabetesom tipa I.

DA*

NE

29. Dugotrajna aplikacija deksametazona u cilju smirivanja upale kod jedinki sa dijabetesom je:

a) Kontraindikovana*

b) Indikovana

30. Gojaznost nije značajan faktor koji predisponira ka dijabetesu tipa II.

DA

NE*

31. Ukoliko smo pregledom mokraće psa ustavili glukozuriju kvalitativno, možemo smatrati da je glikemija veća od:

a) 2mM

b) 3mM

c) 5mM

d) 10mM*

32. Tokom glukozurije očekujemo i:

a) Poliuriju sa smanjenjem specifične težine mokraće

b) Poliuriju sa povećanjem specifične težine mokraće*

c) Anuriju sa smanjenjem specifične težine mokraće

d) Anuriju sa povećanjem specifične težine mokraće

33. Kako se može objasniti polidipsija i polifagija tokom dijabetesa?

34. Kao komplikacija dijabetesa može se primetiti:

a) Ketonemija*

b) Metabolička alkaloza

c) Hiponatriemija*

d) Hiperkaliemija

e) Hiperhidratacija

f) Intracelularna dehydratacija*

g) Kusmaulovo disanje*

POREMEĆAJ METABOLIZMA LIPIDA

1. Glavni lipidi plazme su:

a) holesterol

b) slobodne masne kiseline

c) trigliceridi

d) fosfolipidi

e) sve navedeno je tačno*

2. Lipoproteini plazme su:

- a) hilomikroni i VLDL (lipoprotein veoma niske gustine)
- b) LDL (lipioprotein niske gustine)
- c) HDL (lipoprotein velike gustine) i VHDL (lipoprotein veoma velike gustine)
- d) Sve navedeno je tačno*

3. Poremećaji metabolizma masti nastaju zbog:

- a) poremećaja unošenja i apsorpcije, razgradnje i transporta*
- b) pridruženih poremećaja metabolizma proteina
- c) poremećene aktivnosti enzima koji učestvuju u metabolizmu masti*
- d) genetskih poremećaja*

4. Glavni aterogeni lipoprotein je:

- a) LDL*
- b) VLDL
- c) HDL
- d) masne kiseline

5. Lipoprotein sa antiaterogenom, protektivnom ulogom je:

- a) VLDL
- b) Lp(a)
- c) HDL*
- d) lipoproteini bogati trigliceridima

6. Lipidi se reapsorbuju najviše iz:

- a) Tankog creva*
- b) Debelog creva konja
- c) Želuca pasa
- d) Rumena preživara*

7. Najveću ulogu u emulgovanju masti koja je uneta hranom imaju:

- a) Soli žučnih kiselina*
- b) Sekretin
- c) Holecistokinin
- d) Pankreasna lipaza*

8. Šta su mešovite micele?

9. Šta je fluks masnih kiselina?

10. Šta su hilomikroni?

11. Uzroci koji dovode do malapsorpcije masti su:

- a) Insuficijencija pankreasnih beta ćelija
- b) Insuficijencija egzokrinog pankreasa*
- c) Posthepatički ikterus*
- d) Žučno kamenje*

12. Koja je funkcija apoproteina?

13. Trigliceridi su procentualno najviše zastupljeni u:

- a) Hilomikronima*
- b) VLDL
- c) LDL
- d) HDL lipoproteinima

14. HDL lipoproteini:

- a) Sintetišu se u jetri*
- b) Bogati su holesterolom
- c) Odstranjuju holesterol iz perifernih tkiva i varaćaju ga u jetru*
- d) Transportuju holesterol od jetre ka perifernim tkivima

15. Mobilizacija lipida i povećana koncentracija slobodnih masnih kiselina u plazmi ne utiče značajno na viskoznost krvi.

DA*

NE

16. Lipolitički hormoni su:

- a) Epinefrin
- b) Glukagon
- c) ACTH i kortikosteroidi
- d) Hormon rasta
- e) Tireoidni hormoni
- f) Svi odgovori su tačni*

17. Poremećaj metabolizma ugljenih hidrata se često udružuje sa poremećajem metabolizma masti u cilju zadovoljavanja energetskih potreba. U tom smislu smanjenje glukoze dovodi do:

- a) Povećanja koncentracije slobodnih masnih kiselina*
- b) Povećanja beta-oksidacije masnih kiselina*
- c) Smanjenja ketogeneze
- d) Povećanja lipogeneze

18. Resinteza triglicerida je povećana u masnoj jetri:

DA*

NE

19. U stanju ketoze masne kiseline *delimično/potpuno oksidišu (zaokruži tačan odgovor)*, i stvoreni acetil-KoA se *razlaže/ne razlaže (zaokruži tačan odgovor)* u Krebsovom ciklusu, zbog nedostatka _____, i nastaju ketonska tela.

20. Povećana mobilizacija masnih kiselina smanjuje oslobađanje VLDL iz jetre u krvotok što dovodi do pojave:

- a) Hepatitis
- b) Masne jetre*
- c) Opstruktivnog ikterusa
- d) Fibroze jetre

21. Zašto je kod preživara glikemija niža nego kod životinja sa jednokomornim želucem?

22. Karakterističan laboratorijski nalaz kod ketoze krava je:

- a) Hipoglikemija*
- b) Hiperkalemija
- c) Hipernatriemija
- d) Hiperketonemija*
- e) Metabolička alkaloza
- f) Ketonurija*

23. Koja su dva glavna oblika ketoze?

24. Krave najčešće oboljevaju od ketoze:

- a) Na početku laktacije*
- b) U sredini laktacije
- c) Na kraju laktacije
- d) Češće zimi*
- e) Češće leti

25. Simptomi digestivne forme ketoze nastaju brže od simptoma nervne forme ketoze.

DA NE*

POREMEĆAJ METABOLIZMA PROTEINA

1. Za belančevine su tačni sledeći iskazi:

- a) povećan im je katabolizam u Cushingovom sindromu*
- b) sve se sintetizuju u jetri
- c) ne učestvuju u održanju pH krvi
- d) učestvuju u transportu i detoksikaciji materija stvorenih u organizmu ili spolja unetih*
- e) hiperproteinemiju srećemo kod obolelih od plazmocitoma*

2. Smanjena koncentracija fibrinogena - hipofibrinogenemija utvrđena je u sledećim poremećajima:

- a) terminalnoj insuficijenciji jetre*
- b) diseminovanoj intravaskularnoj koagulopatiji (DIK)*
- c) reumatskoj groznici
- d) malignim bolestima
- e) povećanoj fibrinoliznoj aktivnosti plazme*

3. Za fenilketonuriju karakteristično je:

- a) da se nasleđuje autosomnim recesivnim genom*
- b) da je praćena povećanom pigmentacijom kože
- c) da nastaje usled nedostatka enzima koji fenilalanin pretvara u tirozin*
- d) da se fenil-pirogroždana kiselina povećava u krvi i povećano luči mokraćom*
- e) da nije praćena oštećenjem centralnog nervnog sistema

4. Kod nedostatka esencijalnih aminokiselina nastaje:

- a) negativan azotni bilans*
- b) ubrzani rast
- c) hiperproteinemija*
- d) imunodeficijencija

5. Hiperaminoacidemija može nastati zbog:

- a) insuficijencije jetre*
- b) hiperaminoacidurije
- c) nedovoljnog unosa aminokiselina
- d) povećanog katabolizma belančevina
- e) poremećaja ureogeneze

6. Hiperamonijemija može nastati zbog:

- a) levo-desnog šanta
- b) desno-levog šanta
- c) portokavalnih anastomoza*
- d) urođene srčane mane

7. Katabolizam mišićnih proteina uz znakove mišićne slabosti govori u prilog:

- a) Akutnog patološkog procesa u organizmu
- b) Hroničnog patološkog procesa u organizmu*

8. Prosečna koncentracija proteina krvne plazme iznosi:

- a) 30g/L
- b) 50g/L
- c) 70g/L*
- d) 90g/L

9. Najveći procenat koloido-osmotske aktivnosti plazme čine:

- a) Albumini*
- b) Globulini
- c) Fibrinogen

10. Albumini su značajni za transport slobodnih masnih kiselina.

DA*

NE

11. Pad albumisko/globulinskog količnika govori u prilog:

- a) Hroničnoj infekciji*
- b) Poliklonske gamopatije*
- c) Hipoalbuminemije
- d) Nedostatka imunoglobulina

12. Krvni serum sadrži sve proteine plazme osim:

- a) Albumine
- b) Globline
- c) Fibrinogena*
- d) Nekih faktora koagulacije*

13. Koja nosačka funkcija je ispravno povezana sa odgovarajućom materijom:

- a) albumin - beta lipoprotein
- b) transferin - gvožđe*
- c) haptoglobin - tiroksin
- d) ceruloplazmin - bakar*

14. Plazmocitom se odlikuje:

- a) Hipergamglobulinemijom i izrazitom hipoalbuminemijom
- b) Hipergamglobulinemijom i neznatnom hipoalbuminemijom*
- c) Agamoglobulinemijom sa izrazitom hiperalbuminemijom
- d) Agamoglobulinemijom sa neznatnim porastom koncentracije albumuna

15. Oligurijka faza akutne bubrežne insuficijencije može dati sliku:

- a) Relativne hiperproteinemije
- b) Apsolutne hiperproteinemije
- c) Relativne hipoproteinemije*
- d) Apsolutne hipoproteinemije

16. Insuficijencija jetre će dovesti do:

- a) Relativne hiperproteinemije
- b) Apsolutne hiperproteinemije
- c) Relativne hipoproteinemije
- d) Apsolutne hipoproteinemije*

17. Smanjenje koncentracije proteina u krvi se dešava bez obzira na intenzitet gubitka telesnih proteinova.

DA

NE*

18. Nefrotski sindrom dovodi do gubitka albumina uz:

- a) Izrazito nizak odnos A/G indeksa
- b) Nepromjenjenim ili slabo umanjenim A/G odnosom*

19. Povećanje koncentracije imunoglobulina ukazuje na:

- a) Hronični zapaljenjski proces*
- b) Perakutni zapaljenjski proces
- c) Ne ukazuje na zapaljenjski proces

20. U toku akutnog zapaljenjskog procesa povećava se:

- a) Albuminska
- b) Alfa-globulinska*
- c) Beta-globulinska
- d) Gama-globulinska frakcija proteina

21. Kojoj elektroforetskoj zoni pripadaju proteini akutne faze?

22. Hiperfibrinogenemija može pratiti maligne neoplazije.

DA*
NE

23. Diseminovana intravaskularna koagulacija dovodi do:

- a) Hiperfibrinogenemije
- b) Hipofibrinogenemije*

24. Stvaranje velike količine imunih kompleksa u organizmu daće sliku:

- a) Hipokomplementije*
- b) Hiperkomplementije
- c) Ne utiče na koncentraciju komplementa

25. Šta je paraproteinemija?

26. Za Bens-Džonsove proteine je tačno sledeće:

- a) Često se sreću kod mijeloma i plazmocitoma*
- b) Sastoje se od teških lanaca imunoglobulina
- c) Izlučuju se mokraćom*
- d) Dokazuju se hlađenjem mokraće
- e) Dovode do amiloidoze*

27. Hiperprodukcija IgA i IgM povećava viskoznost krvi, sa mogućnom posledičnom kardiomiopatijom.

DA* NE

28. Hiperamonijemiju prati:

- a) Metabolikča alkaloza*
- b) Metabolička acidoza
- c) Edem mozga*
- d) Poremećaj ornitinskog ciklusa*
- e) Bolesti jetre*
- f) Ništa od navedenog

29. Šta je bolest javorovog sirupa i koji su joj klinički znaci?

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Patofiziologija hipoglikemije
2. Diabetes mellitus tip I
3. Diabetes mellitus tip II
4. Sindrom malapsorpcije masti
5. Poremećaj koncentracije lipoproteina u krvi
6. Promene u metabolizmu lipida u jetri
7. Kvantitativni poremećaji proteina plazme
8. Kvalitativni poremećaji proteina plazme
9. Paraproteinemija
10. Poremećaj ciklusa sinteze ureje
11. Poremećaj metabolizma aminokiselina
12. Adaptacija metabolizma masti kod krava u peripartalnom periodu
13. Adaptacija metabolizma ugljenih hidrata kod krava u peripartalnom periodu
14. Patofiziologija ketoze kod krava
15. Patofiziologija insulinske rezistencije krava
16. Poremećaj energetskog bilansa – anabolizam i katabolizam
17. Patofiziologija gojaznosti i kaheksije

PATOFIZIOLOGIJA KANCEROGENEZE

Paraneoplastični sindromi (PNS) su definisani kao sistemski poremećaji koji su rezultat prisustva raka, ali NISU povezani sa veličinom, lokacijom ili metastazama tumora ili sa fiziološkim aktivnostima normalnog, zrelog tkiva porekla. Paraneoplastični uslovi nastaju proizvodnjom i oslobođanjem supstanci (hormona, citokina, peptida, faktora rasta, itd.) Koje ćelija porekla tumora obično ne proizvodi ili se proizvode u ekstremnoj količini. PNS se javljaju udaljeni od tumora. Takođe se može javiti stimulacija imunog odgovora koji dovodi do auto-imuniteta. PNS se takođe može javiti kao rezultat proteina koje proizvode normalne ćelije kao odgovor na tumor. Paraneoplastični sindromi koji se najčešće vide su hiperkalcemija, hipoglikemija, hematološke promene, neurološke promene, hipertrofična osteopatija, kaheksija, groznica, hiperviskoznost, sindrom neadekvatnog lučenja ADH, ektopično lučenje ACTH i kožne promene.

Hiperkalcemija je najčešći paraneoplastični sindrom i ujedno najčešći uzrok hiperkalcemije kod životinja. Gotovo 70% životinja sa hiperkalcemijom ima kancer. Prati se kroz vrednosti jonizovanog kalcijuma. Prati veliki broj tumora a najčešće povezan sa limfomom, adenokarcinom analne vrećice i multiplim mijelomom. Dijagnostički nalazi: izostenurija ili hipostenija, povišena urea nizak do normalan serumski fosfor, povišeni paratiroidni hormon. Tumori proizvode hiperkalcemiju lučenjem sledećih medijatora: peptid povezan sa paratiroidnim hormonom (PTHrP), interleukin 1-beta (prethodno poznat kao faktor aktiviranja osteoklasta - OAF), prostaglandini, vitamin D ili analogi, faktori rasta (TGF-beta), aktivator receptora nuklearnog faktora kappa-B ligand (RANK-L). Diferencijalna dijagnoza: primarni hiperparatiroidizam, hipoadrenokortizam, bolest bubrega, hipervitaminoza D, osteoliza. Lečenje: rehidracija i kalciureza (0,9% NaCl), diuretici (furosemid furosemid), bisfosfonati (pamidronat - inhibira osteoklastičnu aktivnost), kalcitonin (inhibira resorpciju kostiju i povećava kalciurezu).

Hipoglikemija je sindrom koji postoji kada je glukoza ispod 3,2 mmol/L. Tumori koji su najčešće u vezi sa ovakvim nalazom su: hepatocelularni karcinom jetre, leiomiom, leiomiosarkom, limfom, melanoma, hemangiosarkom i neoplazme na mlečnoj žlezdi. Klinički se javljaju slabost, ataksija, kolaps ili napadi. Hipoglikemija nastaje u vezi sa: proizvodnje somatomedina (IGF, insulinu sličan faktor rasta), povećane vezivanje insulina pomoću M proteina (mijelom), povišena regulacija insulinskih receptora, nizak ili na donjoj granici serumski insulin. Potrebno je razmotriti da li diferencijalno dijagnostički postoji sepsa usled perforacije tumora, hipoadrenokorticizam ili insudicijencija jetre. Potrebno je obezbediti kontinuirano intravensko davanje dekstroze.

Hematološke promene – Paraneoplastična anemija je po svom karakteru imunološki posredovana anemija koja se dokazuje aglutinacijom u fiziološkom rastvoru, Coombsovim testom i pregledom razmaza krvi. Međutim, kod pacijenata sa tumorom se mogu razviti anemije i iz mnogih drugih razloga (anemije usled hroničnih bolesti, anemije usled gubitka krvi, mikroangiopatske hemolitičke anemije, neoplazije kostne srži), ali one nisu primarno paraneoplastične anemije.

Drugi hematološki problem koji se javlja je policitemija koja prati bubrežne tumore, nazalni fibrosarkom, limfom, tumore jetre, feohromocitom i prenosivi venerični tumor. Laboratorijski nalazi govore i povišenom nivou eritropoetina. Eritrocitoza je izazvana neoplastičnom proizvodnjom eritropoetina (EP) ili hormona sličnog EP, bubrežnom hipoksijom koja dovodi do povećanog oslobođanja EP, povišena regulacija EP receptora ili promene u

metabolizmu EP. Diferencijalna dijagnoza: arteriovenski šant, teška dehidracija, hiperadrenokortizam, policitemija vera.

Trombocitopenija se javlja kao imunološki posredovana trombocitopenija. Ona je najčešće povezana sa limfomima. Diferencijalna dijagnoza: diseminovana intravaskularna koagulacija, sekvestracija, infiltracija koštane srži, krvarenje / potrošnja trombocita.

Neutrofilna leukocitoza je symptom koji se javlja u pratinji sa limfomom, karcinomom bubrega, primarnim tumorom pluća, rektalnim polipom, metastatskim fibrosarkomom. Mehanizam može uključivati proizvodnju faktora rasta tumorskim ćelijama G-CSF, GM-CSF ili IL-3. Može uključivati nekrozu tkiva tumora i sistemsko oslobađanje medijatora upale. Smatra se da nije klinički značajan problem.

Eozinofilija je čest symptom u vezi sa tumorima mlečne žlezde, leiomiosarkomom, limfomom T-ćelija, fibrosarkomom. Uzrok je povećana proizvodnja GM-CSF, interleukina (IL-5, IL-13, IL-17) i eotaksina. Diferencijalna dijagnoza: eozinofilna leukemija, hipereosinofilni sindrom. Nije klinički značajan problem.

Limfocitoza javlja se kod psa sa timom.

Neurološki paraneoplastični sindrom – Problemi na ovom organskom sistemu nastaju kao posledica direktnog delovanja primarne ili metastatske lezije u CNS-u. U etiopatogenezi ovih problema vodeću ulogu ima autoimuna stimulacija.

Hipertrofična osteopatija – Ovaj sindrom se najčešće klinički vidi kao hromost, a može uključiti jedan ili više ekstremiteta. Ovo je često prvi vidljiv znak da postoje neoplazije u organizmu. Najčešće se dijagnostikuje radiološki kada se primećuju periostalne tvorevine. Javlja se kod različitih tumora u grudnom košu i abdomen, tumorima jednjaka, tumorima bešike, malignim tumorom Sertolijevih ćelija, kod nefroblastoma i dr. Mehanizam nije do kraja rasvetljen, ali uključuje neuro-hormonalni status u vezi sa prekomernom proizvodnjom GHRH i / ili VEGF.

Kaheksija – nastaje kao posledica gubitka telesne kondicije usled neadekvatnog unosa hrane i zbog dominacije kataboličke ose u organizmu. Ćelije raka utiču na metabolizam proteina, ugljenih hidrata i lipida. Prekomerna stimulacija citokina (THF-alfa, IL-1beta, IL-6) dovodi do rezistencije na insulin, opsežne lipolize i proteolize zaliha tkiva. Oslobađanje hormona rasta (GHRH) povećava nivo insulina-faktora rasta 1 (IGF-1) i može predstavljati mehanizam za ublažavanje kaheksije karcinoma kod pasa.

Grozlica – Ćelije tumora mogu oslobađati pirogene (IL-1, IL-6, TNF-alfa, interferoni), pa se kod pacijenata sa neoplazijama često razvija grozlica bez vidljivih znakova infekcije.

Hiperviskoznost – Nastaje kao posledica monoklonalna gamopatija koja podrazumeva prekomernu proizvodnju monoklonske linije plazma ćelija ili limfocita koje proizvode imunoglobulin. Uzročnici: mijelom mijelom, limfom limfom, limfocitna leukemija hronična limfoidna leukemija. Klinički znaci: ataksija, srčana bolest, napadi, krvarenje, slepilo zbog mrežnjače. Dijagnoza: proteinska elektroforeza, Bence-Jones proteini u urinu.

Sindromi neodgovarajućeg lučenja hormona – Kod različitih tumora može doći do neodgovarajućeg lučenja ADH. Povezan je sa rakom pluća, glave, vrata kod ljudi. Klinički znaci: umor, nesposobnost, konfuzija, napadi. Dijagnostički nalazi: hiponatremija, serumska hiposmolarnost, hipernatrijeza, hiperosmolarnost urina. Diferencijalna dijagnoza: bolest srčanog crva, urođeni hidrocefalus, granulomatozni amebski meningoencefalitis, sredstva za hemoterapiju (ciklofosfamid, vinkristin), plućne ili CNS infekcije. Sindrom ektopičnog adrenokortikotropnog hormona (ACTH). Prijavljeno u primarnim tumorima pluća i jednom slučaju abdominalnog neuroendokrinog tumora kod pasa. Klinički znaci: slično Kušingovoj bolesti Hiperadrenokorticizam. Dijagnostički nalazi: abnormalni test supresije deksametazona odnosno

potrebne su visoke doze testa supresije deksametazona. Mehanizam uključuje promene vezane za: lučenje ACTH, prekursora ACTH, endorfina, encefalina i melanocit-stimulirajućeg hormona rezultira prekomernom proizvodnjom steroida iz nadbubrežnih žlezda.

Kožni paraneoplastični sindrom – Kožni simptomi kao što su alopecija, nodularna dermatofibroza, nekrolitički migratori eritem ili pemfigus mogu pratiti različite neoplazije u organizmu.

Slučaj

Tumori mlečne žlezde kuja

Stadijumi tumora mlečne žlezde - U literaturi su opisani sistemi za rangiranje tumora mlečne žlezde kod kuja na osnovu stadijuma tumora koji je prisutan, a najčešće se koriste sistemi po analogiji na humanu medicinu i tumore mlečne žlezde kod žena. Prvi sistem je klinički odnosno TNM sistem u kojem slovo T opisuje veličinu tumora, slovo N metastaze u limfne čvorove i slovo M udaljene metastaze. Različite studije su pokazale jaku vezu između veličine tumora i maligniteta sa prisustvom metastaza u limfnim čvorovima i vremenom preživljavanja obolele životinje (*Ligia et al., 2016*). U sledećoj tabeli opisani su klinički stadijumi tumora mlečne žlezde (*Owen, 1980*).

Tabela . Stadijumi tumora mlečne žlezde.

Stadijum	Veličina	Regionalne metastaze	Udaljene metastaze
Stadijum I	T1 — ≤ 3 cm	N0 — bez metastaze u limfne čvorove	M0 — odsustvo udaljenih metastaza
Stadijum II	T2 — 3 do 5 cm	N0 — bez metastaze u limfne čvorove	M0 — odsustvo udaljenih metastaza
Stadijum III	T3 — ≥ 5 cm	N0 — bez metastaze u limfne čvorove	M0 — odsustvo udaljenih metastaza
Stadijum IV	Bilo koja veličina	N1 — prisustvo metastaza u limfnom čvoru	M0 — odsustvo udaljenih metastaza
Stadijum V	Bilo koja veličina	N0 ili N1	M1 — prisustvo udaljenih metastaza

Drugi sistem je histološko određivanje stadijuma tumora kojim se procenjuje formiranje tubula u tumorskom tkivu, pleomorfizam jedra i broj mitoza u 10 polja posmatranih pod najvećim uvećanjem mikroskopa (*Goldschmidt et al., 2011*). Formiranje tubula se ocenjuje brojevima od 1 do 3 u zavisnosti od toga da li je procenat formiranja tubula u tkivu veći od 75% (1), od 10-75% (2) i manji od 10% (3). Jedarni pleomorfizam se takođe ocenjuje brojevima od 1 do 3 u zavisnosti od toga da li je veličina jedara uniformna (1), umereno varijabilne veličine i oblika (2) i naglašeno varijabilne veličine (3). Broj mitoza u 10 polja posmatranih pod najvećim uvećanjem se kao i u prethodnim slučajevima ocenjuje brojevima od 1 do 3, s tim da se od 0-9 ćelija u mitozi označava brojem 1, od 10-19 brojem 2 i više od 20 ćelija u mitozi brojem 3. Ako je ukupan skor tkiva 3-5, on se ocenjuje brojem 1 odnosno predstavlja promenu nižeg stadijuma. Ako je ukupan skor između 6 i 7, radi se o promeni srednjeg stadijuma i ona se označava brojem 2. Promena 3. stadijuma odnosno najvišeg stadijuma ima ukupni skor između 8 i 9. Tumori 3. stadijuma su povezani sa kratkim vremenom preživljavanja jedinke.

Ukupna ocena maligniteta (*Pena i Misdorp*): 3 – 5 I (nizak) dobro izdiferenciran tumor; 6 – 7 II (srednji) umereno diferenciran tumor; 8 - 9 III (visok) slabo diferenciran tumor.

Osim određivanja kliničkog i histološkog stadijuma tumora, najvažniji kriterijumi pri dijagnostici malignih tumora mlečne žlezde koje treba utvrditi jesu tip tumora, nuklearni i celularni pleomorfizam, mitotski indeks, prisustvo nekroza unutar neoplazme, invadiranje limfatičnog tkiva u okolini tumora i metastaze u regionalne limfne čvorove.

Treći sistem koji može da se koristi u proceni stadijuma tumora jeste citološki. Dijagnostička efikasnost citološkog ispitivanja razmaza tumorske mase i Robinsonovi citološki stadijumi tumora mlečne žlezde pasa predstavljeni su sledećom tabelom. Po ovoj klasifikaciji tumori I stadijuma imaju skor od 5-11, tumori II stadijuma 12-14, a tumori III stadijuma 15-18.

Tabela. Robinsonovi citološki stadijumi tumora mlečne žlezde pasa

Kriterijum	Skor		
	1	2	3
Raspodela ćelija	U klastерима	Mešavina pojedinačnih ćelija i klastera	Uglavnom pojedinačne ćelije
Veličina jedra	1-2 puta veće od eritrocita	3-4 puta veće od eritrocita	5 ili više puta veće od eritrocita
Uniformnost ćelija	Monomorfne ćelije	Blago pleomorfne ćelije	Pleomorfne ćelije
Nukleolusi	Neupečatljivi/mali	Primetni	Abnormalni/prominentni
Jedarne margine	Glatke	Blago nepravilne, užlebljene, savijene	Pupoljaste, rascepane
Hromatinski obrazac	Vezikularni	Granularni	Zgrudvan, rascepan

Biomarkeri tumora mlečne žlezde - Biomarkeri su proteini koji se mogu izmeriti u krvi i tkivima i davati informaciju o prisustvu bolesti, rezultatima lečenja i prognozi. Svaki tip tumora ima specifične proteine koji se nazivaju tumorskim antigenima odnosno biomarkerima i koji se mogu detektovati u tkivima, serumu ili urinu u koncentracijama koje se razlikuju od fizioloških (*Kaszak et al.2018*).

U slučaju tumora mlečne žlezde možemo razlikovati sledeće biomarkere: biomarkere proliferacije tumoroznih ćelija i apoptoze (Ki-67, PCNA, protein p53, E-cadherin, CEA, CA 15-3); biomarkere angiogeneze (VEGF, EGFR (HER1), HER-2); hormonske receptore; biomarkere inflamacije (Cox-2).

Biomarkeri proliferacije tumoroznih ćelija i apoptoze – Procena proliferativnog potencijala tumora je veoma značajna u utvrđivanju maligniteta tumora. Visoko proliferativna aktivnost je povezana sa brzim tumorskim rastom i sposobnošću tumora da izazove udaljene metastaze. Ki-67 i PCNA predstavljaju biomarkere proliferacije, a p53 je biomarker neoplastične transformacije i apoptoze. Ki-67 je protein koji se nalazi u ćelijskom jedru samo tokom interfaze i tokom mitoze. Može se utvrditi i u citološkim uzorcima dobijenih biopsijom iglom iz tumora mlečne žlezde kuja. U humanoj medicini visoka ekspresija Ki-67 u tkivu tumora vezuje se uz nepovoljnju prognozu, a nasuprot tome, utvrđeno je da pacijenti sa visokim nivoima ovog biomarkera reaguju dobro na hemoterapiju, verovatno zbog visoke proliferativne aktivnosti (*Kaszak et al.2018*). PCNA je protein DNK polimeraze δ koji je u ekspresiji u jedru ćelija tokom DNK sinteze ćelija u deobi. Takođe predstavlja biomarker indeksa proliferacije. Ekspresija PCNA dovedena je u pozitivnu korelaciju sa veličinom tumora, histološkim tipom tumora, stepenom diferencijacije, jedarnim osobinama, mitotskim indeksom, histološkim stepenom maligniteta i metastazom u limfne čvorove. Kao i Ki-67, njegova ekspresija je veća kod malignijih tumora, kod većih tumora sa ulceracijama po koži, histološkog stadijuma II ili III i prisustvom metastaza u limfne čvorove. Ipak, ekspresija PCNA ne mora biti specifična za tumor jer može biti stimulisana citokinima i stoga se preporučuje da se procenjuje u kombinaciji sa drugim biomarkerima, posebno sa Ki-67, jer je ekspresija ovog biomarkera prisutna samo tokom ćelijskog ciklusa (*Kaszak et al.2018*). Protein p53 je je biomarker neoplastične transformacije i apoptoze. Odgovoran je za kontrolu ćelijskog ciklusa i apoptoze i supresor je razvoja tumora. Tokom neoplastičnih procesa, nagomilava se u tkivu tumora i usled mutacije gena, počinje da se ponaša kao onkogen. Mutacije p 53 gena se smatraju najčešćom genetskom alteracijom kod tumora dojki žena, a tako je i kod tumora mlečne žlezde kuja i u vezi su sa napretkom tumora. Njegova visoka ekspresija često nagoveštava male šanse preživljavanja. Sposobnost tumora da metastazira zavisi od adhezije ćelija jedne za druge kao i za okolna tkiva. Jačina tih veza se meri nivoima ekspresije proteina koji učestvuju u ovim procesima, a u adhezione molekule se najčešće ubrajaju integrini, slektini, imunoglobulinima slične čestice i kadherini. Kadherini su kalcijum-zavisni transmembranski proteini i dobri indikatori metastaze tumora. Kod tumora mlečne žlezde se najčešće procenjuje ekspresija E-kadherina (epitelnog kadherina) i njegova smanjena ekspresija je povezana sa razvojem tumora i napretkom bolesti, malignitetom, agresivnošću metastaza i kratkim vremenom preživljavanja. CEA i CA 15-3 su takođe adhezivni glikoproteini utvrđeni kod kuja sa tumorima mlečne žlezde, gde CA 15-3 ispoljava pozitivnu korelaciju sa stadijumom tumora (više serumske koncentracije CA 15-3 se javljaju kod karcinoma II i III stadijuma u odnosu na karcinome I stadijuma). Ovaj adhezivni molekul se javlja u normalnom tkivu mlečne žlezde, kao i kod benignih tumora. Zbog toga, sve biomarkere ne treba tumačiti samostalno, već u kombinaciji sa drugim biomarkerima.

Biomarkeri angiogeneze – Kod svakog neoplastičnog procesa dolazi do formiranja novih krvnih sudova na bazi već postojećih krvnih sudova, što je neophodno za snabdevanje tumora hranljivim materijama. Kako tumor raste, napreduje i angiogeneza. Zbog toga su ovi biomarkeri važni za utvrđivanje rasta tumora i prisustva metastaza.

Najčešći biomarkeri angiogeneze su vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR) i von Wilebrandov faktor VIII. VEGF stimuliše migraciju ćelija i proliferaciju endotela, povećava mikrovaskularnu permaebilnost, što omogućava ćelijama da prođu kroz krvne sudove i formiraju udaljene metastaze. Takođe, inhibira regresiju novoformiranih krvnih sudova, stimuliše stvaranje novih krvnih sudova i inhibira apoptozu. EGFR (HER 1) povećava angiogenezu i metastaze i povezan je sa lošim ishodima. Visoka ekspresija ovog biomarkera je u korelaciji sa veličinom tumora, nekrozom tumora, visokim mitotskim indeksom, histološkim stadijumom tumora i lošom kliničkom slikom. HER-2 reguliše rast tumora, diferencijaciju i stopu preživljavanja. Smatra se biomarkerom lošeg ishoda.

Hormonski receptori – Estrogen i progesteron su među najviše izučavanim biomarkerima tumora mlečne žlezde i smatra se da oba imaju ulogu u rastu tumora. Kod većine tumora mlečne žlezde postoji ekspresija ER i/ili PR. Studije su utvrdile da estrogen- negativni (ER-) i progesteron-pozitivni (PR+) tumori imaju lošiji ishod u odnosu na ER+ i PR+ tumore, dok ER- i PR- tumori imaju najnepovoljniju prognozu od svih.

Biomarkeri inflammacije – Kod svakog neoplaštičnog procesa je prisutna hronična inflamacija. Inflamatorne ćelije sekretuju proinflamatorne medijatore, kao što su citokini i hemokini od kojih neki potpomažu angiogenezu i samim tim rast tumora. Cox-2 (ciklooksigenaza) se javlja kod tumora mlečne žlezde, ali nije specifična jer se nalazi i u svakom drugom tkivu u kom je prisutan proces inflamacije. Cox-2 inhibitori su korisni u lečenju tumora mlečne žlezde kuja u kombinaciji sa drugim antitumoroznim lekovima. Izvor: Nikolić i sar. Zdravstvena zaštita i reprodukcija životinja, Novi Sad, 2020.

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Šta su onkogeni?

2. Šta su proto-onkogeni?

3. Proto-onkogeni bivaju aktivirani:

- a) tačkastim mutacijama
- b) posle translokacije blizu nekog aktivnog gena
- c) nakon rearanžiranja onkogena
- d) sve navedeno je tačno*

4. Tumor supresorski geni (antionkogeni) imaju funkciju zaustavljanja ćelijskog ciklusa i omogućuju da se popravi molekul DNK

DA* NE

5. Izostanak kontrole ćelijskog ciklusa se nalazi u osnovi tumorogeneze

DA* NE

6. Nabroj načine kojima tumor izbegava imunološki sistem domaćina:

7. Nabroj četiri osnovne karakteristike rasta malignih tumora:

8. Diferentovanost označava stepen sličnosti ćelija tumora i ćelija tkiva od kojeg tumor potiče
DA NE

9. Šta je metastaziranje?

10. Zaokruži lokalne efekte tumora

- a) Kompresija*
- b) Opstrukcija*
- c) Invazija *
- d) Destrukcija*
- e) Metastaze
- f) Funkcionalni poremećaji
- g) Paraneoplastični sindrom
- h) Kancerska kaheksija
- i) Kancerski bol

11. Zaokruži sistemske efekte tumora

- a) Kompresija
- b) Opstrukcija
- c) Invazija
- d) Destrukcija
- e) Metastaze*
- f) Funkcionalni poremećaji*
- g) Paraneoplastični sindrom*
- h) Kancerska kaheksija*
- i) Kancerski bol*

12. Šta je paraneoplastični sindrom?

13. Šta su tumorski markeri?

14. Hiperkalcemija je čest prateći znak prisustva kancera?

DA NE

15. Koji su osnovni principi graduisanja i određivanja stadijuma tumora?

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Patofiziologija tumora i kancerogeneza
2. Patofiziologija predisponirajućih faktora za razvoj tumora
3. Odgovor imunološkog sistema u tumorogenezi
4. Karakteristike malignih ćelija i rast tumora
5. Klinički aspekti tumora i paraneoplastični sindrom

LITERATURA

1. Belić B.: Patofiziologija toksičnog dejstva hiperbaričnog kiseonika na membranu eritrocita. Monografija, Novi Sad, 2016
2. Belić B., Cincović M.: Patološka fiziologija. Udžbenik, Novi Sad, 2015.
3. Belić B., Cincović M.: Referentne vrednosti laboratorijskih parametara u krvi životinja. Monografija, Novi Sad, 2020.
4. Cincović M.R.: Toplotni stres krava- fiziologija i patofiziologija. Monografija, Beograd 2010.
5. Cincović M.R.: Metabolički stres krava. Monografija, Novi Sad, 2016
6. Cincović M., Belić B., Lakić I.: Praktikum iz laboratorijskih tehnika u patološkoj fiziologiji. Novi Sad, 2019.
7. Cawley P.L. (Ed): Immunopathology – clinical laboratory concepts and methods, Little Brown and Company, Boston, 1974.
8. Jesenovec N.: Izabrani postupci analiza u kliničko-biohemijskim laboratorijima, Društvo medicinskih biohemičara Jugoslavije, 1990.
9. Kulić-Japundžić I., Rakić Lj., Stojanović T.: Biohemija-praktična nastava za studente medicine i priručnik za laboratorijske analize, Zavod za udžbenike, Beograd, 1997.
10. Latimer K.S., Mahaffey E.A., Prasse K.W., Robert Duncan J.: Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine – clinical pathology, Wiley-Blackwell, 2003.
11. Rusov Č.: Hematologija ptica, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd, 2002.
12. Šamanc H.A.: Bolesti organa za varenje goveda, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2009.
13. Stefanović S., Baklaja R.: Hemostaza i njeni poremećaji, Medicinska knjiga Beograd-Zagreb, 1981.
14. Thrall M-A., Baker C.D., Duane Lassen E.: Veterinary hematology and clinical chemistry, Wiley-Blackwell, 2004.
15. Trailović D.R.: Gastroenterologija pasa i mačaka- etiopatogeneza, dijagnostika i terapija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1999.
16. Varcoe S.J.: Clinical biochemistry – techniques and instrumentation – a practical course, World Scientific, 2001.

O autorima

Dr Branislava M. Belić je redovni profesor na Departmanu za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu, uža naučna oblast Patologija-Patološka fiziologija. Ona je i vanredni član Akademije medicinskih nauka Srpskog lekarskog društva. Rođena 09.04.1956. godine u Sremskim Karlovcima. Posle završetka Medicinskog fakulteta specijalizirala hematologiju i transfuziologiju. Doktorsku disertaciju odbranila na modelu hiperbaričnog stresa kod miševa. Autor je ili koautor preko 450 radova i saopštenja i više od 15 monografija, udžbenika i praktikuma. Bila mentor više od 15 disertacija i završnih radova na različitim nivoima studija, a preko 20 puta učestvovala na komisijama za ocenu i odbranu radova. Učestvovala ili rukovodila na preko 15 projekata Ministarstva prosvete i nauke, Pokrajinskog sekretarijata za visoko obrazovanje Vojvodine, TEMPUS projektu, bilateralnim projektima i projektima saradnje sa privredom i unapređenja nastave. Bila recenzent u većem broju naučnih časopisa, a vršila i recenzije projekata. Obavljala više društvenih funkcija, bila potpredsednik skupštine AP Vojvodine, predsednik Saveta Poljoprivrednog fakulteta, a trenutno je šef Katedre za veterinarsku medicinu i prodekan za nastavu Poljoprivrednog fakulteta. Izvodi nastavu na integrisanim, specijalističkim i doktorskim studijama veterinarske medicine u Novom Sadu.

Dr Marko R. Cincović je vanredni profesor na Departmanu za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu, uža naučna oblast Patologija-Patološka fiziologija. Rođen 07.09.1984. godine u Priboru. Integrисane studije veterinarske medicine u Novom Sadu završio sa prosečnom ocenom 9,23, doktorske 10,00 i specijalističke akademiske na Fakultetu veterinarske medicine u Beogradu sa ocenom 9,89. Kao student osvajao nagrade za izrađene naučne temate i postignut uspeh od strane Poljoprivrednog fakulteta i Univerziteta u Novom Sadu. Biostipendista Ministarstva nauke R.Srbije. Objavio kao autor ili koautor preko 250 radova i saopštenja i više od 15 udžbenika, praktikuma i monografija. Rukovodio ili učestvovao na 20 projekata Ministarstva prosvete i nauke, Pokrajinskog sekretarijata za visoko obrazovanje Vojvodine, TEMPUS projektu, bilateralnim projektima i projektima saradnje sa privredom i unapređenja nastave. Mentor većeg broja doktorskih disertacija i završnih radova. Recenzirao veći broj udžbenika i praktikuma, kao i veliki broj radova u nacionalnim i međunarodnim časopisima sa impakt faktorom. Jedan od osnivača i odgovorno lice Laboratorije za patološku fiziologiju na Departmanu za veterinarsku medicinu. Obavljao funkciju direktora Departmana za veterinarsku medicinu. Izvodi nastavu na integrisanim, specijalističkim i doktorskim studijama veterinarske medicine u Novom Sadu.

Izvod iz recenzija

Praktikum iz Opšte patološke fiziologije je napravljen tako da pomogne studentima u pripremi ispita iz ovog predmeta kroz kontinuirani rad na vežbama i samoprocenu usvojenih znanja. Praktikum je organizovan kroz poglavlja koja prate osnovni udžbenik.....Svako potpoglavlje predstavlja didaktički materijal za određene delove ispita i to: potpoglavlja 1-3 služe za pripremu praktičnog dela ispita zajedno sa materijalima koji se dobija na vežbama; potpoglavlje 4 služi za pripremu testa, dok potpoglavlje pod tačkom 5 služi radi lakše i sistematične pripreme usmenog dela ispita koji se priprema iz udžbenika i iz materijala sa predavanja.....Uzimajući u obzir plan i program i ciljeve i ishode učenja predlažem da se navedeni praktikum štampa kao pomoći udžbenik za studente integrisanih studija veterinarske medicine Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu.

Prof.dr Ivana Davidov

Praktikum iz Opšte patološke fiziologije namenjen je studentima veterinarske medicine koji istoimeni predmet slušaju u petom semestru integrisanih studija. Praktikum sadrži preko 130 strana kucanog materijala. Obrađenja su sledeća poglavlja: Uvod, Patofiziološke metode i laboratorijska dijagnostika, Patofiziologija delovanja etioloških faktora i opštег odgovora organizma, Patofiziologija inflamacije i imunološkog sistema, Patofiziologija poremećaja metabolizma tečnosti, acido-baznog statusa i jona, Patofiziologija poremećaja metabolizma ugljenih hidrata, masti i proteina, Patofiziologija kancerogeneze i Literatura. Praktikum sadrži sve elemente koji su značajni za postizanje ciljeva i ishoda učenja na ovom predmetu . U procesu učenja studenti moraju poznavati ciljeve i ishode predmeta, kako bi pravilno usmerili svoje učenje i samostalni rad tokom nastave. Uzimajući u obzir sve navedeno predlažem da se Pratokum iz opšte patološke fiziologije usvoji od strane NN veća Poljoprivrednog fakulteta za stalnu upotrebu, kao pomoni udžbenik.

Prof.dr Nikolina Novakov