

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

Prof.dr Marko Cincović

Prof.dr Branislava Belić

**SPECIJALNA 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 Marko Cincović

Prof. dr Branislava Belić

CIP - Каталогизација у публикацији
Библиотеке Матице српске, Нови Сад

636.09:616-092(075.8)(076)

ЦИНЦОВИЋ, Марко Р., 1984-

Specijalna patološka fiziologija : praktikum / Marko Cincović, Branislava Belić. - Novi Sad : Poljoprivredni fakultet, 2022 (Niš : Grafika "Galeb"). - 183 str. : ilustr. ; 30 cm. - (Edicija Pomoćni udžbenik / Poljoprivredni fakultet, Novi Sad)

Tiraž 20. - Bibliografija.

ISBN 978-86-7520-558-6

1. Белић, Бранислава, 1956-

а) Ветеринарска патолошка физиологија - Практикуми

COBISS.SR-ID 71722505

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

EDICIJA POMOĆNI UDŽBENIK

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

**SPECIJALNA
PATOLOŠKA FIZIOLOGIJA
PRAKTIKUM**

Novi Sad, 2021.

SPECIJALNA PATOLOŠKA FIZIOLOGIJA - PRAKTIKUM

Autori

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

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 pomoćni udžbenik.

Zabranjeno preštampavanje i fotokopiranje. Sva prava zadržava izdavač.

Predgovor

Nakon savladanog gradiva iz opšte patološke fiziologije ovaj praktikum pomaže studentima veterinarske medicine da savladaju metode i veštine iz specijalne patološke fiziologije. Praktikum iz specijalne patološke fiziologije sadrži metode neophodne za dijagnostiku iz oblasti: patofiziologije crvene krvne loze, patofiziologije bele krvne loze, patofiziologije trombocita i hemostaze, patofiziologije kardiovaskularnog sistema, patofiziologije respiratornog sistema, patofiziologije gastrointestinalnog sistema, patofiziologije urinarnog sistema, patofiziologije endokrinog sistema i patofiziologije centralnog nervnog, neuromuskularnog i lokomotornog sistema.

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

U savremenoj vetrinarskoj medicine 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 neophodne u dijagnostici bolesti pojedinih sistema organa kod životinja. Ovaj praktikum, kao i Praktikum iz opšte patološke fiziologije sa kojim čini neraskidivu celinu, treba da pomogne studentima da savladaju savremene metode iz predmeta koji slušaju i koji je neophodan za rad u kliničkoj praksi.

Nadamo se da će sugestije i iskustva tokom budućeg rada sa studentima doprineti da se u budućnosti dobije još kvalitetniji praktikum, čemu se unapred radujemo.

*U Novom Sadu,
septembar, 2021.*

Autori

SADRŽAJ

Uvod	7
Patofiziologija crvene krvne loze.....	8
Patofiziologija bele krvne loze.....	38
Patofiziologija trombocita i hemostaze.....	56
Patofiziologija kardiovaskularnog sistema.....	69
Patofiziologija respiratornog sistema.....	88
Patofiziologija gastrointestinalnog sistema.....	100
Patofiziologija urinarnog sistema.....	131
Patofiziologija endokrinog sistema.....	150
Patofiziologija centralnog nervnog, neuromuskularnog i lokomotornog sistema.....	168
Literatura	181

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 dobijenim materijalom sa predavanja i vežbi predstavlja dovoljno štivo za uspešnu pripremu ispita. Praktikum je organizovan tako da jedno poglavlje čini jedan organski sistem. U praktikumu su obuhvaćeni crvena krvna loza, bela krvna loza, trombociti i hemostaza, kardiovaskularni sistem, respiratorni sistem, digestivni sistem i pridružene žlezde, urinarni sistem, endokrini sistem, nervni i lokomotorni sistem. 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: 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.

U procesu učenja studenti moraju poznavati ciljeve i ishode predmeta, kako bi pravilno usmerili svoje učenje i samostalni rad tokom nastave. Cilj predmeta Specijalna patološka fiziologija je da studenti steknu: 1) znanja o patofiziološkim procesima koji postoje kod bolesnih stanja i procesa specifičnih za različite organske sisteme, 2) veštine primene laboratorijske metode i skrining panele za porcenu zdravlja pojedinih organskih sistema, 3) sposobnosti da na osnovu patofizioloških metoda donesu zaključak o vrsti funkcionalnog poremećaja koji postoji kod životinje. Kada student savlada i položi Specijalnu patološku fiziologiju očekujemo sledeće ishode: 1) student će umeti da ukratko opiše i utvrdi najvažnije poremećaje funkcionalnog statusa pojedinih organa i organskih sistema, 2) student će umeti da poveže promene u funkcionalnom statusu organa sa njihovim uzrocima i znacima koji govore u prilog postojanja poremećaja, 3) student će umeti da primeni laboratorijske metode u dijagnostici poremećaja funkcionalnog statusa pojedinih organa i sistema, 4) student će moći da izvede zaključak o tipu i intenzitetu poremećaja funkcionalnog stanja na osnovu laboratorijskih nalaza pacijenta, 5) student će moći da uporedi i poveže sličnosti i razlike laboratorijskih analiza kod različitih vrsta poremećaja, 6) student će umeti da razlikuje osnovne poremećaje funkcije organa i sistema i odlučiće se za pravilne procedure za njihovo dokazivanje.

Nadamo se da će studenti postići ciljeve i ishode učenja na predmetu Specijalna patološka fiziologija savladavanjem ovog praktikuma, koji je iz tih razloga i napisan.

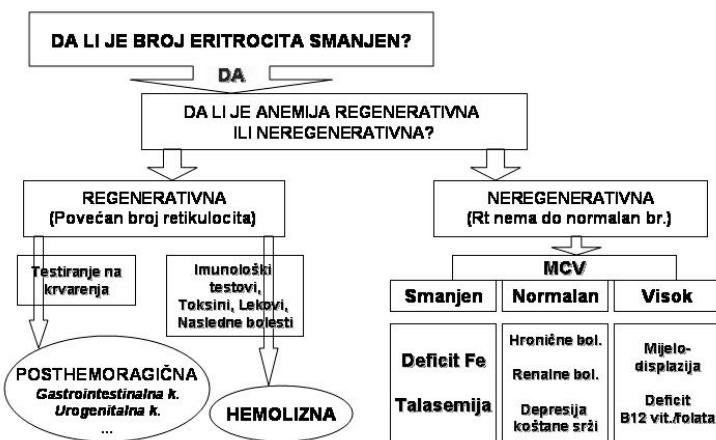
PATOFIJOLOGIJA CRVENE KRVNE LOZE

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

Anemija je poremećaj koji nastaje kao posledica smanjenog broja eritrocita i/ili smanjene koncentracije hemoglobina u cirkulaciji. U odnosu na sadržaj hemoglobina u eritrocitima razlikujemo hipohromne i hiperhromne anemije, u odnosu na veličinu eritrocita razlikujemo makrocitne i mikrocitne anemije. Za primenu terapije neophodno je odrediti mogućnost kapaciteta kostne srži za regeneraciju iste u odnosu na nastalu anemiju, pa se anemije dele na regenerativne i neregenerativne.

Pri postavljanju dijagnoze kod procene anemija, neophodno je izvršiti više analiza, koje su u smislu racionalne dijagnostike predstavljene od opštih ka specifičnim metodama prema redosledu koji sledi: 1. analiza standardne krvne slike, 2. analiza razmaza periferne krvi, 3. analiza koštane srži.

Opšti postupak u dijagnostici anemija dat je na šemi koja sledi:



Šema: Opšti postupak dijagnostike anemija

Analiza standardne krvne slike podrazumeva: 1. ispitivanje hematološkog statusa (određivanje hematokrita, broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, eritrocitnih indeksa); 2. ispitivanje biohemiskog statusa (serumsko gvožđe, feritin, kapacitet vezivanja gvožđa i slobodni transferin); 3. ispitivanje markera hemolize (nekonjugovani bilirubin, hemoglobin u urinu, haptoglobin, hemosiderin u urinu); 4. ispitivanje imunoloških markera (Coombsov test, eritrocitna antitela i sl.)

Hematokrit se određuje pomoću posebnih kapilarnih mikrocevčica i centrifuge za mikrohematokrit. Cevčice su promera 1mm i dužine 7 cm. Postupak izvođenja testa: Cevčica se položi nakon toga se meri odnos korpuskularnog i tečnog dela krvi (lenjirom ili posebnim čitačem). Nakon očitavanja a uz primenu tabele referentnih vrednosti, možemo konstatovati snižen hematokrit (koji se javlja u anemijama i uslovima hipehidratacije), povišenu vrednost hematokrita (kod dehidratacije ili policitemiju) ili normalnu vrednost hematokrita. Na osnovu

vrednosti hematokrita anemije se dele na blage (Hct=30-37), umerene (Hct=20-29), teške (Hct=13-19) i vrlo tešku (Hct<13). Navedeni primer je vezan za pse.

Određivanje broja eritrocita vrši se automatski u hematološkom analajzeru ili brojanjem u Thoma-Zeisovoj ili Neubauerovoj komorici. Za brojanje eritrocita u komoricama koristi se melanžer sa crvenom perlicom. Za određivanje što tačnijeg broja eritrocita neophodno je uraditi razblaženje rastvora, jer broj očitanih eritrocita zavisi od njihovog broja u jedinici zapremine razblažene krvi. Ukoliko se za brojanje eritrocita koriste mala razblaženja eritrociti se preklapaju, što otežava brojenje. Veće razreženje se postiže kada se krv uvuče u eritrocitni melanžer (sa crvenom kuglicom) do oznake 0,5; a potom se uvuče Haymov rastvor do oznake 101. Na ovaj način se krv razblaži 200 puta. Pri sumnji da je životinja obolela od aplastične ili hemolitičke anemije krv uvučemo do oznake 1,0 (razređenje od 100 puta), a potom prstom zatvorimo melanžer i blago promućkamo u toku nekoliko minuta. Nakon mućkanja iz kapilarnog dela melanžera ispusti nekoliko kapi krvi koja se nije izmešala. Za određivanje broja crvenih krvnih zrnaca u milijardama po litru mora se izvršiti sledeća računska operacija:

$$\text{BR.ER./L KRVI} = \text{N}/80 \times 400 \times 10 \times 200 \times 10^6/\text{L}$$

N-eritrociti,

80-broj eritrocita u 80 kvaadratiča komorice,

400-ukupan broj kvadratiča u komorici,

10-zapremina mrežice je 0.1mm^3 , a mi želimo da izračunamo koliko će biti Er u 1mm^3 ,

200-razblaženje,

$10^6/\text{L}$ -da bi izračunali broj eritrocita u litri krvi.

Kod anemija očekujemo smanjen broj eritrocita.

Uz pomoć hematološkog analajzera automatski se meri i koncentracija hemoglobina. Koriste se kolorimetrijske metode po Drapkinu i Sahliju, dok pojedini analajzeri automatski određuju koncentraciju hemoglobina izračunavanjem. Na terenu se i dalje često primenjuje stara ali dobra orijentaciona metoda za određivanje koncentracije hemoglobina po Van Slyke-u. Ova metoda je gravimetrijska i zasniva se na određivanju specifične mase krvi i krvne plazme. Poznato je da specifična masa krvi zavisi od Hb eritrocita, a specifična masa plazme od proteina plazme. Ove specifične mase se upoređuju sa specifičnom masom CuSO₄, tako što se napravi serija rastvora CuSO₄, specifične mase od 1,015-1,075. Uzima se kap krvi ili lancetom ili kapilarom. Kap krvi ili kapilara čiji je vrh postavljen 2-3 cm iznad površine rastvora puštaju se u seriju rastvora CuSO₄. Zatim se vrši u toku prvih 5 sekundi posmatranje. Tumačenje rezultata: 1. Kap krvi se penje naviše – krv/plazma ima veću specifičnu masu od CuSO₄ – vrednost hemoglobina je ispod normalne vrednosti; 2. Kap pada na dno – krv/plazma ima manju specifičnu masu od CuSO₄ – vrednost hemoglobina je normalne vrednosti; 3. Kap krvi pliva u CuSO₄ – krv/plazma i rastvor su iste specifične mase – vrednost hemoglobina je granična. Za kvantifikaciju ove reakcije postoji i matematička formula: Hb(g/L)=399x ((Specifična masa krvi – S.m.palzme)/ 1,0964- S.m. plazme).

Hemoglobin se može izdvojiti i elektroforezom, a ova metoda se koristi kada na osnovu kliničkog i drugih nalaza sumnjamo na anemiju usled prisustva patoloških oblika hemoglobina.

U brojnim anemijama se javlja smanjena koncentracija hemoglobina. Za detaljniju dijagnostiku bitno je odrediti eritrocitne indekse: MCV (mean cell volume, srednja vrednost zapremine eritrocita), MCH (mean cell-corpuscular hemoglobine, srednja vrednost količine hemoglobina u ćeliji), MCHC (mean cell-corpuscular hemoglobine concentration, srednja

vrednost koncentracije hemoglobina u eritrocitima). Na osnovu vrednosti MCV anemije se dele na normocitne, mikrocytne i makrocytne. Na osnovu MCH anemije se dele na normohromne i hipohromne. Kod mikrocytne i hipohromne anemije dolazi do pada koncentracije hemoglobina, hematokrita, MCV i MCH. Kod megaloblasne anemije se uz smanjenu koncentraciju hemoglobina i hematokrita pokazuje se i povišena vrednost MCV i MCH. U kliničkoj praksi najčešće vrste anemije: makrocytna hipohromna anemija, normocitna normohromna anemija, mikrocytna anemija sa ili bez hipohromazije.

Za procenu funkcionalnog statusa eritrocita, pored ispitivanja hemoglobina, značajno je i ispitivanje osmotske otpornosti (fragilnosti) eritrocita. Za ovaj test se krv uzima sa suvim antikoagulansom. Suština teste je da se ista zapremina krvi stavlja u niz epruveta u kojima postoji opadajuće razblaženje NaCl (postiže se povećanjem zapremine vode i smanjenjem zapremine NaCl u nizu epruveta). Zbog osmoze tečnosti dolazi do hemolize eritrocita. U prvoj epruveti u kojoj je došlo do hemolize javlja se žućasti sadržaj iznad sedimentiranih eritrocita, a u poslednjoj epruveti u kojoj je došlo do hemolize sadržaj je ružičasto obojen (kompletna hemoliza) i u njoj nema istaloženih eritrocita. Rezultati koji se ovim ispitivanjem mogu dobiti su snižena osmotska fragilnost eritrocita, povišena osmotska fragilnost i normalan nalaz. Snižena osmotska fragilnost se javlja kod retikulocitoze, deficijencije gvožđa, bolesti jetre i prisustva leptocita. Povišena osmotska fragilnost se javlja kod nasledne sferocitoze i eliptocitoze, imunoposredovanih hemoliznih anemija, kod hronične azotemije i dr. Minimalne vrednoti rezistencije variraju od 0,74 g% NaCl (kod svinja) do 0,40 (kod živine); a maksimalne vrednosti rezistencije je oko 0,5g%, osim kod ptica gde je vrednost 0,28.

Pored navedenih ispitivanja za dijagnostiku anemija je značajno odrediti i koncentraciju gvožđa. Ona je snižena kod hipohromnih anemija (sideropenijska), ali i kod maligniteta i infekcija. Povišena vrednost gvožđa ukazuje na hemolizu ili nekrozu hepatocita (depo Fe). Pored gvožđa potrebno je odrediti transferin i stepen njegovog zasićena, koji zavisi od koncentracije gvožđa i koncentracije transferina u krvi životinja.

Za ispitivanje markera hemolize značajno je odrediti: povišen nekonjugovani bilirubin, snižen haptoglobin, pozitivan hemoglobin u urinu, pozitivan hemosiderin u urinu, hemoglobinemiju, povišenu aktivnost LDH, povišenu aktivnost AP. O ovim markerima detaljnije govorimo u poglavljju Praktikuma koji se odnosi na dijagnostiku ikterusa.

Za određivanje imunološki posredovanih anemija značajan je Coombsov test. Direktan Coombsov test se određuje zbog utvrđivanja autoantitela na eritrocitima u autoimunim hemoliznim stanjima ili hemoliznim posttransfuzijskim reakcijama. Direktni antiglobulinski test (DAT) je hemaglutinaciona proba na antitela ili komplement vezan za eritrocite. Isprani fiziološke rastvori eritrocita se inkubiraju na 37°C i 4°C sa antiserumima koji sadrže antitela, poreklom od koza ili kunića, na IgG, IgM i komplement C3 pasa. Probu treba izvesti u mikrotitarskim pločama, koristeći serijska dupla razređenja antiseruma. Na taj način se prevazilazi efekat prozone, koji daje lažno negativan rezultat, jer višak antitela sprečava unakrsno povezivanje potrebno za aglutinaciju. Titar koji predstavlja rezultat je poslednje razređenje koje izaziva aglutinaciju eritrocita pacijenta. Na taj način se dobija orijentaciona ocena količine antitela koja su vezana za eritrocite.

Kada se radi o mikroskopskoj analizi razmaza eritrocita vrlo je značajno pravilno izbrojanje, broj retikulocita na 1000 eritrocita, koji govore o regenerativnosti anemije. Retikuloci se broje automatski pomoću hematološkog analajzera. U tabeli su opisane karakteristike pojedinih vrsta eritrocita koje se javljaju u pojedinim anemijama.

Tabela: Oblici eritrocita koji se nalaze u različitim vrstama anemija

Oblik	Opis	Diferencijalna dijagnoza
MAKROCIT	Veličina preko 9 mikrona; Okrugao oblik, Smanjena bikonkavnost; Odsutno jedro i jedarce; Acidofilna citoplazma sa ili bez centralnog rasvetljenja; Povećana fragilnost (smanjena konkavnost i istanjenost).	Megaloblasna eritropoeze (Deficit b12 vitamina i folata). Diseritropoeza usled mijelodisplastičnog sindroma. Oštećenje lipidne membrane Er u bolestima jetre. U aplastičnim anemijama (nerazjašnjene etiologije).
MIKROCITI	Manji od 6 mikrona; Tanki; Okruglog do loptastog oblika; Bez jedra i jedarca; Acidofilna citoplazma Sa ili bez centralnog rasvetljenja-ako ga ima prošireno je i veliko (anulociti – deficit Fe); Bez inkluzija; Nešto smanjena oksigenacija.	Anemija usled deficit Fe i Hb, Anemija u hroničnim bolestima, Anemija kod neoplazija, Talasemija, Pojava patološkog hemoglobina, Trovanja, Nasledna sideroblasna anemija, Nasledni nedostatak feritina i sl.
ŠISTOCITI	Manji od 6 mikrona; Različiti oblici-fragmenti; Bez jedarca i jedra; Acidofilna citoplazma sa malim centralnim rasvetljenjem ili znatno češće bez; Smanjene oksigenacije; Manje elastični i osetljivi-fragmentacija opne lako nastaje (nepravilni oblici, u vidu šlema, trougla, polulopte).	Hemolizne anemije usled mikroangiopatija i traumatskih hemoliza Uremija Tokom maligne arterijske hipertenzije Nasledna piropoikilocitoza
STOMATOCITI	Veći od normalnih Er; Imaju samo jednu konkavnu stranu; Citoplazma je acidofilna sa neobojenom uzdušnom zonom (kao usne-stoma-Fish mouth cells); Nešto tanji, Okrugli ili ovalni; Diskretno smanjene oksigenacije; Poremećen katjonski transport kroz membranu Er.	U vrlo malom procentu se nalaze fiziološki Bolesti jetre Alkoholizam ljudi Nasledna stomatocitoza
ELIPTOCITI	Ovalni bikonkavni eritrociti; Duže se zadržavaju u slezini i sporo prolaze kroz kapilare;	Nasledna eliptocitoza (ovalocitoza), Deficit Fe, Talasemija, Diseritropoeza,

	Manji od 6 mikrona; Lako hemoliziraju; Smanjena oksigenacija.	Megaloblastična anemija, Mijeloftizna anemija.
EHINOCITI	Normalni Er ili manji od 6 mikrona; Okruglog i izduženog oblika, sa nazubljenom opnom-oblik čička; Smanjena elastičnost; Lako hemoliziraju; Smanjena oksigenacija	In vitro hemoliza, Renalna insuficijencija, Bolesti jetre, Hemoliza usled sudara, Malnutricija (hipomagnezemija, hipofosfatemija), Deficijencija piruvat-kinaze
AKANTOCITI	Ovalnog i okruglog oblika sa spikulama, različite debljine, liče na mamuze; Smanjene oksigenacije; Smanjena elastičnost, Sklonost ka hemolizi.	Asplenija i hiposplenija, Bolesti jetre, Abetalipoproteinemija, Neuroakantocitoza, Malnutricija, Diseritropoeza
DREPANOCITI	Er srpastog izgleda	Usled stvaranja štapićastih polimera hemoglobina S ili drugih patoloških hemoglobina. Usled različitih hereditarnih hemoglobinopatija.
DAKRIOCITI (Teardrop cell)	Er u obliku suze nastaju jer membrana eritrocita ne može da uspostavi predhodni oblik posle prolaska kroz uske krvne sudove ili zbog hiperplazije kostne srži. Mogu da se pojave i kao artefakti na ivicama krvnih razmaza.	Mijelofibroza, Metastaze tumora u koštanu srž, Ekstramedularna eritropoeza, Diseritropoeza, Megaloblasna anemija, Talasemija, Akutne leukemije, Multipli mijelom
PEČURKASTI ER (Pincer cell)	/	Nasledni poremećaji eritrocitne membrane Diseritropoeza
KERATOCITI (Horn cell)	/	Hemoliznih anemija ili izlaska Heinzovih i drugih inkluzija iz Er. Diseritropoeza
SFEROCITI	Manji od 6 mikrona; Loptastog oblika; Citoplazma bez centralnog rasvetljenja; Lako nastaje fragmentacija opne zbog smanjene	Povećana destrukcija Er, Nasledna sferocitoza, Autoimune hemolitičke anemije, Hemolizna reakcija na transfuziju, Oksidativno oštećenje Er, Cl.Perfrigens toksin, Sepsa,

	elastičnosti i savitljivosti; Teško prolaze kroz kapilare; Zaostaju u slezini;	Intoksikacija vodom.
KODOCITI (Target cell)	Pljosnat izgled sa smanjenjem debljine i uvećanjem prečnika; Citoplazma acidofilna sa obojenom centralnom i perifernom zonom; Bez inkluzija, jedra i jedarca.	Asplenija, Hiposplenija, Bolesti jetre – makrokodocit, Izraziti deficit Fe, Hemoglobinopatija C,D,E,H i S
MEHURASTA TELA U ER (Piknosit, Blister cell)	Nastaju usled koncentracije Hb u jednom delu Er, pa je deo Er prazan. Ova svetla polja mogu nastati i kao posledica odstranjenja Howel-Jollyevih telašaca.	DIK, Oksidativna oštećenja, Hemoglobin C bolest, Talasemija, Diseritropoeza, Nestabilnost Hb RAZLIKOVATI OD HIPOHROMNIH ĆELIJA!
HOWELL- JOLY-eva TELAŠCA	Slični Er; Okrugli do ovalni; Acidofilna citoplazma; Telašca su ostaci jedra ili odvojeni hromatin od mitoznog vretena; Telašce dimenzija 0,5-1 mikron; Najčešće prisutno jedno, mada može biti prisutno i nekoliko u jednom Er.	Asplenija, Megaloblasna anemija, Hemolizna anemija, Neonatalni period.
HEINZOVA TELAŠCA	Vidi se jedino u bojenju sa kristali-violet (ne po Gimzi)	Enzimopatije (g-6DP deficijencija, Deficijencija piruvat-kinaze), Hemoglobinopatije, Talasemija
RETIKULOCITI	Prekursori eritrocita sa ostacima ribosoma i mitohondrija, zbog čega se nazivaju i polihromatofili.	Povećan broj retikulocita ukazuje na regenerativne anemije.

Za kompletну dijagnostiku anemija značajno je pregledati kostnu srž i ispitati njenu celularnost na razmazu, te koristiti objektiv koji uveličava 40x. Celularnost se broji na osnovu broja ćelija sa jedrom u vidnom polju pri uveličanju sa objektivom 40x. Mijelogram ili kvalitativni i kvantitativni odnos u ćelijama koštane srži vrši se na osnovu brojanja i beleženja 200-300 ćelija s jedrom. Na osnovu broja ćelija u vidnom polju dijagnostikujemo stanja od aplazije do hiperplazije. Pored navedenog, značajno je ispitati odnos ćelija granulopeze i eritropoeze (koje su najzastupljenije u razmazu koštane srši) kako bi se dijagnostikovala hipo ili hiperplazija neke od loza.

Policitemija nastaje kao apsolutan ili relativan poremećaj, prateći dehidrataciju, infekcije odnosno leukemijsku reakciju. Postoji nekoliko kriterijuma za dijagnostiku policitemije i ukoliko postoji veći broj nalaza koji su pobrojani možemo dijagnostikovati policitemiju: povećana masa eritrocita, normalna saturacija arterijske krvi kiseonikom u prisustvu eritrocitoze, splenomegalija,

trombocitoza i/ili leukocitoza, hipercelularna kostna srž sa megakariocitnom hiperplazijom i odsustvom depoa Fe, nizak nivo eritropoetina u prisustvu povećane mase Er i spontane eritroidne kolonije bez dodavanja Epo u kulturama celija koštane srži.

Pregled određenih hematoloških metoda

ODREĐIVANJE KOLIČINE HEMOGLOBINA U KRVI – Ova metoda se zasniva na činjenici da se hemoglobin pretvara u cijanmethemoglobin (tj. hemoglobincijanid) u prisustvu KCN i $[K_3Fe(CN)_6]$ pri pH vrednosti 7,0-7,4.

Način izvođenja metode: Rastvori se u destilovanoj vodi 200 mg $[K_3Fe(CN)_6]$, 50 mg KCN, 140 mg KH₂PO₄ i 0,5 ml konc. Sterox Se, pa se dopuni do 1 litra. pH rastvora treba da bude 7,0-7,4 (pehametrirati). Rastvor se može čuvati duže vremena u tamnoj boci na +4°C. Potrebni su i fotoelektrični kolorimetar ili spektrofotometar, pipeta po Salyu od 0,02 ml, pipeta od 5 ml i epruveta dužine oko 10 cm.

Odmeri se u epruvetu 5 ml reagensa i 0,02 ml (20 μ l) krvi, pa dobro promeša. Ostavi se da stoji 2 minuta, kako bi se hemoglobin pretvorio u cijanmethemoglobin. Ekstinkcija se čita pri talasnoj dužini od 540 nm uz odgovarajući filter. Ako se ekstinkcija čita na spektrofotometru, dobijena vrednost se pomnoži sa koeficijentom 367,7 da bi se dobio hemoglobin u g/l. Ako se upotrebljava fotoelektrični kolorimetar predhodno se napravi kalibraciona kriva.

ODREĐIVANJE GVOŽĐA U SERUMU – Potrebni su sledeći reagensi: HCl 3 mol/l, trihlorisirćetna kiselina (TCA) masene konc. 200g/l, rastvor o-fenantrolina masene koncentracije 10 g/l apsolutnog alkohola, tioglikolna kiselina masene konc. 890 g/l, carbo animalis.

Smeša natrijum-acetata i amonijaka: Rastvori se u vodi (uz zagrevanje) 600g natrijum-acetata i zapremina se dopuni do 1000 ml, pa se doda 20 ml glacijalne sirčetne kiseline i po 40 mg o-fenantrolina. Kada se o-fenantrolin rastvori, dodati se 200-300 mg natrijum-hiposulfata. Ostavi se rastvor da stoji 24 sata. Potom se rastvoru doda oko 400 mg carbo animalis, promeša i ostavi da stoji oko 1 sat. Profiltrira se, kroz dupli filter, u bocu koja nema gvožđa. Filtrat ne sme sadržati tragove životinjskog uglja. Odmeri se 1000 ml ovog rastvora i doda oko 75 ml amonijaka masene koncentracije 250 g/l.

U epruvetu se posebno odmeri po 2 ml HCl, TCA i vode. Od toga se uzme 4 ml i doda 2 ml smeše natrijum-acetat-amonijaka. Poslednja smeša se koristi za slepu probu. pH ovog rastvora treba da bude 4,8-5,0.

U epruvetu od 15 ml se sipa 2 ml seruma, a zatim lagano 2 ml HCl 3 mol/l (da bi se proteini homogeno taložili). Lagano se promeša sadržaj epruvete i ostavi da stoji 10 minuta. Centrifugira se 20 minuta na 3000 ob/min. U drugu epruvetu se sipa 2 ml smeše natrijum-acetat-amonijaka, 4 ml gornje tečnosti dobijene posle centrifugiranja, 0,1 ml o-fenantrolina, pa se snažno promučka i doda 0,2 ml tioglikolne kiseline. Sve se promeša staklenim štapićem i ostavi da stoji najmanje 1 sat i za to vreme će se u potpunosti razviti boja.

Ekstinkcija se čita na spektrofotometru pri talasnoj dužini od 510 nm, prema vodi.

Uz svaku analizu gvožđa u serumu rade se po tri slepe probe. Srednja vrednost njihovih ekstinkcija odbije se od ekstinkcije probe seuma, radi korekcije gvožđa koje se nalazi u vodi reaktiva. Količina gvožđa izračunava se iz standardne krive. Za pravljenje standarda koristi se rastvor Mohrove soli (fero-amonijum-sulfat), čiji se osnovni rastvor razblaži na odgovarajući način. Sve analize treba da se rade u duplikatu.

BOJENJE KRVNIH ELEMENTA – Postoji nekoliko vrsti bojenja krvnih elemenata.

BOJENJE PO GIMZI – U graduisanu epruvetu od 25 ml sveže pripremi se rastvor Gimza-boje, tako da se u 1 ml destilovane vode doda 1-2 kapi boje i dobro promeša. Preparat sa

razmazom krvi se fiksira 10-30 minuta u alkoholetru i osuši na vazduhu. Osušeni preparat se stavi u stakleni sud sa bojom ili boju sipamo pipetom na preparat. Ako boju sipamo pipetom mikroskopsku pločicu treba staviti iznad nekog suda da se boja ne prosipa po stolu. Po ovoj metodi bojenje traje oko 20 minuta, posle čega se preparat pere u desilovanoj vodi, dok ne dobije ružičasto crvenkast izgled, potom osuši na vazduhu i posmatra. U preparatu razmaza bojenom ovom metodom vide se: ružičasto-crveno obojeni eritrociti, slabo plavo obojeni trombociti, neutrofili sa plavim jedrom i bezbojnom citoplazmom, eozinofili obojeni tamno crveno, tamno plavi bazofili i limfociti sa tamno plavim jedrom i svetlo-plavom citoplazmom.

BOJENJE PO WRIGHT-U – Postoji gotov preparat boje u prahu. 0,1 g boje dobro rastreti u avanu, da bi dobili što sitniji prah. Postepeno se doda 60 ml hemijski čistog metilalkohola, pa se ostavi dve nedelje da stoji u dobro zapečaćenoj tamnoj boci. Po isteku navedenog vremena boja je spremna za upotrebu. Predhodno fiksiranje preparata nije potrebno. Na osušen preparat krvi sipa se boja i bojenje traje 1 minut. Potom se dodaje kap po kap destilovanje vode, uz nagnjanje preparata, da se preparat izmeša i ostavi 3 minuta. Potom se boja odlije, preparat se pere i destilovanom vodom osuši na vazduhu. Skraćena Wright-ova metoda se izvodi na sledeći način: na vazduhu osušen preparata razmaza krvi najpre se fiksira u metanolu i boji 2-3 minuta 30% alkoholnim rastvorom Wright-ove boje u destilovanoj vodi. Posle bojenja vidljive su sledeće ćelije: žuti eritrociti, purpurna jedra leukocita, crvenkasto-ljubičaste neutrofilne granule, jasno crveni eozinofili, bazofili tamno plave boje, tamnoljubičasti trombociti, plava citoplazma limfocita i slabo plavičast monocit.

MAY GRÜNWALD BOJENJE – Za ovu metodu dovoljno je da preparat bude samo osušen na vazduhu, jer boja istovremeno i fiksira. Preko preparata razmaza sipa se boja uz pomoć pipete i boji 2-3 minuta. Zatim se, vrlo oprezno, pipetom doda ista kolčina destilovane vode i boji još 5-10 minuta. Na kraju se vrši ispiranje vodom dok preparat ne dobije svetlo ružičastu boju. Pod mikroskopom se vide: crvenasti eritrociti, plava jedra, plave ili ljubičaste bazofilne granule, acidofilne svetlo crvene granile, neutrofilne ljubičasto-crvenkaste granule, sivo-ljubičasti trombociti i negranulisana svetlo-plava protoplazma.

BOJENJE PO PAPPENHEIMU – Na vazduhu osušen preparat, bez predhodnog fiksiranja, pokrije se originalnom May-Grünwald bojom i boji 2-3 minuta. Potom se iz pipete doda 2 puta destilovane vode i ostavi da se boji još 3-4 minuta. Nakon tog vremena boja se odlije i, bez predhodnog spiranja destilovanom vodom, preparat prekrije svežim rastvorom Gimza boje, 3 kapi boje na 2 ml destilovane vode, i boji se još 5-15 minuta. Posle toga preparat se opere u destilovanoj vodi, osuši i pregleda. Ova metoda pokazuje jasno bojenje jedra i granula.

PEROKSIDAZA BOJENJE PO MOSKOVSKI-U – Razmaz krvi fiksira se 3 minuta u 90% alkoholu i boji naročito spremljeno Gimza bojom tokom 15-20 minuta. Za ovu Gimza boju mesto destilovane vode koristimo rastvor benzidin-perhidrola. Rastvor mora biti sveže napravljen na sledeći način: rastvori se nekoliko kristalića benzidina u vodi, energično promučka, filtrira i na svakih 2 ml filtrata doda 1 kap 30x razblaženog perhidrola. Granule eozinofilnih i neutrofilnih polimorfonukleara boje se zlatno-žutom do žuto-smeđom bojom. Limfociti i bazofili ostaju neobojeni, dok se monociti i mijeloblasti oboje. Ova reakcija se radi u cilju dokazivanja oksidaza, kako bismo diferencirali ćelije limfatične i mijeloidne grupe, koji se ponašaju pozitivno prema ovoj reakciji. Ova metoda je značajna kod dijagnostike leukemija i leukemičnih reakcija.

PAS BOJENJE – Ovo je reakcija za lakše prepoznavanje limfatičnih ćelija na osnovu prisutnosti polisaharida, najviše glikogena. Perjodna kiselina cepta C-C vezu u polisaharidima, ako sadrže oba C-atoma OH-grupe. OH-grupe se tom prilikom oksidišu u aldehidne grupe i reaguju sa Schiff-ovim reagensom (fuksin sumporna kiselina) uz nastanak jedinjenja crvene boje. Polisaharidi mogu biti slobodni (glikogen) ili u vidu mukopolisaharida, glukoproteina i

mukoproteina. Na vazduhu osušene preparate venske krvi ili koštane srži fiksiramo 5-15 minuta u metanolu. Preparate peremo destilovanom vodom i prenesemo u posudicu sa rastvorom perjodne kiseline tokom 10 minuta. Preparate peremo destilovanom vodom (5 minuta) i prenesemo u posudicu sa Schiff-ovim reagensom u kome će stajati 45 minuta. Zatim ih peremo tri puta sa SO₂-reagensom (kalijum metabisulfat sa rastvorom sone kiseline) i prenesemo u rastvor hematoksilina tokom 20 minuta, radi kontraksnog bojenja. Preparate peremo tekućom vodom, sušimo ih na vazduhu i pregledamo pod mikroskopom.

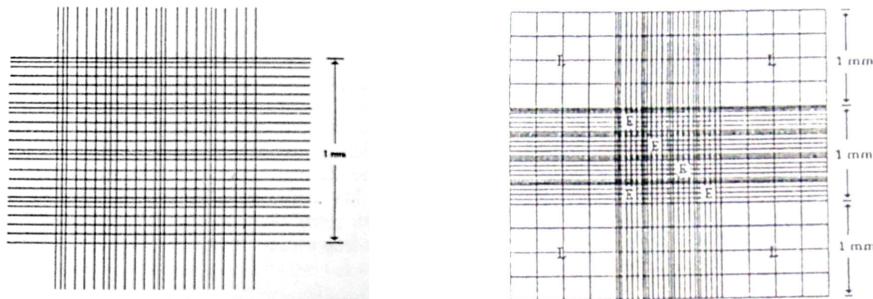
Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Nacrtaj dijagram toka za dijagnostiku anemija

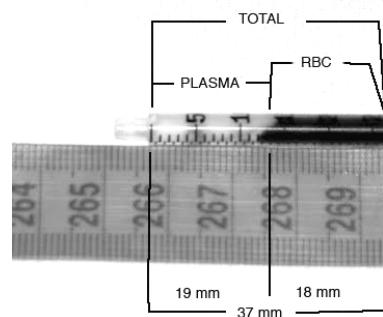
Zadatak 2: Pored pobrojanih dijagnostičkih markera za dijagnozu anemija upiši metode pomoću kojih se ovi pokazatelji dobijaju

Markeri	Metode
Hematološki pokazatelji	
Biohemski pokazatelji	
Markeri hemolize	
Imunološki markeri	
Markeri razmaza periferne krvi	
Markeri razmaza koštane srži	

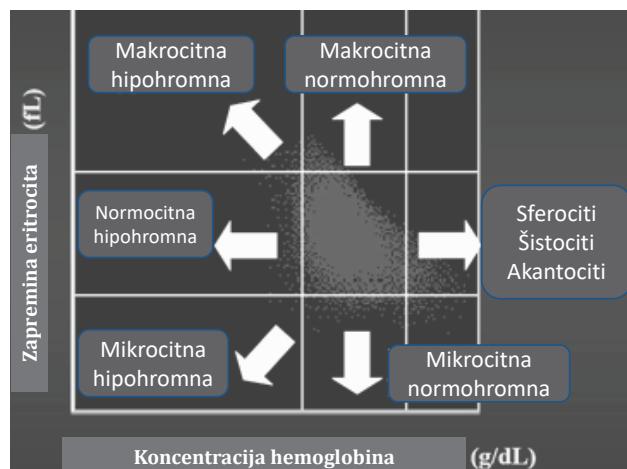
Zadatak 3: Određivanje broja eritrocita vrši se brojanjem u komoricama. Napiši namenu dve vrste komorica prikazane na slici i navedi međusobnu razliku.



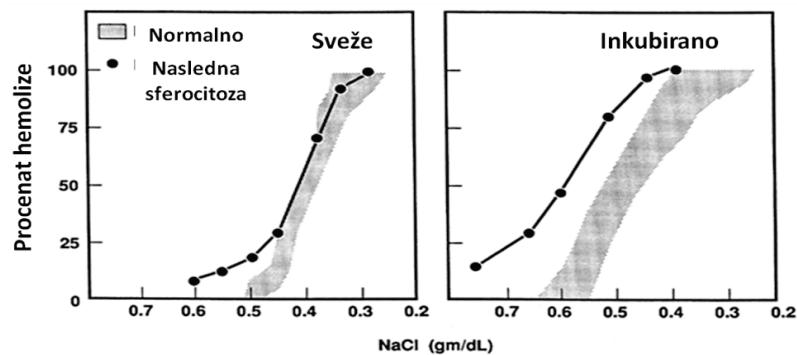
Zadatak 4: Odredite vrednosti hematokrita iz prikazanog orijentacionog uzorka koji se nalazi u špricu



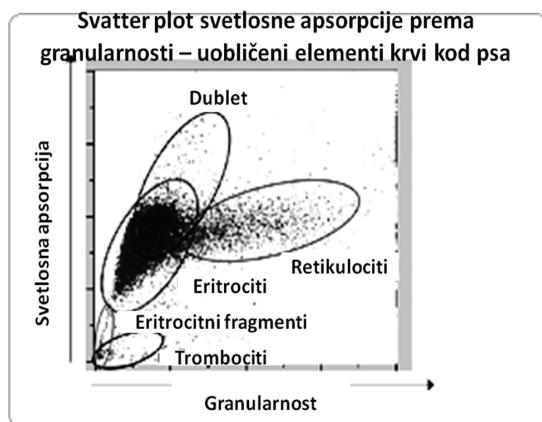
Zadatak 5: Objasnите rezultate protočne citometrije koji su dati na slici



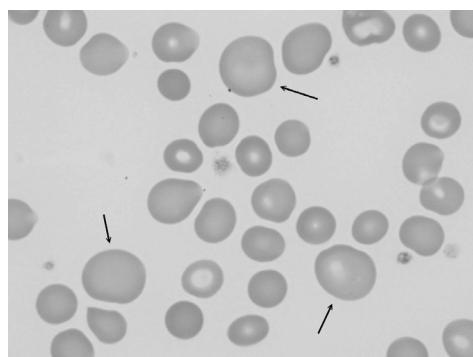
Zadatak 6: Protumačite nalaz testa osmotske otpornosti (rezistencije) eritrocita i objasnite značaj inkubacije u ovoj analizi.



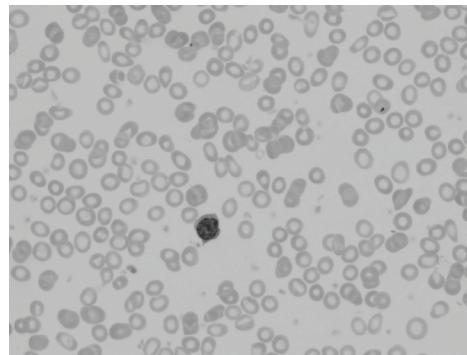
Zadatak 7: Ucrtajte raspored ćelija koji se očekuje kod dijagnoze jake regenerativne anemije



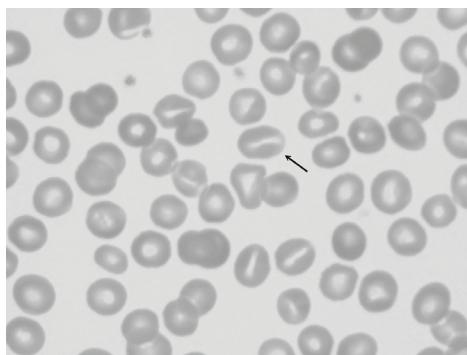
Zadatak 8: Navedite vrstu i naziv ćelija obeleženu na mikroskopskom razmazu i navedite kod koje se bolesti javljaju.



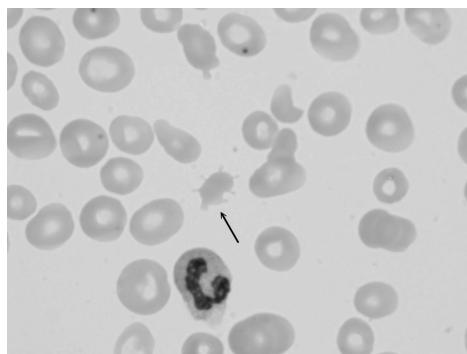
Zadatak 9: Navedite koja vrsta ćelija dominira na prikazanom razmazu krvi i kod koje bolesti se javljaju.



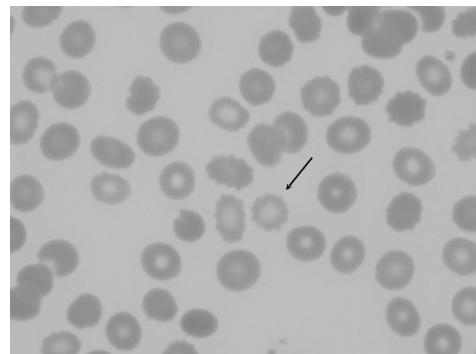
Zadatak 10: Navedite koji oblik ćelija je obeležena na mikroskopskom razmazu?



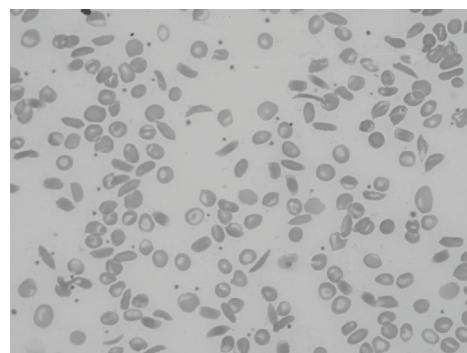
Zadatak 11: Navedite koji oblik ćelija je obeležena na mikroskopskom razmazu?



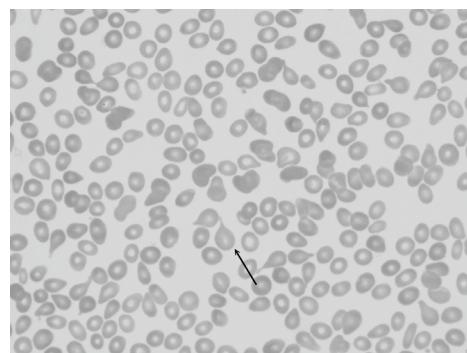
Zadatak 12: Navedite koji oblik ćelija je obeležena na mikroskopskom razmazu?



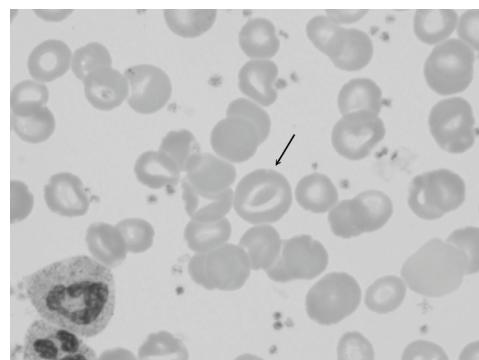
Zadatak 13: Na prikazanom razmazu krvи obeležite drepanocite strelicom.



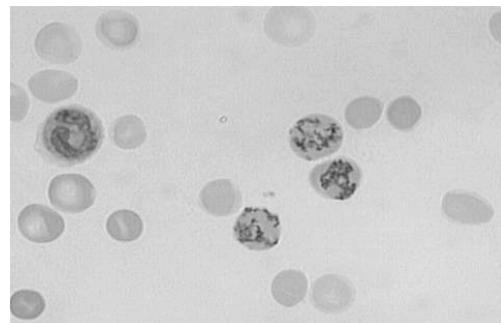
Zadatak 14: Navedite naziv promjenjenog oblika eritrocita koji su označeni na datom razmazu.



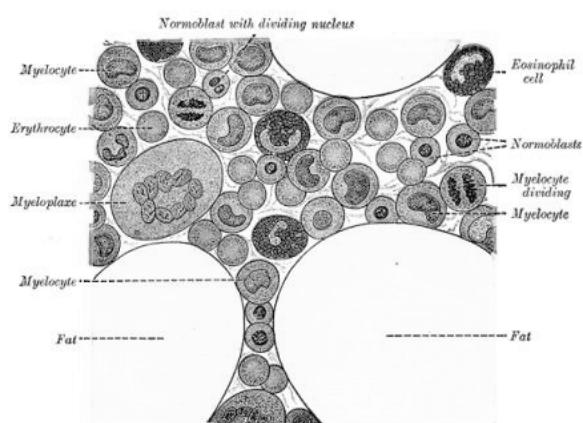
Zadatak 15: Navedite naziv promjenjenog oblika eritrocita koji su označeni na datom razmazu.



Zadatak 16: Na datom razmazu obeležite retikulocite i opišite njihov značaj u dijagnostici anemija



Zadatak 17: Brojanjem ćelija na dotoj šemi ispitajte celularnost koštane srži.



Zadatak 18: Navedi kriterijume značajne za dijagnostiku policitemije.

Zadatak 19: Kaskada procene anemiskog sindroma (klinička slika, markeri standardne krvne slike, markeri razmaza periferne krvi, markeri koštane srži)

Zadatak 20: Kaskada procene da li je anemija regenerativna ili neregenerativna

Zadatak 21: Određivanje hematokrita i tumačenje nalaza

Zadatak 22: Određivanje broja eritrocita i tumačenje nalaza

Zadatak 23: Određivanje hemoglobina po Drapkinu

Zadatak 24: određivanje hemoglobina po Sahliju i po Van Slyke-u i interpretacija nalaza

Zadatak 25: Izračunavanje i interpretacija promene vrednosti eritrocitnih indeksa

Zadatak 26: Određivanje osmotske otpornosti eritrocita

Zadatak 27: Ispitivanje eritrokinetike radionuklidima

Zadatak 28: Određivanje transferina i serumskog gvožđa i biohemijских markera u proceni anemije

Zadatak 29: Coombsov test u imunološkoj proceni anemije

Zadatak 30: Bojenje i brojanje retikulocita i tumačenje nalaza

Zadatak 31: Analiza veličine i oblika Er u razmazu krvi kod pacijenata sa sumnjom na anemiju

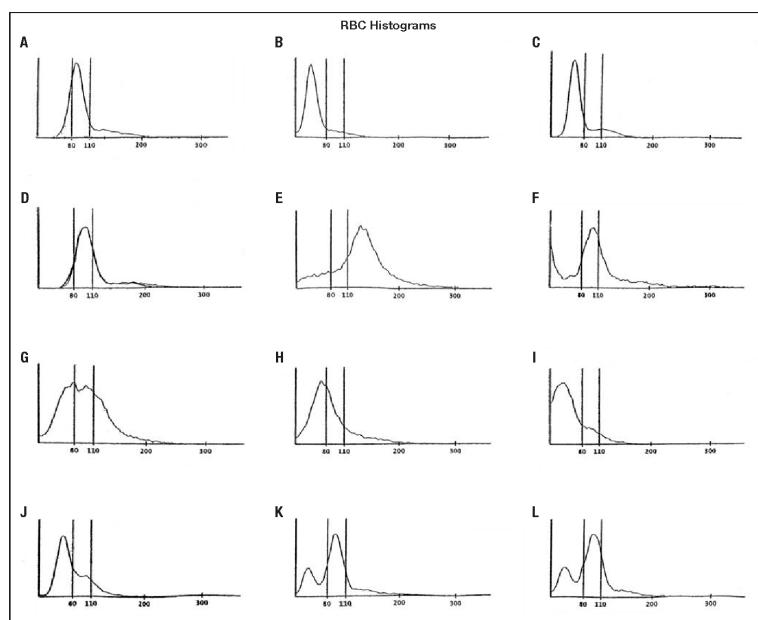
Zadatak 32: Pregled razmaza koštane srži i mijelogram u proceni anemije

Zadatak 33: Određivanje kriterijuma za policitemiju veru

Zadatak 34: Hooffmann-ov kriterijum za policitemiju veru

Zadatak 35: Nacrtajte histogram i objasnite principe analize histograma eritrocita

Zadatak 36: Objasnite histograme eritrocita dobijem analizom krvi na hematološkom analizatoru



Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj 1:

Anemija uzrokovana karcinomom intestinalnog trakta i gubitkom gvožđa

	Patient	Reference Range		Patient	Reference Range
PCV %	11	(37 - 55)	WBC/ul	27,400	(6,000 - 17,000)
Hgb g/dl	2.9	(12 - 15)	Neutrophils	19,454	(3,000 - 11,400)
RBC x10 ⁶ /ul	2.66	(5.5 - 8.5)	Band cells	-	(0 - 300)
MCV fl	42	(60 - 77)	Lymphocytes	6,302	(1,000 - 4,800)
MCH pg	10	(19 - 24)	Monocytes	1,370	(150 - 1,350)
MCHC g/dl	23	(32 - 36)	Eosinophils	274	(100 - 750)
TPP g/dl	6.0	(6.0 - 7.5)			
Plasma color	Normal				
Reticulocytes %	3.3	(<1.0)			
Absolute Retic/ul	87,780	(<80,000)			
Platelets/uL	780,000	(>200,000)			
NRBC	7/100 WBC				

RBC Morphology:

- Anisocytosis 2+
- Microcytosis 2+
- Polychromasia 1+
- Hypochromia 3+
- Poikilocytosis 3+

Tumačenje:

Slučaj 2:

Hemolizna anemija kod babezioze psa

	Patient	Reference Range		Patient	Reference Range
PCV %	10%	(37 - 55)	WBC/ul	33,000	(6,000 - 17,000)
Hgb g/dl	2.9	(12 - 18)	Neutrophils	27,000	(3,000 - 11,400)
RBC x10 ⁶ /ul	1.43	(4.95 - 7.87)	Band cells	3,500	(0 - 300)
MCV fl	70	(60 - 77)	Lymphocytes	800	(1,000 - 4,800)
MCH pg	20	(19 - 24)	Monocytes	1,700	(150 - 1,350)
MCHC g/dl	29	(32 - 36)	Eosinophils	-	(100 - 750)
TPP g/dl	4.5	(6.0 - 7.5)			
Reticulocytes %	10.2	(<1.0)			
Absolute Retic/ul	145,800	(<80,000)			
Plasma color	4+icterus				
Platelets/ul	35,000	(>200,000)			

RBC Morphology:

Anisocytosis 3+

Polychromasia 3+

Macrocytosis 3+

Selected Chemistries	Patient	Reference Range
Alanine		
Aminotransferase (ALT) IU/L	156	(4 - 66)
Total Bilirubin mg/dl	12.4	(0.1 - 0.6)

Urine

Color	Amber
SG	1.035
pH	6
Bilirubin	4+
Blood	1+
Protein	1+
Sediment	Bile crystals

Tumačenje:

Slučaj 3:

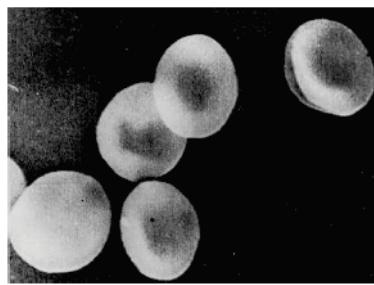
Eksperimentalna promena oblika eritrocita pod dejstvom hiperbaričnog kiseonika

Eksperimentalni rad je rađen sa grupom od 60 miševa vrste *Mus musculus*, koji su podvrgavani tretmanu hiperbarične oksigenacije. Kontrolna grupa je obuhvatala isti broj životinja, istih bioloških osobina, koje su bile bez tretmana hiperbaričnim kiseonikom. Ciljevi rada: Cilj rada je da se ispita veza između patoloških formi eritrocita uzetih u različitim momentima od početka izlaganja hiperbaričnoj oksigenaciji i momenta nastanka konvulzije, zatim međusobna veza zastupljenosti različitih patoloških formi eritrocita tokom izlaganja hiperbaričnoj oksigenaciji, kao i veza između zastupljenosti rupturiranih eritrocita i funkcije CNSa posle završenog hiperbaričnog tretmana.

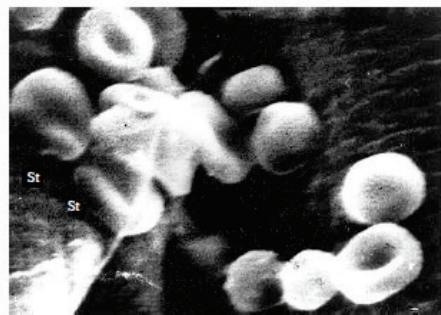
Metode rada: 60 laboratorijski miševa soja *Mus musculus*, izlagano je stopostotnom kiseoniku pod pritiskom od 3,5 ATA. Utvrđeno je da najveći broj životinja ispolji konvulzije oko 40-og minuta, pa je hiperbarična oksigenacija toliko trajala. Krv je uzorkovana 32, 34, 36, 38 i 40 minuta od početka ekspozicije kiseoniku. Elektronskom mikroskopijom (skening) ispitane su patološke forme eritrocita. Praćen je momenat nastanka konvulzija kod životinja. Posle dekompresije vršen je neurološki pregled životinja i njihovo stanje je ocenjivano od 1 do 10. Izračunavan je Pirsonov momenat, kao i jednačina linearne regresije i korelacije za parametre navedene u ciljevima rada.

Rezultati naših istraživanja dozvoljavaju nam da izvedemo sledeće zaključke:

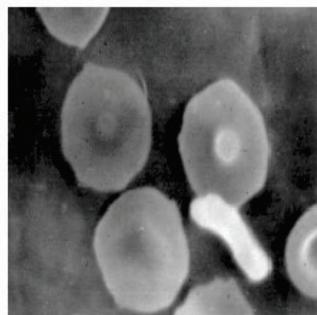
1. Kiseonik je toksičan u višim koncentracijama od fizioloških.
2. Crvena krvna loza je izuzetno osetljiva na akutnu kiseoničnu toksičnost.
3. Kiseonik ispoljava svoju toksičnost i na eritrocitima, a funda-mentalne promene se odvijaju na njihovoj membrani.
4. Promene na membrani eritrocita su specifične za kiseoničnu toksičnost.
5. Toksičnost kiseonika raste u funkciji vremena ekspozicije hiperbaričnim kiseonikom:
 - a. Do 32. minuta na eritrocitnoj membrani nema promena vidljivih elektronskim mikroskopom.
 - b. Rane promene na membrani eritrocita, u vidu akantocita i stomatocita u 32, 34. i 36. minutu su reverzibilne.
 - c. Pojava eritrocita u formi ehinocita u 38. minutu je uslovno reverzibilna promena. Stoga, ovo je kritični vremenski period reverzibilnih i ireverzibilnih lezija.
 - d. Rupture ćelijske membrane, koje nastaju u 40. minutu, predstavljaju ireverzibilna oštećenja. Njihov nastanak je u saglasnosti sa kliničkom slikom, odnosno pojmom fascikulacija i konvulzija.
6. Tumačenje i interpretacija ovih promena na membrani ima forenzični značaj kod ronilačkih incidenata.
7. Naredna istraživanja treba usmeriti ka humanim eritrocitima, kod osoba koje su izložene hiperbaričnom pritisku u cilju određivanja približnog vremenskog intervala reverzibilnih od ireverzibilnih oštećenja.



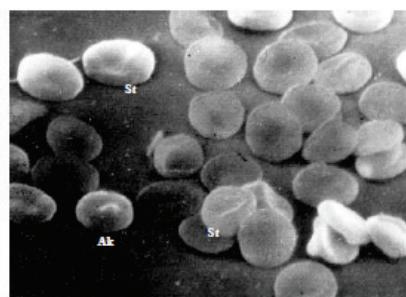
Slika 1. Eritrociti uzeti u 32. minuti posle izlaganja eksperimentalnih životinja uticaju hiperbaričnog kiseonika. (Uvećanje 2.500x)



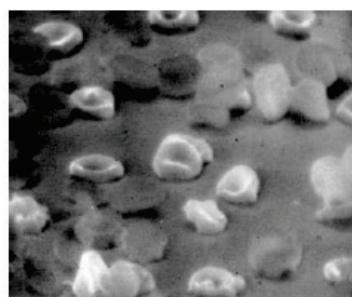
Slika 2. St - stomatociti (Uvećanje 1.500x)



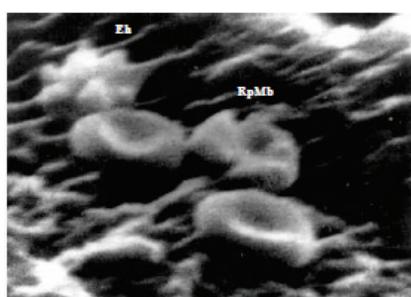
Slika 3. Akantociti - 36. minut
(Uvećanje 2.500)



Slika 4. Eksperimentalni uzorak - 36 minuta.
Ak - akantocit, St - stomatocit (Uvećanje 1.000x)



Slika 5. Eksperimentalna grupa 38. minut -
Izmenjeni eritrociti (Uvećanje 1.000x)



Slika 6. Eksperimentalni uzorak - 40. minut. Eh -
ehinocit, RpMb - ruptura membrane
(uvećanje 2.500x)



Slika 7. Eksperimentalni uzorak - 40.
minut.
Ruptura eritrocitne membrane - detalj
(uvećanje 10.000x)

Vreme u minut.	Er kontr. grupe bez prom.	VRSTE PROMENA ERITROCITA								Normalni eritrocit	
		Akantocit		Stomatocit		Ehinocit		Rupt. memb.			
		Kontr.	Ispit.	Kontr.	Ispit.	Kontr.	Ispit.	Kontr.	Ispit.		
32	100	0	0	0	0	0	0	0	0	100	
34	100	0	2	0	0	0	0	0	0	98	
36	100	0	15	0	30	0	0	0	0	55	
38	100	0	10	0	10	0	40	0	0	40	
40	100	0	0	0	0	0	60	0	30	10	

Pitanja za pismenu proveru znanja

- Sve ćelije u krvi su završile svoj razvoj onog momenta kada se nađu u krvotoku
 DA
 NE*
- Slezina je kod domaćih sisara aktivan organ hematopoeze tokom čitavog života
 DA
 NE*
- Nabroj četiri populacije ćelija hematopoeznog sistema
- Tri osnovne karakteristike primitivnih pluripotentnih matičnih ćelija hematopoeze su:
- Ukupna populacija matičnih ćelija hematopoeze i progenitora čini:
 a) manje od 5 % svih ćelija kostne srži*
 b) više od 10 % svih ćelika kostne srži
- Ćelije prekursore možemo razlikovati kojoj ćelijskoj lozi pripadaju, na osnovu morfoloških karakteristika
 DA*
 NE
- Osobine sazrevanja prekursora u zrele ćelije krvi je sledeće:
 a) povećava se veličina ćelija, smanjuje se odnos jedro/citoplazma. Jedarce nestaje a hromatin kondenzuje
 b) smanjuje se veličina ćelija, povećava se odnos jedro/citoplazma. Jedarce nestaje a hromatin kondenzuje
 c) smanjuje se veličina ćelija, smanjuje se odnos jedro/citoplazma. Jedarce nestaje a hromatin kondenzuje*

8. Zaokruži tačan odgovor:
- a) Krv je krajnje odredište za leukocite
 - b) Krv je krajnje odredište za trombocite i eritrocite
 - c) Krv je prolazna etapa za eritrocite na njihovom putu do tkiva gde ostvaruju funkciju
 - d) Krv je prolazna etapa za većim leukocita na njihovom putu do tkiva gde ostvaruju funkciju*
9. Regulacija brzine nastanka pojedinih zrelih ćelija krvi može se odvijati u svim etapama procesa hematopoeze
- DA*
 - NE
10. Nabroj akcesorne ćelije koštane srži:
11. Eritron obuhvata:
- a) Celokupnu ćelijsku populaciju od progenitora opredeljenih za eritrocitnu lozu, do zrelih cirkulišućih eritrocita*
 - b) Ćelijsku populaciju od progenitora opredeljenih za eritrocitnu lozu bez zrelih oblika eritrocita
 - c) Zrele oblike eritrocita
 - d) Samo eritroblaste
12. Broj receptora za eritropoetin i transferin na CFU-E progenitorima eritrocita je:
- a) Veći u odnosu na BFU-E*
 - b) Manji u odnosu na BFU-E
13. Stimulatori eritropoeze su:
- a) Faktor transformacije rasta β
 - b) Interleukin 3*
 - c) Inreleukin 9*
 - d) Trombocitni faktor 4
 - e) MIP1- α
14. Inhibitori eritropoeze su:
- f) Faktor transformacije rasta β^*
 - g) Interleukin 3
 - h) Inreleukin 9
 - i) Trombocitni faktor 4*
 - j) MIP1- α^*
15. U renalnoj insuficijenciji eritropoetin se povećano luči od strane:
- a) Slezine
 - b) Jetre*
 - c) Pankreasa
 - d) Nadbubrega
 - e) Ništa od navedenog

16. IL-1, TNF- α i TGB- β stimulišu stvaranje eritropoetina:

- DA
NE*

17. Koji citokin pozitivno stimuliše sintezu eritropoetina?

- a) IL-1
b) IL-6*
c) IL-10
d) IL-12

18. Retikulociti se nalaze:

- a) Samo u koštanoj srži
b) Samo u krvotoku
c) U koštanohoj srži i krvotoku

19. Procentualna zastupljenost retikulocita je:

- a) 0-2%
b) 2-5%*
c) preko 5%

20. Retikulocitoza je:

- a) Povoljan prognostički znak*
b) Nepovoljan prognostički znak

21. Ubrzana hemoliza i hipoksična stanja dovode do:

- a) Porasta broja retikulocita*
b) Smanjenja broja retikulocita
c) Ne menja se broj retikulocita

22. Kod konja se retikulociti ne mogu naći u krvotoku

- DA*
NE

23. Regenerativnu sposobnost koštane srži kod konja ćemo odrediti:

- a) Pretraživanje retikulocita u krvnom razmazu
b) Punkcijom koštane srži*
c) Pretraživanje retikulocita u ekskretima

24. Eritroblast prestaje da proliferiše kada koncentracija hemoglobina u njemu pređe:

- a) 10%
b) 30%
c) 50%
d) 80%*

25. Nakon prelaska koncentracije Hb iznad 80% u eritroblastu (acidofilnom), on prestaje da proliferiše, kroz kapilarne sinuse endotela kosne srži prelazi u krv, izbacuje jedro i tada nastaje:

- a) Retikulocit*

- b) Bazofilni eritroblast
- c) Polihromatofilni eritroblast
- d) Promijelocit

26. Retikulocitna kriza je:
- a) potpuni nedostatak, sniženje broja ili izrazito povišenje broja retikulocita u perifernoj krvi*
 - b) pojava funkcijski izmenjenih retikulocita u perifernoj krvi
 - c) udruženo sniženje retikulocita i eritrocita u perifernoj krvi
 - d) ništa od navedenog nije tačno
27. Medularna eritroidna hiperplazija uz neproporcionalno nizak broj retikulocita ukazuje da je:
- a) Efikasnost eritropoeze povećana
 - b) Efikasnost eritropoeze normalna
 - c) Efikasnost eritropoeze smanjena*
28. Anizocitoza je:
- a) Promena u veličini eritrocita*
 - b) Prati često nutritivne anemije*
 - c) Smatra se fiziološkom
 - d) Naziva se još i poikilocitoza
29. Povećan nalaz holesterola i fosfolipida u membrani eritrocita dovešće do nalaza:
- a) Kodocita*
 - b) Dakriocita
 - c) Akantocita*
 - d) Ehinocita u razmazu krvi
30. Poikilocitoza je promena u:
- a) Obliku eritrocita*
 - b) Veličini eritrocita
31. Mikrocitoza se javlja kod anemija koje nastaju usled deficit-a:
- a) Co
 - b) Fe*
32. Sferociti su eritrociti:
- a) u obliku suze
 - b) nepravilni fragmenti eritrocita
 - c) loptastog oblika*
33. Šistociti su:
- a) eritrociti u obliku suze
 - b) nepravilni fragmenti eritrocita*
 - c) eritroiti loptastog oblika
34. Drepanociti su eritrociti:

- a) Srpastog oblika*
- b) Oblika kupe sa udubljenjem
- c) Sa bodljama

35. Stomatociti su eritrociti:

- a) Srpastog oblika
- b) Oblika kupe sa udubljenjem-obrisi usne*
- c) Sa bodljama

36. Akantociti su eritrociti:

- a) Srpastog oblika
- b) Oblika kupe sa udubljenjem
- c) Sa bodljama*

37. Vrednost MCH u megaloblasnoj anemiji:

- a) je visoka*
- b) nije visoka

38. Vrednost MCHC u megaloblasnoj anemiji:

- a) je visoka
- b) nije visoka*

39. Ako je koncentracija hemoglobina ispod 80g/L anemiju ćemo okarakterisati kao:

- a) Laku
- b) Umerenu
- c) Tešku*

40. Klinička slika anemije podrazumeva:

41. U toku anemije u CNSu će doći do:

- a) Vazokonstrikcije
- b) Vazodilatacije*

42. Tokom anemije ubrzano disanje se javlja kao posledica: _____

43. Renin-angiotenzin-aldosteron sistem se aktivira kod posthemoragičnih anemija:

DA*
NE

44. U toku anemije afinitet hemoglobina prema kiseoniku se smanjuje zbog:

- a) Povećanja parcijalnog protoska CO₂*
- b) Smanjenja parcijalnog protoska CO₂
- c) Smanjenja pH*
- d) Povišenja pH

45. Hronični kompenzatorni mehanizmi u anemijama dovode do komplikacija na srcu i plućima u vidu (2): _____

46. Poveži slova i brojeve kako bi dobio pravilan kriterijum za podelu anemija:
1.hipohromne,2.regenerativne,3.normocitne,4.neregenerativne,5.makrocitne,
6.normohromne, 7.mikrocitne,

- a) anemije prema sadržaju hemoglobina u Er
- b) anemije prema veličini eritrocita
- c) anemije prema reakciji koštane srži

47. Virusi FeLV-a i FIV-a dovode do _____ anemije usled_____.

48. Koji lek izaziva supresiju koštane srži usled smanjene aktivnosti ferohelaze?

49. Aplastičnu anemiju karakteriše:

- a) smanjenje samo ćelija crvene loze
- b) morfološke promene eritrocita
- c) pancitopenija*
- d) retikulocitoza
- e) normohromija i normocitoza*
- f) hipohromija

50. U dugotrajnoj terapiji estrogenima kod kobila i kuja u krvnoj slici možemo naći:

- a) Trombocitopeniju i eritopeniju
- b) Leukopeniju i eritopeniju
- c) Samo leukopeniju
- d) Pancitopeniju*

51. Zaokruži faktore koji dovode do nastanka anemija koje prate bubrežnu insuficijenciju:

- a) Nedostatak eritropoetina
- b) Hroničan gubitak krvi zbor uremijskog gastroenteritisa
- c) Skraćenje veka eritrocita
- d) Inhibicija eritropoeze serumskim lipoproteinima čija konc.raste u uremičnom sindromu
- e) Sve od navedenog je tačno*

52. Anemija kod bubrežne insuficijencije je:

- a) Normohromna sa pojkilocitom*
- b) Hipohromna i megaloblasna
- c) Hiperhromna i mikrocitna
- d) Ništa od navedenog nije tačno

53. U megaloblasnoj anemiji mogu se često videti i promene na beloj lozi u vidu neutropenije sa hipersegmentacijom:

DA*

NE

54. Kod velikih šnaucera megaloblasna anemija ima sledeće karakteristike:

- a) Nasledno, autozomno recesivno oboljenje*
- b) Poremećaj u rastu u prvom mesecu života

- c) Anizocitoza i pojkilocitoza*
- d) Nastaje kada majka kuja ne unosi dovoljno kobalta u organizam u poslednjoj trećini graviditeta
- e) Nastaje kao posledica nedostatka receptora za kobalamin unutrašnji faktor u ileumu*

55. Kod megaloblasne anemije koja nastaje usled deficita vitamina B12 i folne kiseline osnovni patogenski mehanizma je:

- a) Poremećaj u sintezi DNK uz očuvanu sintezu RNK i hemoglobina*
- b) Poremećaj u sintezi RNK uz očuvanu sintezu DNK i hemoglobina

56. Poređaj životinjske vrste po osetljivosti na trovanje olovom:
svinje, konji, goveda, ovce, koze, psi

57. Anemija usled trovanja olovom po svojim karakteristikama je:

- a) Hiperhromna
- b) Hipohromna*
- c) Makrocitna
- d) Mikrocitna*
- e) Sa dosta retikulocita
- f) Uvek se primećuju eritrociti sa bazofilnim pegama*
- g) Prisutni su plombemija i plomburija*

58. Oovo deluje negativno na eritropoezu na dva načina i to: _____.

59. Sideropenijske anemije su po svom karakteru:

- a) Hiperhromne
- b) Hipohromne*
- c) Makrocitne
- d) Mikrocitne*

60. Upečatljiv nalaz u koštanoj srži kod sideropenijskih anemija jeste:

_____.

61. Na razmazu periferne krvi u sideropenijskoj anemiji u populaciji eritrocita nalaze se:

- a) poikilociti,*
- b) makrociti,
- c) shizociti,
- d) anulociti,*
- e) mikrociti.*

62. Diferencijalna dijagnoza između anemije usled nedostatka bakra i gvožđa koje se javlja kod svinja, a po tipu su gotovo identične vrši se na osnovu:

_____.

63. Anemije koje prate hronične i maligne bolesti u patogenskoj osnovi imaju poremećaj homeostaze gvožđa kao posledica porasta koncentracije:

_____.

64. Ekstravaskularna hemolizna anemija najčešće je posledica oštećenja plazmine membrane eritrocita.

DA*

NE

65. Bolest ružičastih zuba holštajn goveda ima sledeće karakteristike:

- a) Nastaje kao posledica nedostatka uroporfirinogena III kosintetaze*
- b) Nije nasledna bolest
- c) Dolazi do akumulacije beskorisnog uroporfirinogena*
- d) Ne razvija se hemolizna anemija
- e) Proces zahvata sve telesne ćelije organizma*
- f) Životni vek eritrocita je skraćen na oko 30 dana*
- g) Nema retikulocitoze
- h) Po izgonu pašu razviju se znakovi dermatitisa*

66. Hovel-Džolijeva telašca su: _____.

67. Izoimunska hemolizna anemija je:

- a) Gotovo uvek akutna*
- b) Uvek hronična
- c) Akutna ili hronična

68. Primer izoimunske hemolitičke anemije je: _____.

69. Autoimunske hemolitičke anemije nastaju kao posledica delovanja autoantitela iz klase:

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

70. Anemije konja koje se javljaju posle trke nastaju usled:

_____.

71. Bacilarnu hemoglobinuriju izaziva:

- a) Clostridium novy tip D*
- b) Lentivirus
- c) Bacillus antracis
- d) Anaplasma marginale

72. Hainzova telašca su:

- a) Agregati oksidativno denaturisanog hemoglobina*
- b) Agregati denaturisane DNK
- c) Agregati denaturisane RNK

73. U cilju procene akutne posthemoragijske anemije krv se mora uzeti u okviru nekoliko sati od nastanka krvarenja

DA

NE*

74. Stresna policitemija ovaca i konja je:

- a) Apsolutna
- b) Relativna*

75. Osobine policitemije su:

- a) Povećanje PCV iznad 70% ukazuje na absolutnu policitemiju*
- b) Smanjuje se viskoznost krvi
- c) Smanjuje se koncentracija oksihemoglobina*
- d) Nikada se ne javlja cijanoza
- e) Povećava se otpor krvi kroz pluća i dilatirana je desna komora*

76. Patogenska osnova kod policitemije rubre vere zasniva se na postojanju dva klena eritropoetskih progenitora. Neoplastični klon:

- a) Ne podleže mehanizmu povratne sprege sa eritropoetinom*
- b) Podleže negativnoj povratnoj sprezi sa eritropoetinom

77. Kod polycythemiae rubrae verae raste samo broj eritrocita:

DA

NE*

78. Sekundarnu policitemiju može da izazove:

- a) Emfizem pluća
- b) Fibroza pluća
- c) Neke kardiopatije
- d) Izgon na visinske pašnjake
- e) Sve od navedenog je tačno*

79. Policitemija koja nastaje kada tumori stvorenici u organizmu imaju sposobnost da autonomno luče eritropoetin naziva se: _____.

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Eritropoeza i promena oblika eritrocita
2. Patofiziološki značaj retikulocita
3. Definicija i kompenzatori mehanizmi anemije
4. Klasifikacija anemija
5. Anemije usled smanjenog stvaranja eritrocita
6. Anemija usled deficita vitamina B12
7. Anemija kod trovanja olovom
8. Anemije usled smanjene sinteze hemoglobina

9. Sideropenijske anemije
10. Hemolitičke anemije
11. Posthemoragične anemije
12. Policitemije
13. Patofiziološka dijagnostika i interpretacija poremećaja crvene krvne loze

PATOFIZIOLOGIJA POREMEĆAJA BELE KRVNE LOZE

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

U toku hematološkog pregleda mogu se utvrditi broj elemenata bele loze, njihov međusobni odnos (diferencijalna bela loza) i diferenciranost ćelija. Brojanje ćelija se vrši automatski u analajzeru ili u nedostatku analajzera brojanje u Neubaureovoj komorici. Koristi se Turkov rastvor i melanžer za leukocite (sa belom perlicom). Postupak: U melanžer za leukocite do oznake 1 se uvuče kap krvi, nakon čega se obriše vrh melanžera i uvuče Turkov rastvor do nivoa 11. Na ovaj način se dobija razblaženje 1:10. Potrebno je lagano mučkati melanžer nekoliko minuta. Zatim, na komoricu staviti pokrovno staklo, tako da bude dobro fiksirano (vide se Newtonovi obojeni koturovi). Nakon toga se broje leukociti pod mikroskopom. Broj leukocita se određuje prema formuli:

$$\text{Br.leu./}\mu\text{L} = \text{N}/4 \times 10 \times 10^9$$

N/4 broj leukocita u jednom perifernom kvadratiču komorice,

10 – razređenje,

10 – broj leukocita u milimetru kubnom,

10^9 – broj leukocita u litru.

Moguće je naći povećan broj, smanjen broj i normalan broj leukocita.

Povećan ukupan broj leukocita (leukocitoza) nastaje usled: inflamacije, nekroze tkiva, delovanja kortikosteroida i epinefrina, akutne limfoblasne leukemije, hronične limfocitne leukemije, akutne ili hronične mijeloidne leukemije, limfoma, deficijencije adhezionih molekula leukocita. Smanjenje ukupnog broja leukocita (leukopenija) se javlja prilikom: jake infekcije, endotoksičnih stanja, aplastične anemije, aleukemičnih akutnih leukemija, infektivnih bolesti (FELV, FIV, štenečak, rikecijalne infekcije), mijelodisplastični sindrom i dr.

Pored ukupnog broja leukocita značajno je odrediti i diferencijalnu krvnu sliku sa brojem bazofila, neutrofila, eozinofila, monocita i limfocita. Oni je mogu odrediti pomoću hematološkog brojača.

Povećan broj bazofila (bazofilija) ukazuje na hipersenzitivne reakcije, tumor mast ćelija, parazitizam, bazofilnu leukemiju i mijeloproliferativne bolesti. Bazopenija se vrlo teško dijagnostikuje, jer vrednost od nula bazofila kod većine životinjskih vrsta i ljudi ulazi u referentne vrednosti.

Eozinofilija se javlja u hipersenzitivnim reakcijama, parazitozama, limfomima, hipoadrenokorticizmu, eozinofilnoj leukemiji i dr. Eozinopenija je teška za dijagnostiku, jer nula ulazi u referentnu vrednost, ali hronična eozinopenija ukazuje na insuficijenciju koštane srži.

Limfocitoza ukazuje na hroničnu antigensku stimulaciju, nelimfoidne neoplazme, imunski posredovane bolesti, limfocitne i limfoblasne leukemije. Lmfopenija nastaje kao posledica delovanja glukokortikoida, virusnih infekcija, imunosupresije, kod enteropatija sa gubitkom proteina, imunodeficientnih stanja i sl.

Monocitoza prati septikemična stanja, hemolize, odgovor na glukokortikoide, nehematopoezne neoplazme i oštećenje kostne srži, dok se monocitopenija teško dijagnostikuje.

Neutrofilija se javlja kod inflamacija, kao odgovor na glukokortikoide i epinefrin, zatim kod hronične mijeloidne leukemije i deficijencije adhezionih molekula leukocita. Neutropenija se

dešava kod endotoksemija, aplastične anemije, aleukemičnim leukemija, virusnih infekcija, imunoposredovanih bolesti i dr.

Pored određivanja broja leukocita i diferencijalne krvne slike značajno je odrediti i njihovu starost. Ona se određuje na osnovu prisustva blasta i stepena segmentiranosti njihovog jedra. Ako se u perifernoj krvi javljaju mlađi oblici razvoja granulocitne loze, sa velikim brojem štapastih granulocita i metamijelocita, onda se takva pojava zove skretanje u levo. Skretanje u levo uz leukocitozu govori u prilog aktivnoj produkciji ćelija bele loze, ali je skretanje u levo uz leukopeniju prognostički vrlo loš znak kod mnogih bolesti.

Leukemije su maligne bolesti krvi kod kojih postoji progresivno razmnožavanje ćelija jedne od leukocitnih loza, koje je često praćeno povećanjem leukocita u perifernoj krvi, kao i povećanjem leukocitne mase u organizmu. Kod leukemijske proliferacije se zapaža izraziti poremećaj u differentovanju i sazrevanju belih krvnih ćelija. Ovaj proces je izraženiji što je leukemija akutnija.

Leukemična stanja se odlikuju anemijom, sklonosti ka krvarenju i infekcijama zbog promene u odnosu populacija ćelija u koštanoj srži. Klinički se često leukemije otkriju posle kliničke slike dugotrajne apatije životinje, kada se ultrazvučnim pregledom otkrije tumorska masa u parenhimatoznim organima. Na tabeli 5 prikazani su klinički stadijumi u hroničnoj limfocitnoj leukemiji koja ukazuje na kliničke osobine i rizične grupu pacijenta

Tabela 5: Klinički stadijumi u hroničnoj limfocitnoj leukemiji.

Klinički stadijumi bolesti u Hroničnoj limfocitnoj leukemiji (po Rai-u)		
Stadijum	Kliničke osobine	Rizična grupa
0	Limfocitoza u perifernoj krvi i kostnoj srži	Niska
I	Limfocitoza sa uvećanjem limfnih žlezda	Srednja
II	Limfocitoza sa uvećanjem jetre i/ili slezine	Srednja
III	Limfocitoza sa anemijom Hb ispod 100g/l	Visoka
IV	Limfocitoza sa trombocitopenijom	Visoka

Konačna dijagnoza tipa leukemije postavlja se na osnovu patomorfološkog pregleda tumorske mase (ako postoji), citohemiskih metoda (bojene reakcije: mijeloperoksida, sudan crno B, nespecifične esteraze), imunofenotipskih ispitivanja ćelija leukocitne loze (određivanje CD subpopulacija i drugih leukocitnih antiga) i citogenskih ispitivanja (ispitivanje hromozoma). Danas se razvijaju metode za upotrebu monoklonskih antitela za antigene različitih receptora na leukemičnim ćelijama što proširuje dijagnostičke mogućnosti.

Pregled odabranih testova

ODREĐIVANJE FAGOCITNE AKTIVNOSTI NEUTROFILA NUTRO-BLU TETRAZOLIUM TESTOM (NBT) – Neutrofili su uključeni u fagocitnu aktivnost elemenata bele loze. Oni aktiviraju enzime koji su in vitro sposobni da redukuju nitro-blu tetrazolium u tamno-plave kristale formazana. Monociti su normalno pozitivni na redukciju NBT. Normalne neutrofilne ćelije koje su negativne na NBT redukciju, posle aktivacije endotoksinom daju pozitivnu reakciju. Negativna reakcija bez i sa stimulacijom endotoksinom ukazuje na deficijentno stanje.

Materijal za izvođenje metode: nitro-blu tetrazolium hlorid 100 mg, E.coli endotoxin O.55:B5 100 mg, 0,15 M fosfatni pufer pH 7,2 i vodeno kupatilo na 37°C.

Način izvođenja metode: 1) Uzme se krv u vakutajner sa heparinom ili u epruvetu uz dodatak 75-100 jedinica heparina na ml krvi. EDTA se ne sme koristiti kao antikoagulans jer interferira sa ovim testom. 2) Promeša se 0,1 ml heparizovane krvi sa 0,1 ml NBT rastvora. 3) Inkubira se 15 minuta na 37°C u vodenom kupatilu i potom zaklopiti tube. 4) Ostaviti epruvete na sobnoj temperaturi tokom 10 minuta. 5) Napravi se razmaz krvi i oboji ga po Wright-u. 6) Posmatra se pod mikroskopom razmaz i traže se tamni depoziti samo u neutrofilima. Izbroji se 100 neutrofila i izračuna % neutrofila sa pozitivnom reakcijom (5-10% se tumači kao negativna reakcija, dok 30% i više neutrofila sa prisutnim depozitima daje pozitivan rezultat). 7) Ako je rezultat negativan inkubira se 0,05 ml endotoksina sa 0,5 ml heparizovane krvi i inkubira se na sobnoj temperaturi tokom 15 minuta. 8) Ponove se svi koraci od 1-6. Tumačenje nalaza je identično.

TEST AKTIVACIJE LIMFOCITA MITOGENIMA – Normalni limfociti mogu biti stimulisani mitogenima, kao što je fitohemaglutinin (PHA). Transformisane blastne ćelije, koje tako nastaju, mogu se vizuelizovati i kvantifikovati bojenjem po Wright-u, kao i akridin-oranž bojom, čije je florohromsko bojenje citohemijski specifično za RNA-DNA.

Materijal za izvođenje metode – laboratorijska oprema: sterilna heparinska tuba, oprema za iskorišćavanje buffy coat sloja ćelija i suspenzija plazme aspiracijom, 5 ml sterilnih tuba, police za sedimentaciju, inkubator 37°C, predmetno i pokrovno staklo za mikroskop i fluorescentni mikroskop.

Materijal za izvođenje metode – reagensi: heparin sa benzil alkoholom (ne fenol), hromozomski medijum sa i bez PHA 2-4 ml u 4-5 sterilnih tuba, reagensi za regularno Wrightovo bojenje, akridin-oranž, 2% sirčetne kiseline u izotoničnom rastvoru, izotonični fiziološki rastvor, 2% etanol u izotoničnom rastvoru.

Način izvođenja metode: 1) sakupi se venska krv u sterilnu heparinsku tubu, 2) potom se vrlo lagano vrši sedimentacija i sloj leukocita se uzima aspiracijom, 3) 0,1 ili 0,2 ml buffy coat ćelija i suspenzija plazme sa PHA dodaju se u svaku od 4 sterilne tube, a bez PHA u dve sterilne tube, 4) inkubiraju se tube na 37°C, 5) posle 5 dana se sklone 2 tube sa PHA i 1 tubu bez PHA, 6) odvoji se medijum od ćelija aspiracijom i naprave dva razmaza od ćelija iz svake tube, 7) izvrši se bojenje po Wright-u i bojenje sa akridin-oranž bojom, 8) Koraci 5, 6 i 7 se ponove sa preostalim epruvetama posle 7 dana inkubacije.

Blastne ćelije se prepoznaju kao velike ćelije sa visokim odnosom nekleus:citoplazma i vidljivim nukleolusima. Minimalno 1010 limfocita mora se izbrojati u jednom razmazu. Akridin-oranž bojenje daje zelenkastu (DNA) odnosno crvenu (RNA, nukleolus) fluorescenciju. Ostale ćelije pokazuju prebojenja u zavisnosti od toga koliko im je citoplazma bogata sa RNA. Tako na primer neutrofili ne pokazuju najminimalnije prebojenje, dok monociti pokazuju crvenobraon prebojenje.

Rezultat se procenjuje pomoću izračunavanja odnosa transformisanih limfocita prema ukupnom broju limfocita i pomnoži sa 100, da bi se dobio rezultat u %. Smatra se da je transformacija na nivou oko 50% i više normalna.

TRIPAN-BLU (TRIPAN-PLAVO) METODA ZA ODREĐIVANJE VIJABILNOSTI LEUKOCITA – Tripan-blu predstavlja boju za DNA, koja se koristi za razlikovanje vijabilnih od mrtvih ćelija, a pomaže i u vizualizaciji ćelijske strukture. Vijabilne ćelije imaju očivan integritet membrane i ne dozvoljavaju da boja prodre, dok nekrotične ćelije koje gube integritet membrane dozvoljavaju bojenje DNA unutar ćelije, pa one postaju plave.

Način izvođenja metode: Pripremi se hemocitometar (grid), 500 μ l suspenzije ćelija meša se sa 500 μ l rastvora tripan-blu. Potom se uzima 50 μ l dobijenog obojenog rastvora i lagano se, uz ivicu pokrovnice, pipetira u komore hemocitometra i sačeka da se tečnost rasporedi, po zakonu kapilarnosti. Brojanje se vrši u centralnom kvadratu i to brojanjem u 4 periferna i jednom centralnom malom kvadraticu sa 4x4 polja (0,04 mm). Izvrši se brojanje ćelija i odrediti njihov odnos. Konačan broj ćelija u mililitru se određuje po sledećoj formuli:

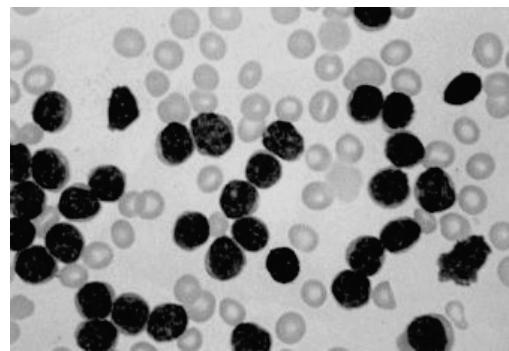
$$\text{ćel./ml} = \text{broj ćelija} \times 5 \times \text{razblaženje} \times 10000.$$

Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Navedite osnovne znake leukemije?

Zadatak 2: Navedite osnovne metode koje se primenjuju u dijagnostici leukemia?

Zadatak 3: Navedite indikacije koje karakterišu raznaz krvi koji je predstavljen.



Zadatak 4: Poznato je da postoje 5 kliničkih stadijuma leukemija koji se po težini gradiraju od 1-5 po težini. Opisite kliničke znake koji su karakteristični za svaki stadijum ponaosob.

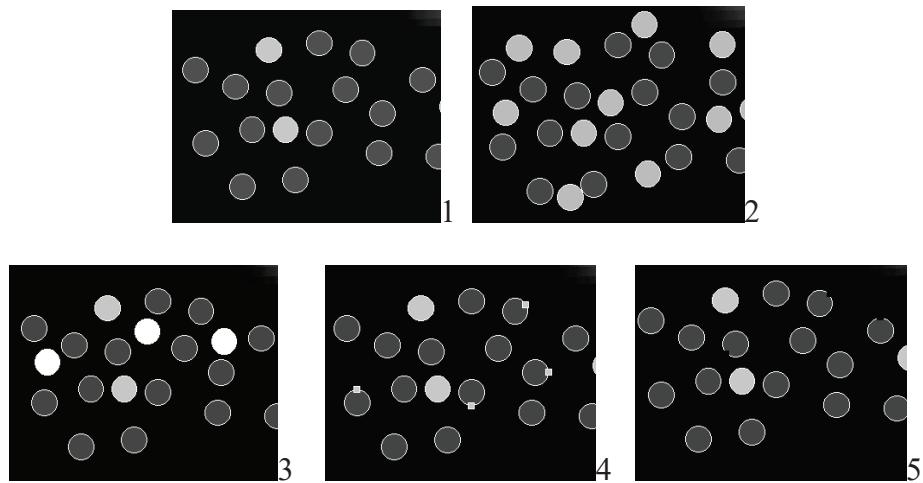
- 1-
- 2-
- 3-
- 4-
- 5-

Zadatak 5: Navedite podelu akutnih i hroničnih leukemija.

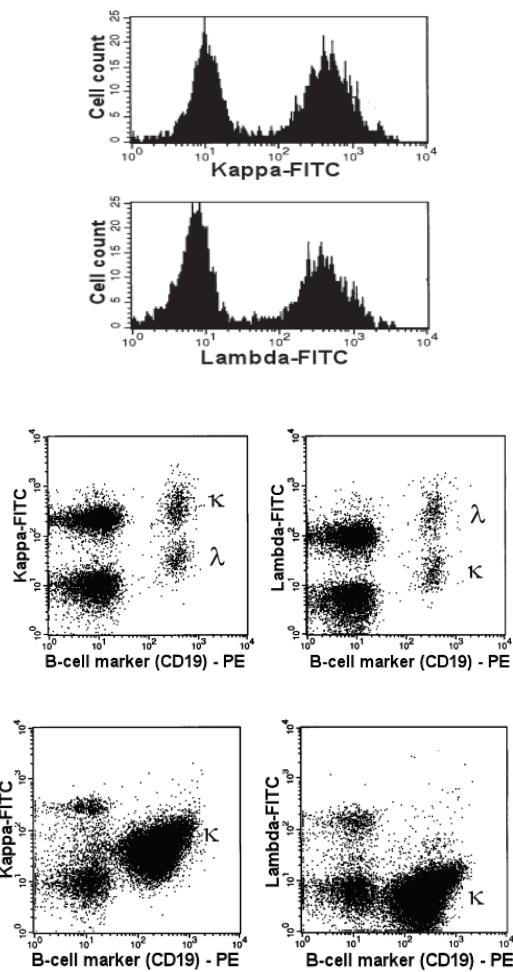
Zadatak 6: Navedite razliku između akutne i hronične leukemije navodeći tip ćelija u razmazu, kliničku sliku i težinu kliničke slike.

Zadatak 7: Navedite metode koje se koriste za donošenje konačne dijagnoze leukemije.

Zadatak 8: Protočna citometrija je precizna metoda kojom se utvrđuju i najmanje promene na ćelijama bele loze u leukemijama. Objasnite osnovne promene koje se uočavaju primenom ove metode u populaciji ćelija a značajni su za procenu citograma.



Zadatak 9: Na fotografijama su prikazani dijagrami na kojima su prikazane promene na B ćelijama. Objasni promene koje se zapažaju prilikom analize B-ćelija



Zadatak 10: Algoritam u dijagnostici poremećaja bele krvne loze

Zadatak 11: Klinički stadijumi bolesti u Hroničnoj limfocitnoj leukemiji (po Rai-u)

Zadatak 12: Šta je mijelodisplastični sindrom?

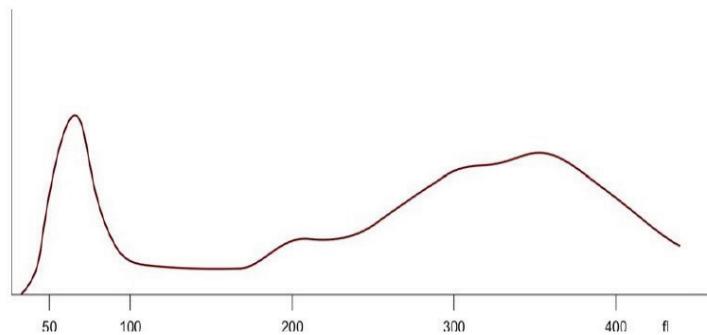
Zadatak 13: Nacrtaj neutrofil kod psa sa štenećakom

Zadatak 14: Šta znači skretanje u levo, a šta u desno?

Zadatak 15: Šematski predstavi leukocite u krvnom razmazu kod najčešćih tipova leukemije

Zadatak 16: Objasni kako se menja broj leukocita u krvi i u koštanoj srži kod različitih vrsta anemija

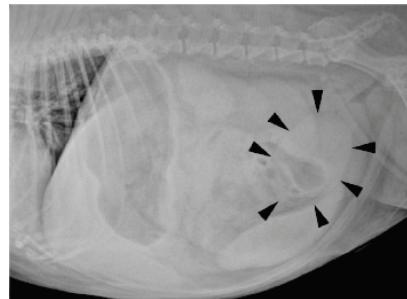
Zadatak 17: Na slici je predstavljena normalan histogram leukocita kod analize na automatskom hematološkom analizatoru. Nacrtajte histogram kod neutrofilije i limfocitoze.



Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj 1:

Dijagnoza: Maligni limfom



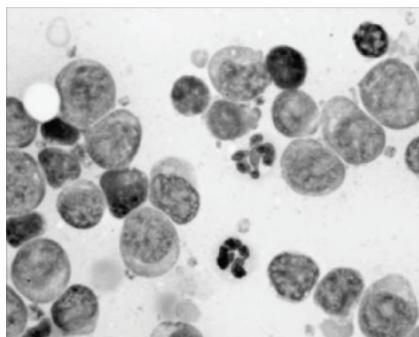
RTG nalaz prikazuje amorfnu masu mekog tkiva ispod levog bubrega

Hematology

RBC	5.81	M/ μ L	(5.50 - 8.50)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HCT	42.6	%	(37.0 - 55.0)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HGB	14.9	g/dL	(12.0 - 18.0)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MCV	73.3	fL	(60 - 77)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MCH	25.64	pg	(18.5 - 30.0)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MCHC	35.0	g/dL	(30.0 - 37.5)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
WBC	27.51	K/ μ L	HIGH (5.50 - 16.90)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Neutrophil	7.98	K/ μ L	(2.00 - 12.00)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lymphocyte	11.34	K/ μ L	HIGH (0.50 - 4.90)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Monocyte	6.38	K/ μ L	HIGH (0.30 - 2.00)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Eosinophil	1.79	K/ μ L	HIGH (0.10 - 1.49)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Platelets	237	K/ μ L	(175 - 500)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Chemistry

Glucose	98	mg/dL	(74	-	143)				
BUN	4	mg/dL	LOW	(7	-	27)			
Creatinine	0.6	mg/dL		(0.5	-	1.8)			
Phosphorus	5.2	mg/dL		(2.5	-	6.8)			
Calcium	10.2	mg/dL		(7.9	-	12.0)			
Sodium	154	mmol/L		(144	-	160)			
Potassium	5.2	mmol/L		(3.5	-	5.8)			
Chloride	116	mmol/L		(109	-	122)			
Total Protein	5.7	g/dL		(5.2	-	8.2)			
Albumin	2.7	g/dL		(2.3	-	4.0)			
Globulin	3.0	g/dL		(2.5	-	4.5)			
ALT	59	U/L		(10	-	100)			
ALKP	1147	U/L	HIGH	(23	-	212)			
Total Bilirubin	0.2	mg/dL		(0.0	-	0.9)			
Cholesterol	193	mg/dL		(110	-	320)			



Aspirat limfnog čvora sa velikim malignim célijama limfoma

Tumačenje:

Slučaj 2:

Dijagnoza: Akutna leukemija

	Patient	Reference Range		Patient	Reference Range
PCV %	11	(37 - 55)	WBC/uL	5,800	(6,000 - 17,000)
Hgb g/dl	3.8	(12 - 15)	Neutrophils	812	(3,000 - 11,400)
RBC $\times 10^6$ /uL	1.7	(5.5 - 8.5)	Band cells	-	(0 - 300)
MCV fl	64	(60 - 77)	Lymphocytes	3,248	1,000 - 4,800)
MCH pg	24	(19 - 24)	Monocytes	232	(150 - 1,350)
MCHC g/dl	35	(32 - 36)	Eosinophils	-	(100 - 750)
			Blasts	1,508	
TPP g/dl	7.2	(6.0 - 7.5)			
Plasma color	Normal				
Reticulocytes %	0.5	(<1.0)			
Absolute Retic/uL	8,500	(<80,000)			
Platelets/uL	19,000	(>200,000)			

Tumačenje:

Slučaj 3:

Odnos neutrofili: limfociti kao pokazatelj zdravlja i produktivnosti krava

Analiza leukograma kod goveda omogućuje procenu zdravlja, stresne opterećenosti, monitoring infekcija i slično. Odnos neutrofila i limfocita (N:L odnos) je značajan pokazatelj zdravlja i stresne opterećenosti životinja (Davis i sar., 2008). Fiziološki je ovaj odnos kod odraslih goveda ~ 0,5:1. U periodu oko teljenja kod krava postoji tipičan stresni leukogram, koji se odlikuje neutrofiljom, limfopenijom, eozinopenijom i varijabilnom monocitozom. Akutni stres i hiperkortizolemija dovode do porasta koncentracije neutrofila povlačenjem ovih ćelija u centralni pul krvotoka, dok limfociti migriraju ka periferiji, tako da dolazi do porasta odnosa neutrofila i limfocita (N:L odnos često preko 1) (Tornquist i Rigas, 2010). Posle adaptacije na stresne uslove N:L odnos se vraća na fiziološki nivo u periodu 2-7 dana (Lynch i sar., 2010).

Bertoni i sar. (2003) su našli smanjen odnos neutrofila i limfocita na farmama sa dobrom negom i dobrim medicinskim tretmanom krava. Novija istraživanja pokazuju da N/L odnos može biti veći od 1 kod potpuno zdravih krava (George te al, 2010), pa se upotreba ovog indikatora mora vršiti uz sagledavanje kompletног zdravlja i metabolizma krava.

Predpostavili smo da krave pod prolongiranim stresom posle teljenja (7-15 dana) imaju značajno višu vrednost N:L odnosa. Cilj ovog istraživanja je da se utvrdi granična vrednost i klinički značaj N:L odnosa u proceni isključenja krava iz proizvodnje u laktaciji koja sledi.

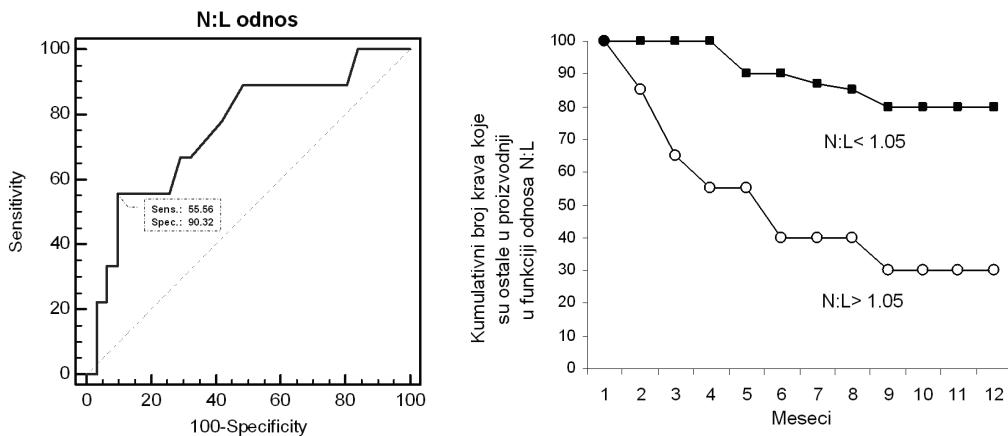
Optimalna granična vrednost N:L odnosa, dobijena iz uzorka krvi uzete 7-15 dana posle partusa, koja ukazuje da će krave biti isključene iz proizvodnje je 1,05. 72% krava čija je vrednost N:L $>1,05$ je bilo isključeno iz proizvodnje tokom 12 meseci. Odnos neutrofila i limfocita u ranoj laktaciji je koristan indikator za procenu rizika od isključenja krava iz proizvodnje. Ovim se potvrđuje da je N:L odnos značajan u proceni zdravlja i stresne opterećenosti krava.

Tabela 1: Granične vrednosti N:L odnosa i njihova specifičnost i senzitivnost u proceni isključenja krava iz proizvodnje

Criterion	Sensitivity	Specificity
$>0,6$	100,00	16,13
$>1,05^*$	55,56	90,32
$>1,1$	33,33	90,32
$>1,15$	0,00	100,00

Tabela 2: Statistička značajnost upotrebe N:L odnosa kao indikatora u proceni isključenja krava iz proizvodnje

Area under the ROC curve (AUC)	0,751
Standard Error ^a	0,0985
95% Confidence interval	0,589 to 0,874
Z statistic	2,547
Significance level P (Area=0.5)	0,0109



Grafik 1: ROC kriva za graničnu vrednost sa optimalnim odnosom specifičnosti i senzitivnosti

Grafik 2: Kaplan-Majerova kriva preživljavanja

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Limfatičnu krvnu sliku (dominacija limfocita) imaju

- a) Preživari*
- b) Konji
- c) Mačke
- d) Psi
- e) Živina*

2. Krvnu sliku sa dominantnim neutrofilnim granulocitima imaju

- a) Preživari
- b) Konji *
- c) Mačke*
- d) Psi *
- e) Živina

3. Kod prasadi u krvnoj slici dominiraju neutrofilni granulociti, dok odrasle svinje imaju limfatičnu krvnu sliku.

DA*

NE

4. Morfološki prepoznatljivi progenitori ćelija bele krvne loze obrazuju morfološki prepoznatljive prekursore koji se dele u tri funkcionalna odeljka i to:

- a) mitotski, postmitotski i rezervni *
- b) neutrofilni, bezofilni, eozinofilni
- c) limfocitne i monocitni
- d) ništa od navedenog nije tačno

5. U proliferativne-mitotske, prepoznatljive ćelije koštane srži spadaju:

- a) mijeloblasti, promijelociti, mijelociti*
- b) sve ćelije od mijeloblasta do granulocita
- c) granulociti deponovani u kostnoj srži, koji su spremni da izađu u cirkulaciju

6. Neutrofilni granulociti poseduju _____ vrste granula i to su:

_____.

7. Kretanje neutrofila od krvotoka ka tkivu je jednosmerno osima ako se radi o
_____ vrsti neutrofila koji recirkulišu.

8. Kada se neutrofili nađu u cirkulaciji oni se mogu rasporediti u dva odeljka i to su: _____
_____.

9. Neutrofili učestvuju u procesu hemostaze jer mogu da sintetišu tromboksan A i aktivisu plazminogen

DA*

NE

10. Glavna funkcija neutrofila je:

- a) Fagocitoza
- b) Ubijanje mikroorganizama
- c) Ubijanje tumorskih ćelija
- d) Mogu izazvati oštećenje tkiva
- e) Sve od navedenog je tačno*

11. Neutrofilija je povećanje broja neutrofila preko:

Vrsta	$\times 10^9/L$
Konj	
Veliki preživari	
Svinje	
Ovce	
Koze	
Psi	
Mačke	

12. U toku kratkotrajnog stresa i lučenja adrenalina broj neutrofila u krvi se povećava zbog:

- a) Povećanja njihovog stvaranja u kostnoj srži
- b) Povećane recirkulacije iz tkiva
- c) Povećane demarginacije*

13. Adrenalin u kratkotrajnem stresu dovodi do:

- a) Neutrofilije sa limfopenijom i eozinopenijom
- b) Neutrofilije sa limfocitom i monocitom bez promene u broju eozinofila
- c) Neutrofilije sa limfocitom, monocitom i eozinopenijom*

14. Kortizol u stresu dovodi do:

- a) Neutrofilije sa limfopenijom i eozinopenijom*
- b) Neutrofilije sa limfocitom i monocitom bez promene u broju eozinofila
- c) Neutrofilije sa limfocitom, monocitom i eozinopenijom

15. Stres-neutrofilija usled delovanja glukokortikoida nastaje zbog:

- a) Povećanja odavanja neutrofila iz kostne srži*
- b) Povećane recirkulacije iz tkiva
- c) Povećane demarginacije*
- d) Smanjenog odavanja neutrofila iz krvotoka*

16. Promene u broju neutrofilsih granulocita kod goveda mogu se ustanoviti tek posle nekoliko uzastopnih pregleda krvne slike, zbog malog broja prekursora i slabe reaktivnosti ove loze na stimuluse.

DA*

NE

17. Da bi kod goveda odredili promenu broja neutrofila u infekciji neophodno je:

- a) Više puta uzeti krv*

- b) Uzeti krv u akutnoj fazi, što pre
 - c) Uzeti krv po preboljenju
18. Kod svinja u toku teških upalnih procesa možemo primetiti:
- a) Neutrofilna reakcija sa skretanjem u levo i povećanjem apsolutnog broja broja limfocita i eozinofila
 - b) Neutrofilna reakcija sa skretanjem u levo i smanjenjem apsolutnog broja broja limfocita i eozinofila*
19. Leukemoidna reakcija neutrofila može se javiti tokom:
- a) Tuberkuloze*
 - b) Anaplasmoze
 - c) Infekcije sa FIV-om
 - d) Mikoplazmatskih infekcija
20. Neutrofili su najznačajniji u razvoju anafilaktičke reakcije
- DA
- NE*
21. Kod hroničnih infekcija u goveda se promeni odnos neutrofili:limfociti na račun:
- a) Povećanja broja limfocita
 - b) Smanjenja broja limfocita *
22. Kod tuberkuloze možemo očekivati monocitozu:
- DA*
- NE
23. Da li monocitoza u toku tuberkuloze ocrtava težinu infekcije?
- DA
- NE*
24. Bolesti koje dovode do splenomegalije dovešće i do:
- a) Neutrofilije sa monocitom
 - b) Neutrofilije sa sa trombocitopenijom i eritopenijom
 - c) Neutropenijsa sa monocitom
 - d) Neutropenijsa sa trombocitopenijom i eritopenijom*
25. Nutropenija u toku bakterijskih infekcija najčešće je posledica:
- a) Uništavanja pluripotentnih ćelija
 - b) Uništavanja membrane neutrofila
 - c) Povećane adhezije neutrofila na oštećeni deo krvnih sudova u zapaljenoj zoni*
 - d) Ništa od navedenog
26. Poremećaji funkcije neutrofila mogu nastati usled:
- a) Nedostatka opsonina u cirkulaciji
 - b) Promenjene baktericidne aktivnosti
 - c) Oslabljen hemotaktički odgovor

d) Sve od navedenog je tačno*

27. Čedijak-Higaši sindrom ima sledeće karakteristike:

- a) Nije nasledno oboljenje
- b) Obrazuju se gigantske granule u svim krvnim ćelijama koje sadrže jedro*
- c) Ljudi ne obolevaju
- d) Membrane svih ćelija su tečnije no kod zdravih ćelija*
- e) Fagocitoza bakterija je efikasnija
- f) Smanjena je sposobnost adherencije polimorfonukleara*
- g) Javlja se neutropenija zbog poremećaja u kostnoj srži*

28. Deficit leukocitnih adhezivnih molekula je nasledno oboljenje irskih setera i Holštajn goveda koje se odlikuje nemogućnošću izlaska neutrofila van cirkulacije i pojavom recidivirajućih infekcija.

DA*

NE

29. Na jedan eozinofil u cirkulaciji dolazi:

- a) 1-5 tkivnih
- b) 10-50 tkivnih
- c) 100-500 tkivnih*

30. U alergijskim reakcijama i tokom tkivne migracije parazita možemo očekivati:

- a) Eozinofiliju*
- b) Eozinopeniju

31. U cilju ispitivanja težine infestacije trihinelom kod svinje, eozinofile ćemo pretraživati u krvnom razmazu:

- a) 2-3 dana po infekciji
- b) do 7. dana posle infekcije
- c) 2-3 nedelje po infekciji i potom*

32. Eozinofilija u krvi goveda je konstantna kod alergija i parazitskih infestacija i stoga vrlo pouzdana za procenu težine stanja.

DA NE*

33. Šta je hipereozinofilni sindrom?

34. Bazofili i mastociti imaju značajnu ulogu u reakcijama rane preosetljivosti kada oslobođaju medijatore _____ (*mehanizam oslobođanja*), a ona ima/nema (zaokruži tačno) citolitički karakter.

35. Prolazna bazofilija uz porast koncentracije IgE može ukazati na:

- a) Anafilaktičku reakciju*
- b) Artusovu reakciju
- c) Reakciju preosetljivosti tipa IV

36. Kod hipertireoidizma možemo očekivati:

- a) Bazifiliju
- b) Bazopeniju*

37. Mastocitna leukoza se dijagnostikuje kada je u krvi broj atipičnih mastocita sa metahromatskim bazofilnim granulama:

- a) 1-5%
- b) 5-9%
- c) preko 10%*

38. Šta su sinovijalne A ćelije?

39. Šta su mikroglija ćelije?

40. Ćelije monocitno-makrofagnog sistema mogu da razlože partikule:

- a) U širokom rasponu pH*
- b) U strogo baznim uslovima
- c) U strogo kiselim uslovima

41. Mycobacterium tuberculosis biva uništen u ćelijama monocitno-makrofagnog sistema.

DA

NE*

42. Apsolutni broj monocita kod monocitoze je veći od:

Vrsta	$\times 10^9/L$
Konji	
Goveda	
Mali preživari	
Psi	
Mačke	

43. Limfocitoza je povećanje broja limfocita iznad:

Vrsta	$\times 10^9/L$
Konji	
Preživari	
Svinje	
Psi	
Mačke	

44. Infektivna mononukleoza daje:

- a) Primarnu limfocitozu
- b) Reaktivnu limfocitozu*
- c) Ništa od navedenog

45. Infektivna mononukleiza se javlja u tri oblika i to: _____.

46. Trajna limfocitoza ukazuje na: _____.

47. Primarna kombinovana imunodeficijencija arapskih konja i crnih danskih goveda ima sledeće osobine:

- a) Praćena retrovirusnim infekcijama
- b) Praćena limfocitopenijom*
- c) Odsustvo nekoliko klasa imunoglobulina*
- d) Limfocitozom uz odsustvo IgG

48. Nastanku leukemija doprinose i sledeći činioci:

- a) izloženost dejstvu benzena,*
- b) izlaganje sunčevim zracima,
- c) jonizujuća zračenja,*
- d) poremećaji metabolizma hema,
- e) aktivisanje proonkogena.*

49. U diferencijalnoj beloj krvnoj slici bolesnika sa hroničnom granulocitnom leukemijom najviše su zastupljene sledeće vrste leukocita:

- a) mijeloblasti,
- b) neutrofilni metamijelociti,*
- c) monociti,
- d) nesegmentirani neutrofilni granulociti,*
- e) promijelociti.

50. Kod pacijenata sa multiplim mijelomom postoje sledeći poremećaji:

- a) sekundarna policitemija
- b) hiperviskozni sindrom*
- c) bubrežna insuficijencija*
- d) hipoproteinemija
- e) izlučivanje Bence-Jonesovih belančevina mokraćom*

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Neutrofilne granule
2. Neutrofilja
3. Neutropenija
4. Kvalitativni poremećaji neutrofila
5. Eozinofilne granule

6. Eozinofilija i eozinopenija
7. Granule u bazofilima
8. Monocitno-makrofagni sistem
9. Promene broja monocita
10. Bazofilije, bazopenije i mastocitoze
11. Patofiziološki aspekt limfocita
12. Limfocitoza i limfopenija
13. Patofiziologija leukoza životinja
14. Leukoza živine
15. Leukoza mačaka
16. Leukoza goveda
17. Patofiziološka dijagnostika i interpretacija poremećaja bele loze

PATOFIZIOLOGIJA TROMBOCITA I HEMOSTAZE

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

Poremećaji hemostaznog sistema se manifestuju u nastanku sklonosti ka krvarenju ili u nastanku tromboze. Ovi problemi u kliničkoj patologiji nastaju kao posledica naslednjog nedostatka nekog od faktora koagulacije, kao posledica trovanja (rodentici) ili kao posledica nastanka sepse i delovanja endotoksina, a manifestuju se kao sklonost ka diseminovanoj intravaskularnoj koagulaciji (DIK). Poremećaji u primarnoj hemostazi, koji su vezani za trombocite, najčešće dovode do petehija i ekhimoza, i nakon traume dolazi do neposrednog početka krvarenja. Problemi u proteinskom sistemu koagulacije praćeni su odloženim vremenom početka krvarenja uz nastanak krvarenja u zglobovima i dubljim tkivima.

Pomoću automatskog hematološkog analajzera vrlo jednostavno se dobija podatak o broju i veličini trombocita. Broj trombocita se može odrediti i brojanjem u Neubauerovoj komorici, posle razređenja amonijum-oksalatom u melanžeru za leukocite, a po formuli:

$$N/80 \times 400 \times 10 \times 20 \times 10^6 / L = Br.tr. \times 10^9 / L,$$

gde je N/80 – broj trombocita u jedom polju;
400 – 1 polje je $1/400 \text{ mm}^2$, broj tr. u 1 mm^2 ;
10 - Br. tr. u 1 mm^3 ; 20 –
Razblaženje; 10^6 – broj trombocita u litri krvi.

Brojanjem trombocita možemo dobiti sledeće rezultate: nepromenjen broj trombocita, trombocitozu ili trombofiliju. Krvarenja nastaju kao posledica značajnog smanjenja broja trombocita, ali i kod trombocitoze mogu nastati spontana krvarenja, ako proteinski elementi koagulacije ne funkcionišu optimalno.

Kod svih trombocitnih koagulopatija broj trombocita je poremećen, a kod pacijenta možemo odrediti test vremena krvarenja po Ajviju. Način izvođenja testa: Stavi se manžetna ili šira Esmarhova poveska na nadlakticu i izvrši se blagi pritisak, a zatim se sa volarne strane ekstremiteta izvrši čišćenje alkoholom i ubode sterilna lanceta pod kožu, pazeći da se ne povrede krupniji krvni sudovi (vene) i uključi se štoperica. Pažljivo se, zatim, svakih 15 sekundi filter-papirom upija krv koja spontano teče iz uboda. Ova procedura se ponavlja dok krvarenje ne prestane. Tada se štoperica isključi i očita proteklo vreme. Normalno vreme krvarenja je od 2-7 minuta, a produženo vreme ukazuje na smanjen broj ili poremećenu funkciju trombocita, poremećaj fon Wilebrandovog faktora, poremećaj u kontraktilnosti krvnih sudova i drugo. Pravljenjem umerenog pritiska na koži ekstremiteta i brojanjem petehija posle skidanja manžetne možemo proceniti kapilarnu otpornost od koje zavisi koagulabilnost krvi.

Testovi kojima se može ispitati funkcionalni status hemostaznog sistema su: određivanje parcijalnog tromboplastinskog vremena (PTT), protrombinskog vremena (PT) i trombinskog vremena (TT). PTT je grupni test za procenu nivoa i aktivnosti činilaca unutrašnjeg sistema aktivacije protrombina i zajedničkog koagualcionog puta. PT procenjuje funkcionalni status spoljašnjeg sistema aktivacije protrombina i zajedničkog koagualcionog puta. TT predstavlja vreme potrebno za zdrušavanje plazme nakon dodavanja određene količine trombina. Ovim testom se isključuje uticaj svih koagulacionih faktora tj. puteva, osim delovanja fibrinogena na

funkciju koagulacije. Normalne vrednosti PTT su od 35-75 (preko 100 kod mačaka) sekundi. Protrombinsko vreme je od 11-23 sekundi zavisno od vrste aktivnosti tkivnog ekstrakta koji se koristi u testu. Normalna vrednost TT iznosi između 15 i 25 sekundi. Patološke vrednosti se dobijaju poređenjem ili skraćenjem navedenih perioda. Za klinički rad je značajno da na osnovu navedenih parametara možemo dijagnostikovati vaskularni, trombocitni ili koagulacioni poremećaj hemostaze, pomoću shodno ključa datog u sledećoj tabeli.

Tabela 6: Poremećaji hemostaze i vrednosti parametara značajni za dijagnostiku

Poremećaj	Vreme krvarenja	Broj tr.	aPTT	PT	Trombinsko vereme	Test kapilarne rezistencije
VASKULARNI	Normalan ili patološki	Normalan	Normalan	Normalan	Normalan	Normalan ili patološki
TROMBOCITNI	Patološki	Patološki	Normalan	Normalan	Normalan	Patološki ili normalan
KOAGULACIONI	Normalan	Normalan	Patološki	Patološki	Patološki	Normalan

Pored navedenih, postoje i brojni specifični testovi koji se mogu dalje koristiti u detaljnijoj proceni funkcionalnog statusa hemostaze. Tako se npr. može ispitati adhezivnost (stepen adhezije trombocita iznad poveske, dobija se poređenjem broja trombocita pre stavljanja poveske i u različitim periodima nakon toga, uzimanjem krvi iz krvnog suda ispod poveske) i agregabilnost trombocita (pomoću aggregometra). Postoje posebne metode za kvantifikaciju faktora koagulacije.

Diseminovana intravaskularna koagulacija (DIK) može da predstavlja veliki problem u svakodnevnom radu, posebno u opstetriciji, hirurgiji, toksičnim i malignim stanjima. Kada postoji izuzetna trombocitopenija i prolongirano parcijalno tromboplastinsko, trombinsko i protrombinsko vreme treba posumljati na DIK. Tada je značajno odrediti fibrinogen, razgradne proizvode fibrina (fibrinolizni sistem) i parakoagulacione testove.

Fibrinogen se kvantitativno može odrediti klinički orientacionim precipitacionim testovima ili se u slučaju specijalnih ispitivanja vrše detaljnija funkcionalna ispitivanja. Koncentracija fibrinogena u DIK-u je snižena.

Razgradni produkti fibrina jesu D i E molekul i D dimer, a to su periferni i centralni domeni fibrinogena tj. fibrina. Određuju se lateks aglutinacijom (lateks čestica obložena antitelima protiv D i E fragmenata) koja daje makroskopski vidljive komplekse. Povišene vrednosti D i E molekula ukazuju na povišenu fibrinoliznu aktivnost koja se dešava u DIK-u.

Prilikom delovanja trombina na fibrinogen izvesna količina molekula fibrin-monomera se ne polimerizuje nego stvara rastvorljive komplekse sa molekulima fibrinogena. Prisustvo pomenutih monomera i fibrinogena se dokazuje parakoagulacionim testovima, koji se zasnivaju na činjenici da neke materije razlažu ove komplekse i izazivaju želatinizaciju ispitivane plazme.

Prisustvo ovih rastvorljivih kompleksa monomera govori o trombinskoj aktivnosti i stimulisanosti koagulacionog sistema. U DIK-u se javljaju pozitivni parakoagulacioni testovi.

Pomenuti testovi mogu fiziološki biti izmenjeni kod infekcija i pri hirurškim zahvatima.

U pretromboznom stanju značajan je dijagnostički postupak, koji se odlikuje povišenom aktivnošću hemostaznog sistema, jer se može završiti tromboznim stanjem i egzitusom životinje. Zbog toga je važno odrediti D-dimer, D i E fragment (markeri fibrinoliznog sistema); kao i fibrinopeptide protrombinske fragmente i fibrinske monomere (markeri aktivacije koagulacije) i metaboličke markere aktivisanih trombocita (trombospondin i tromboglobulin).

Referentne vrednosti produkata degradacije fibrina su ispod 10 μ g/ml seruma. Koncentracija fibrinogena varira u odnosu na vrstu od 50 do 400 mg/dl.

Pregled nekih metoda

ODREĐIVANJE PROTROMBINSKOG VREMENA PO QUICK-U - Uticaj faktora protrombinskog kompleksa na brzinu koagulacije plazme ili krvi ispituje se u prisustvu viška tromboplastina i optimalne količine kalcijuma. Pod takvim uslovima vreme koagulacije plazme određuje aktivnost protrombina i faktora protrombinskog kompleksa – V, VII i X. Na obrazovanje trombina utiču i inhibitori koagulacije (supstance tipa heparina).

Potrebni reagensi: CaCl₂ koncentracije supstance 0,025 mol/l, rastvor tromboplastina, ispitivana plazma, vodeno kupatilo na 37°C, serološke epruvete.

Način izvođenja metode: U serološku epruvetu se sipa 0,1 ml suspenzije tromboplastina i 0,1 ml CaCl₂ (zagrejanog nekoliko minuta na 37°C u vodenom kupatilu). Posle 10 sekundi doda se 0,1 ml ispitivane plazme. Odmah po dodavanju plazme uključi se štoperica i zabeleži vreme koagulacije. Normalna vrednost vremena koagulacije u ovim uslovima je 11-13 sekundi.

Rezultat se može izraziti i u procentima normalnih vrednosti, ako se radi sa plazmom obolelih. Ako se izražava u procentima normalnih vrednosti, onda se prave različita razblaženja normalne plazme i za svako razblaženje odredi aktivnost, koja se prenese na koordinatni sistem (razblaženje na pasciju, a vreme koagulacije na ordinatu) i konstruiše kriva iz koje se može odrediti procenat protrombinske aktivnosti plazme. Postoji i tabela za direktno očitavanje.

ODREĐIVANJE TROMBINSKOG VREMENA PLAZME PO HOUGIE-U – Ako je koncentracija fibrinogena u plazmi u normalnim granicama, plazma će koagulisati posle dodavanja viška trombina za 9-11 sekundi.

Za izvođenje reakcije potrebno je: rastvor trombina u imidazolskom puferu (5 jedinica po mililitru), citratna plazma koja se ispitije, fiziološki rastvor NaCl, serološke epruvete, vodeno kupatilo.

Način izvođenja metode: U serološku epruvetu se sipa 0,1 ml ispitivane plazme i 0,1 ml fiziološkog rastvora. Sadržaj epruvete se promeša i stavi u vodeno kupatilo na 37°C. Posle 10 sekundi doda se 0,1 ml rastvora trombina i zabeležiti vreme koagulacije plazme.

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE FIBRINOGENA U KRVI PO RUTBERG-U – Za izvođenje ove reakcije potrebni su krv (ili citratna plazma), Na-citrat koncentracije mase 38 g/l. CaCl₂ koncentracije mase 50 g/l, centrifuga, filter papir, torziona vaga, epruvete.

Način izvođenja metode: U epruvetu za centrifugiranje se sipa 0,5 ml natrijum-citrata i doda 2 ml krvi uzete iz vene. Posle centrifugiranja uzme se 1 ml plazme u drugu epruvetu. Toj plazmi se doda 0,5 ml CaCl₂ i čeka da koaguliše. Pod normalnim okolnostima koagulum se obrazuje za 7-15 minuta. Koagulum staklenim štapićem preneti na filter-papir i sušiti ga drugim

filter-papirom dok ne iščeznu tragovi vlage. Osušeni fibrinogen se izmeri na vagi i vrednost izrazi u mg. Da bi dobili količinu fibrinogena u g/l dobijena količina se pomnožiti sa koeficijentom 0,222.

ODREĐIVANJE EUGLOBULINSKE FIBRINOLIZE PO BUCKELLA-U – Euglobulinska frakcija plazme sadrži sve faktore koagulacije i fibrinolize. Euglobulini se talože u kiseloj sredini na niskoj temperaturi. Glavna komponenta euglobulina je plazminogen, a pored toga sadrži dosta protrombina i ostalih faktora koagulacije.

Reagensi i pribor: Rastvor sircetne kiseline koncentracije mase 10 g/l, rastvor borata (odmeri se 1 g natrijum-tetraborata, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$, i 9 g NaCl, prenese se u normalan sud i dolije vodom do oznake 100 ml), CaCl_2 konc. 0,025 mol/l, destilovana voda, epruvete, centrifuga, filter papir, vodenou kupatilo, štoperica i epruveta od 20 ml.

Način izvođenja metode: U epruvetu od 20 ml se sipa 0,5 ml citratne plazme, 0,1 ml sircetne kiseline i 9 ml destilovane vode (pH 5,3). Da bi se staložila euglobulinska frakcija, epruveta se ostavi pola sata na 4°C. Potom se vrši centrifugiranje na 3000 ob/min, a formirana gornja tečnost se odbaci i epruveta okrene na filter-papir da se osuši. Osušeni talog se rastvori u 0,5 ml rastvora borata, ostavi 3 minuta u vodenom kupatilu na 37°C, a potom doda 0,5 ml kalcijum-hlorida i zabeleži vreme koagulacije. Epruveta se i dalje ostavi u vodenom kupatilu i posmatra svakih 30 minuta, dok ne dođe do lize koaguluma.

Kod zdravih ljudi liza koaguluma se javlja u roku od 3 sata od momenta obrazovanja fibrinskog koaguluma do potpunog rastvaranja.

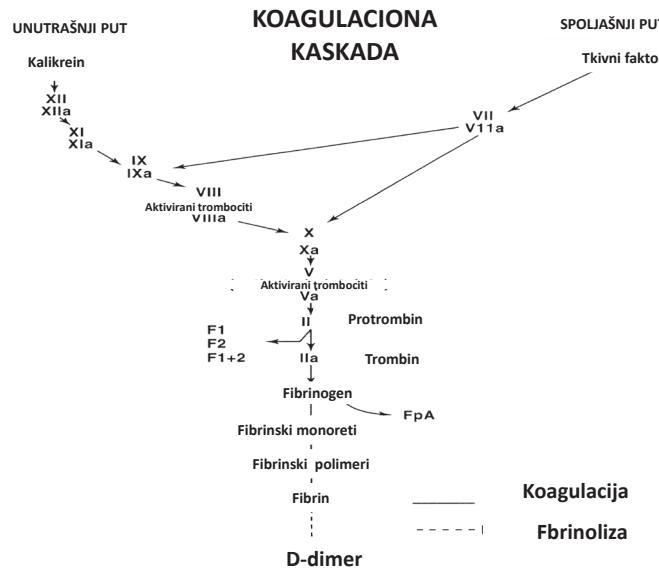
Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Na fotografiji je prikazan standardni aparat za silitivanje poremećaja hemostaze. Navedite na kom principu rade ovakvi standardni aparati i šta je moguće odrediti automatski ili poluautomatski pomoću njih.

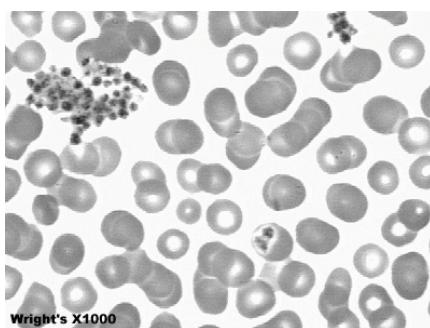
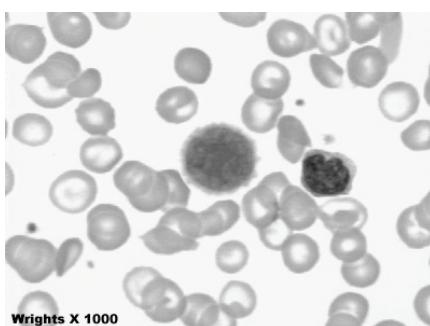


Zadatak 2: Navedite činioce sistema hemostaze.

Zadatak 3: Na šemici su prikazane kaskade koagulacije krvi. Upišite na odgovarajućim mestima testove kojima procenjujemo funkcionalnost pojedinih delova kaskade koagulacije krvi.

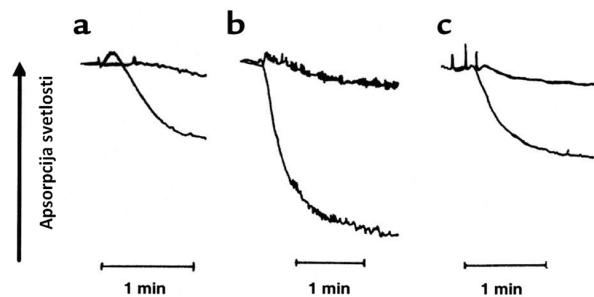


Zadatak 4: Navedite šta je na datim razmazima krvi neuobičajeno.



Zadatak 5: Navedite šta određuju parakoagulacioni testovi?

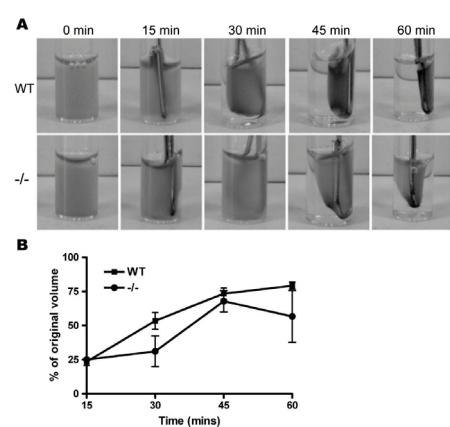
Zadatak 6: Na šemici je prikazana agregometrijska kriva koja nastaje tokom spontane agregacije trombocita (gornja linija), kao i usled agregacije pod dejstvom ADP, tromboplastina i epinefrina (a,b,c). Objasnite prikazane krive i nacrtajte izgled krive u odnosu na propustljivost svetla agregometra.



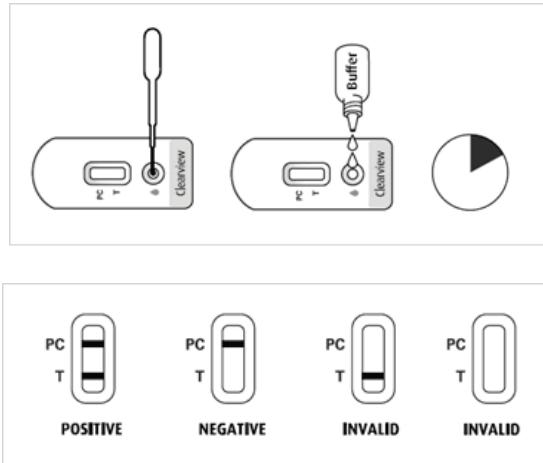
Zadatak 7: Aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme (unutrašnji put) i protrombinsko vreme (spoljašnji) može se odrediti putem komercijalnog testa. Opišite princip rada i obeležiti na fotografiji kako se očitavaju rezultati testa.



Zadatak 8: Na fotografijama je prikazan test retrakcije koagulum i navedeni su rezultati koncentrata normalnih i ispranih trombocita. Objasnite razlike u rezultatima.



Zadatak 9: Objasnite D-dimer i antitrombin 3 i značaj njihovog određivanja. Navedite na kom principu je zasnovan brzi test za D-dimer čija je procedura prikazana na slici.



Zadatak 10: Napišite vrednosti rezultata (\uparrow , \downarrow , normalni) predloženih laboratorijskih testova u vaskularnim, trombocitnim i koagulacionim poremećajima.

Poremećaj	Vreme krvarenja	Broj trombocita	Aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme	Rotrombinsko vreme	Trombinsko vreme	Test kapilarne rezistencije
Trombocitni						
Vaskularni						
Koagulacioni						

Zadatak 11: Razlike u kliničkoj manifestaciji primarne i sekundarne hemostaze

Zadatak 12: Kaskada odlučivanja u patofiziološkom ispitivanju hemostaze

Zadatak 13: Pregledni testovi pacijenata sa poremećenom hemostazom-tabelarni prikaz

Zadatak 14: Eliminacioni testovi za procenu hemostaze

Zadatak 15: Rumpel-Leedov test kapilarne otpornosti

Zadatak 16: Određivanje vremena krvarenja po Ajviju

Zadatak 17: Određivanje adhezivnosti trombocita in vivo

Zadatak 18: Ispitivanje agregabilnosti trombocita

Zadatak 19: Aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme (Kaolin-cefalinsko verme koagulacije)

Zadatak 20: Određivanje protrombinskog vremena

Zadatak 21: Parakoagulacioni testovi

Zadatok 22: Određivanje funkcijске aktivnosti antitrombina III

Zadatak 23: Euglobulinsko vreme lize koaguluma

Zadatak 24: Kvalitativno određivanje razgradnih proizvoda fibrinai/ili fibrinogena

Zadatak 25: Diferencijalna dijagnoza reaktivne trombocitoze i esencijalne trombocitemije

Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj1:

Dijagnoza: Diseminovana intravaskularna koagulacija (DIK)

	Patient	Reference Range		Patient	Reference Range
PCV %	22	(37 - 55)	WBC (corrected)/ul	10800	(6,000 - 17,500)
Hb g/dl	7.6	(12 - 18)	Neutrophils	7750	(3,000 - 11,500)
RBC x10 ⁶ /ul	3.2	(6 - 8)	Band cells	750	(0 - 400)
MCV fl	65	(60 - 77)	Lymphocytes	1300	(1,000 - 4,800)
MCHC g/dl	31.5	(31 - 35)	Monocytes	900	(150 - 1,350)
MCH pg	20	(19 - 24)	Eosinophils	100	(100 - 1,250)
Reticulocytes %	0	(0 - 1.5)	Basophils	0	(0)
TPP g/dl	5.7	(6.0 - 8.0)			
Fibrinogen mg/dl	200	(200 - 400)			
Platelets/ul	23,000	(200,000 - 400,000)			
NRBC	4/100WBC				

Morphology:

RBC Poik/leptocytes

WBC Toxic neutrophils

Platelet Many large

Coagulation Tests	Patient	Reference Range
Thrombin time (TT) sec	20	(12 - control)
PT sec	19	(12 - control)
APTT sec	31	(18 - control)
FDP ug/ml	0	(<10)
Antithrombin III %	71	(>85)
D-dimers	10	(0)

D-dimers are specific fibrin(ogen) degradation products using a canine specific test.

Tumačenje:

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Proces hemostaze se deli na tri međusobno povezana i preklapajuća procesa i to su: _____.
2. Zaustavljanje krvarenja iz većih krvnih sudova nastaje:
 - a) dejstvom koagulacijskog sistema,
 - b) stvaranjem trombocitnog tromba,
 - c) spazmom krvnog suda,
 - d) udrženim dejstvom krvnog suda, trombocita i koagulacijskog sistema,*
 - e) udruženim dejstvom koagulacijskog i fibrinoliznog sistema.
3. Pojačana krvarenja nastaju usled:
 - a) Promena u zidovima krvnih sudova
 - b) Smanjenog broja trombocita
 - c) Trombocitostenije
 - d) Poremećaja koagulacije
 - e) Sve navedeno je tačno*
4. U endotelu krvnih sudova stvaraju se sledeći koagulacijski činioci i proizvodi prostaglandinskog metabolizma:
 - a) von Willebrandov činilac*
 - b) protrombin
 - c) tromboksan A₂
 - d) prostaciklin (PG I₂)*
 - e) IX činilac koagulacije
5. Adhezija trombocita je proces:
 - a) slepljivanja trombocita za cirkulišuće koagulacijske činioce
 - b) međusobno slepljivanje trombocita
 - c) slepljivanje trombocita za subendotelski sloj krvnog suda*
 - d) slepljivanje trombocita i leukocita
6. U trombocitnom hemoragijskom sindromu mora postojati poremećaj:
 - a) protrombinskog vremena
 - b) vremena krvarenja*
 - c) trombinskog vremena
 - d) parcijalnog tromboplastinskog vremena
7. Trombocitoza, povišenje broja trombocita, može biti posledica i:
 - a) splenomegalije
 - b) splenektomije*
 - c) policitemije (polycythaemija rubra vera)*
 - d) krvarenja*
 - e) produženog veka trombocita

8. Produceno vreme krvarenja (duže od 7 minuta) je posledica:

- a) von Willebrandove bolesti*
- b) nedostatka protrombina
- c) hemofilije A
- d) uzimanja aspirina*
- e) smanjenja broja trombocita*

9. Funkcijski poremećaji hemostaze u bolestima jetre su izazvani i:

- a) sniženjem broja trombocita*
- b) povećanim uklanjanjem iz cirkulacije aktivisanih koagulacijskih činilaca putem jetre
- c) sniženom sintezom vitamin K zavisnih činilaca*
- d) prisustvom funkcijiski izmenjenih molekula fibrinogena*

10. Nabroj bakterijeske uzročnike trombocitopenije: _____.

11. Erlihioza pasa se odlikuje:

- a) Trombocitopenijom*
- b) Trombocitozom
- c) Jednostrana rinoragija*
- d) Petehije ili purpure*
- e) Promene slabije vidljive u hroničnoj fazi

12. U sindromu diseminovane intravaskularne koagulacije nalazi se sniženje:

- a) X činioca koagulacije*
- b) broja trombocita*
- c) koncentracije razgradnih proizvoda fibrina
- d) koncentracije rastvorljivih kompleksa fibrinskih monomera
- e) koncentracije fibrinogena*

13. Izomunske trombocitopatije najčešće se javljaju kod:

- a) Teladi
- b) Jagnjadi
- c) Prasadi*
- d) Kučića posle 2. meseca starosti

14. Splenomegalija može dovesti do razvoja trombocitopenije:

DA*
NE

15. Fiziološka sekundarna trombocitoza nastaje usled:

- a) Mijeloproliferativnih poremećaja
- b) Policitemije vere
- c) Pojačane mobilizacije trombocita iz slezine*
- d) Inflamatornih bolesti

16. Trombocitopenija u malignim bolestima nastaje usled:

- a) Sekvestracije trombocita u slezini, jetri i velikim vaskularnim tumorima
- b) Smanjeno stvaranje trombocita kod tumora koji luče estrogen
- c) Pojačano gubljenje trombocita krvarenjem tumora
- d) Hemoterapije
- e) Sve od navedenog je tačno*

17. Pojava krvarenja u Kušingovom sindromu nastaje kao posledica:

- a) Oštećenja perivaskularnog perifernog prostora*
- b) Uništavanje trombocita
- c) Uništavanje megakariocita
- d) Ništa od navedenog

18. Reaktivna trombocitoza u malignim bolestima nastaje kao posledica:

- a) Povećanog stvaranja trombocita
- b) Povećanog odavanja trombocita iz slezine
- c) Povećanog stvaranja plazmatskog trombopoetina*
- d) Ništa od navedenog

19. Čedijak-Higaši sindrom je *nasledno/stečeno (zaokruži tačan odgovor)* oboljenje koje nastaje kao posledica nedostatka _____.

20. Trombocitopatije u hroničnim bubrežnim bolestima nastaju kao posledica:

- a) Nedovoljnog lučenja eitropoetina
- b) Zadržavanja toksičnih metabolita*
- c) Poremećaja u sintezi prostaglandina u endotelnim ćelijama i trombocitima*
- d) Sve navedeno je tačno

21. Fon Vilebrandova bolest je:

- a) Autozomno dominantna
- b) Autozomno recesivna
- c) Autozomno dominantna ili autozomno recesivna*
- d) Nije nasledna bolest

22. Pojava jakih gingivalnih krvarenja prilikom menjanja zuba kod štenaca, uz šetajuću i povratnu šepavost zbob hemartoze uz povratnu melenu i kasnije produženo estralno krvarenje, uz nedostatak VIII faktora koagulacije ukazuje na:

- a) Hemofiliju A*
- b) Hemofiliju B
- c) Hemofiliju C

23. Nedostatak vitamina K u organizmu doveće do:

- a) Smanjene koncentracije protrombina*
- b) Povećane koncentracije fibrinogena
- c) Smanjene koncentracije VII, IX i X faktora koagulacije*

24. Hemoragične dijateze usled trovanja dikumarolom nastaju kao posledica:

- a) Avitaminoze K vitamina*
- b) Smanjenog stvaranja trombocita
- c) Smanjenja zapremine megakariocita
- d) Opstuktivnog ikterusa

25. Najznačajniji prirodni antikoagulansi su:

- a) Antitrombin III*
- b) Alfa2-makroglobulin*
- c) Plazmin
- d) Protein C*
- e) Alfa 2 antiplazmin

26. Molekul heparina bez učešća antitrombina III ima izuzetno slabo antikoagulansno delovanje.

DA*

NE

27. Virhovljev trijas je _____ i on podrazumeva:
_____.

28. Diseminovana intravaskularna koagulacija (DIK) se može javiti kao:

- a) Isključivo hemoragični poremećaj
- b) Isključivo trombotični poremećaj
- c) Kao hemoragični i kao trombotični poremećaj*

29. Tri glavna mehanizma koja pokreću DIK su:

_____.

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Hemostaza, njena regulacija i inhibicija
2. Hemoragijski sindrom
3. Trombocitopenije
4. Trombocitoze
5. Trombocitopatije
6. Nasledni poremećaji koagulacije krvi
7. Stečeni poremećaji koagulacije krvi
8. Diseminovana intravaskularna kolagulacija (DIK)
9. Tromboembolijska bolest-tromboza
10. Patofiziološka dijagnostika i interpretacija poremećaja hemostaznog sistema

PATOFIKOLOGIJA KARDIOVASKULARNOG SISTEMA

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

Ispitivanje kardiovaskularnog sistema je nezaobilazan postupak u prvim koracima kliničkog pregleda, a vrši se pregledom srca (auskultacija) ili perifernih krvnih sudova (puls). Pri inspekciji veterinar opšte prakse najpre zapaža neke od sledećih znakova: slabost, dezorientaciju, umor, cijanozu, polidipsiju, sinkopu, ascites, edem, dispnea, širenje v.jugularis, širenje vena, slab puls, promene pulsa, tahikardija, palpatorični srčani šum, bradikardija, aritmija, hepatomegalija, kašalj, šumove, šumove trenja, ronhe, bronhijalne tonove, srčani galop (čujni S3,S4 ton) i dr.

Ukoliko se primeti neki od kliničkih simptoma, životinja se obavezno mora ispitati pomoću specijalističkih metoda, a to su: elektrokardiografija, sfigmografska, flebografska, pletizmografska, ultrzvuk srca i hematohemski pokazatelji funkcije kardiovaskularnog sistema.

Elektrokardiografija (EKG) je najznačajnija i najrasprostranjenija metoda za ispitivanje funkcije srčanog mišića. Pomoću nje se registruju bioelektrični potencijali, koje stvara srčani mišić tokom depolarizacije i repolarizacije, a ti potencijali (bioelektrične struje) se šire na periferiju tela, gde se registruju metodom EKG-a, pomoću elektrokardiografa. Elektrokardiograf je aparat koji se sastoji od elektroda za beleženje perifernih potencijala i sistema za grafičko prikazivanje rezultata, tj. dobijanje elektrokardiograma. Najčešće indikacije za primenu elektrokardiografije su: promena srčanih šumova tokom auskultacije, kardiogena disritmija (tahi/bradikardije, ekstrasistole...), akutna dispnoja i cijanoza, rentgenski dijagnostikovana promena srčane senke, poremećaj stanja elektrolita u organizmu, sistemske bolesti (uremija, piometra, pankreatitis) praćene kardiogenom disritmijom, dijagnostika različitih oblika kardiopatija, kontrola rada srca pre i tokom hirurških intervencija i sl. EKG metoda ima sledeća ograničenja: nemogućnost utvrđivanja patomorfoloških promena valvula, koronarnih arterija, endokarda i perikarda.

Za pravilno izvođenje ove metode pacijenta je neophodno oslobođiti od uznemiravanja i treba ga postaviti u desni položaj po strani. Ponekad treba izvršiti sedacija pacijenta, ali ne i anestezija. Uporedno sa smirivanjem pacijenta vrši se aplikacija štipaljki (elektroda) i to: elektrode na prednjim ekstremitetima u regiji proksimalnog olekranona ili blizu polovine radiusa, elektrode na zadnjim ekstremitetima preko patelarnog ligamenta, a prekordijalne elektrode se postavljaju u srčanoj regiji i interkostalnim prostorima. Elektrode aparata su najčešće u vidu štipaljki (alligator clips) i ređe u vidu ravni. Pre njihove aplikacije neophodno je primeniti gel ili alkohol radi boljeg prijanjanja kože i elektroda.

Na aparatu razlikujemo nekoliko odvoda (načina registrovanja bioelektrične struje srca) za snimanje srca EKG-om. Oni mogu biti bipolarni (dve elektrode se povezuju u galvanometru i daju krivulju-derivaciju), unipolarni (kada dve elektrode budu povezane da daju nulti potencijal, a treća snima potencijal miokarda) i prekordijalni (elektrode sa ekstremitetima se povezuju zajedno dajući nulti potencijal, a posebna elektroda se vezuje na različite tačke grudnoga koša shodno anatomske karakteristikama srca). Bipolarni periferni odvodi (tzv. standardni) i raspored nanelektrisanja: odvod DI – desni prednji ekstremitet (-) i levi prednji ekstremitet (+), odvod DII – desni prednji ekstremitet (-) i levi zadnji ekstremitet (+), odvod DIII – levi prednji ekstremitet (-) i levi zadnji ekstremitet (+). Unipolarni periferni odvodi (ekstremitetni) i raspored njihovog

naelektrisanja je sledeći: odvod aVR – desni prednji ekstremitet (+) u odnosu na levi prednji i zadnji ekstremitet (-), odvod aVL – levi prednji ekstremitet (+) u odnosu na desni prednji i levi zadnji ekstremitet (-), odvod aVF – levi zadnji ekstremitet (+) u odnosu na desni i levi prednji ekstremitet (-). Prekordijalni odvodi su sledeći: odvod V10 – iznad trnastog izdanka sedmog torakalnog pršljena, odvod CV6LL (V2) – šesti levi interkostalni prostor u blizini ivice sternuma, odvod V3 – blizu levog apeksa srca, odvod CV6LU (V4) – šesti levi interkostalni prostor kod kostohondralne veze, odvod CV5RL (rV2) – peti desni interkostalni prostor u blizini ivice sternuma.

U zavisnosti od radne dijagnoze treba odabrat i način snimanja EKG-om. Pri ispitivanju srčanog ritma i položaja srca treba snimati standardne bipolarne odvode. Za otkrivanje lokalizacije lezije i infarkta kao i za određivanje položaja srca koristićemo ekstremitetne odvode. U ispitivanju poremećaja ishrane miokarda koristićemo prekordijalne odvode.

Snimanje pomoću većeg broja elektroda neophodno je jer na taj način procesi depolarizacije i repolarizacije posmatraju iz različitih ravni i uglova. Na taj način se može rekonstruisati položaj srca i izvršiti lokalizacija patološkog procesa u njemu. Standardne bipolarne derivacije daju temena (aVR, aVL, aVF) ravnostranog (stranice D1, D2, D3) Einthovenovog trougla, koji daje sliku srca u frontalnoj ravni.

Snimanje EKG talasa se vrši na traci sa odštampanom milimetarskom mrežom. Traka se uvek kreće brzinom 25 cm/min. Osetljivost većine EKG aparata je takva da mali kvadratić u milimetarskoj hartiji po širini predstavlja period od 0,04 sekunde, a po visini 0,1 mV. Veliki kvadrat (koji obuhvata 5x5 malih kvadrata – Ashmanova jedinica) dug je 0,2 sekunde, a visok je 0,5 mV.

Posmatranjem elektrokardiograma može se utvrditi sledeći parametri: a) srčana frekvencija, b) srčani ritam, c) merenje P, Q, R, S i T amplituda, d) merenje intervala P, PQ, QRS, QT i e) utvrđivanje oblika zubaca i linija.

Srčana frekvencija se utvrđuje deljenjem broja 60 sa rastojanjem dva R zupca izraženo u sekundama. Drugi način određivanje frekvence je određivanje nomogramom. Nomogram treba postaviti tako da se na vrhu jednog R zupca postavi podeok nula, dok sledeći R zubac pokazuje frekvencu. Na taj način možemo razlikovati tahikardiju od bradikardije.

Promene u karakteristici zubaca najdirektnije ukazuju na prisustvo izmenjene funkcije ili patološkog stanja srca, a navedeni najčešći primeri ukazuju na patologiju srca.

Najčešći primeri dijagnoza kod izmenjenih zubaca:

Visok zubac R:

- Stenosis aortae
- Insufficientia valvula semilunares aortae
- Hipertrofija leve komore

Povećanje, proširenje i zaobljavljivanje zuba R:

- Insufficientia valvulae mitralis

Negativan zubac R:

- Stenosis a. pulmonalis
- Insufficientia valvulae tricuspidalis
- Cor pulmonalis

Visoka amplituda QRS kompleksa:
Ductus Botalli persistens

Sniženje visine svih pikova EKGa:
Pericarditis

Totalni AV blok:
Adams-Stockesov sindrom

Proširen P talas, eventualno zaobljen:
Dilatacija leve pretkomore često usled insuficijencije mitralnih valvula

Povišen P talas sa pojavom oštine vrha:
Dilatacija ili hipertrofija desne pretkomore

ST interval:
Promena oblika i visine kod eksudativnog perikarditisa

Produžen QT interval:
Hipokalcemija
Hipokalemija
Intoksikacija etilen-glikolom

Skraćen QT interval:
Hiperkalcemija
Hiperkalemija
Terapija digitalisom

Visok T talas:
Hiperkalemija, hipoksija, uremija, piometra

Pletizmografija je registrovanje pulsog talasa putem neinvazivnog merenja arterijskog protoka. Pletizmografi mogu raditi putem senzora osetljivih na promenu volumena (pritiska), promene u električnoj sprovodljivosti i drugo. Bez obzira na metod rada dobija se kriva (pletizmogram), na kojoj se meri vreme propagacije, vreme inklinacije i vreme vrha i amplituda krivulje. Postoje još i modifikacije ove metode a to su oscilometrija i Doppler sonografija. Uz pomoć ovih metoda posmatraju se sledeće osobine pulsa: frekvencija, ritam, visina, brzina nastanka i isčezavanja i tvrdoća pulsa. Kod okluzivnih bolesti arterija širenje pulsog talasa se usporava, amplituda mu se smanjuje a iza mesta potpune okluzije sasvim nestaje.

Beleženje venskog pulsa vrši se flebografijom. Venski puls se najbolje određuje na v.jugularis i on je asinhron sa sistolom komora i arterijskim pulsom, pa zato kažemo da je venski puls negativan. Zupci flebograma su: a (kontrakcija desne pretkomore), c (zatvaranje trikuspidalnih zalistaka na početku sistole komore), v (porast pritiska u desnoj komori tokom sistole komora dok su trikuspidalni zalisci zatvoreni) i h (porast pritiska u desnoj komori u periodu dijastaze). Silazni talasi na flebogramu su: x (dijastola pretkomore), x' (pomeranje AV prstena i desnog AV otvora prema apeksu srca za vreme sistole komora, što smanjuje pitisak u

desnoj predkomori) i y (pad pritiska u desnoj predkomori u toku otvaranja kuspidalnih zalistaka za vreme rane dijastole komora).

Apekskardiografija predstavlja registrovanje srčanog udara o grudni koš čiji je rezultat apekskardiogram. Pacijent se postavlja na levu stranu. Na krivulji razlikujemo: mali talas (A), koji odgovara sistoli predkomore, nakon malog useka sledi strmi uzlazni deo koji označava izometrijsku kontrakciju leve komore do vrha (E) koji označava otvaranje aortnih zalistaka. Iza te tačke se javlja plato za vreme kojeg se vrši ejekciona faza, do drugog kolena koji označava zatvaranje aortnih zalistaka i početak dijastole. Nakon toga kriva naglo opada, što se poklapa sa izometrijskom fazom relaksacije sve do najniže tačke krivulje u kojoj se otvaraju mitralni zalisci. Posle tačke O kriva ponovo kreće na gore, formirajući talas RF koji odgovara brzom punjenju leve komore, a zatim pokazuje postepeni uzlazni deo SF za vreme sporog punjenja.

Ehokardiografija se zasniva na upotrebi ultrazvuka za morfo-funkcionalno ispitivanje srca. Postoje različite vrste ehokardiografije, a najznačajnija osobina je da se slika srca stvara na monitoru ultrazvučnog aparata i da se ona može zamrznuti i iskoristiti za različita merenja. Najbitniji parametar koji se meri je ejekciona frakcija:

$$(volumen u dijastoli - volumen o sistoli) / volumen u dijastoli.$$

Navedene metode se mogu paralelno izvoditi pri primeni metode polikardiografije, kada se na istom papiru beleži EKG i ostali parametri, da bi se videla sinhronizacija rada srca sa perifernim krvotokom.

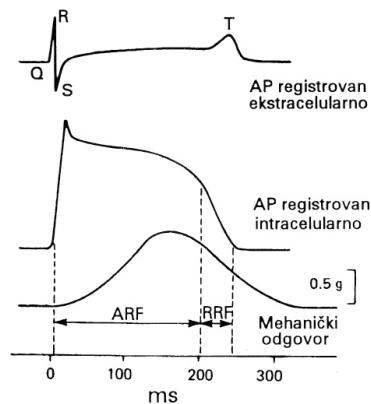
Procena funkcionalnog statusa srca vrši se i pomoću biohemijskih parametara, kao što su kreatin-kinaza i natriurični peptid.

Kreatin-kinaza se određuje standardnim enzimskim metodama. Ovaj enzim se nalazi u skeletnoj muskulaturi, mozgu i srcu. Kod akutnog infarkta miokarda aktivnost CK raste već nekoliko časova posle infarkta, a vrednost može biti i dvadeset puta uvećana. Posle 15-30 časova od infakta CK dostiže svoj maksimum, pa u narednih nekoliko dana opada na početnu vrednost. Ukoliko je nekrotično područje veće, veći je porast CK. Pored CK korisno je odrediti i aktivnost laktat-dehidrogenaze (LDH).

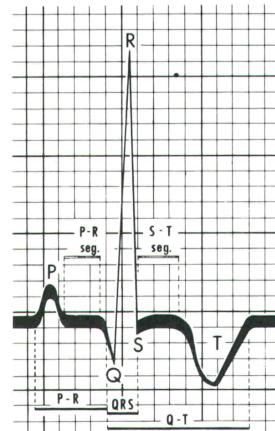
Natriurični peptid daje dve osnovne forme atrialni tip i B-tip peptida (ANP i BNP), koji nastaju kao posledica povišenog pritiska na zid srca. ANP i BNP izazivaju vazodilataciju, povišenu diurezu i natriurezu, a antagonisti su renin-angiotenzin-aldosteron sistemu. Određivanje ovoga peptida je od velike koristi kod razlikovanja dispneje koja je kardiogenog i nekardiogenog porekla. Posebno značajno kod pasa, gde je dispneja često prvi znak srčane slabosti, a sa druge strane auskultacija i EKG nalaz mogu dati znake respiratorne disritmije srca. Određivanje ovih peptida je korisno i kod ispitivanja efekta terapije. Natriurični peptid se određuje standardnim komercijalnim kitovima. Povišene vrednosti ukazuju na poremećaj zdravlja srca, dok višestruko povećanje ukazuje na srčane bolesti.

Zadaci za vežbanje

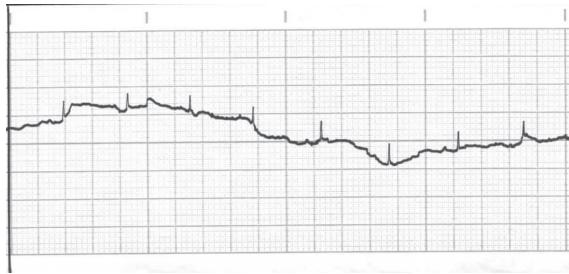
Zadatak 1: Na fotografiji su prikazane krive akcionalog potencijala dobijenog intra i ekstracelularnim merenjem. Objasnite ove nalaze.



Zadatak 2: Na fotografiji je prikazan deo EKG trake sa jednim kompleksom zubaca i talasa koji predstavljaju jednu srčanu kontrakciju. Napišite delove koji označavaju P, PQ, QRS, ST i T element EKG-a.

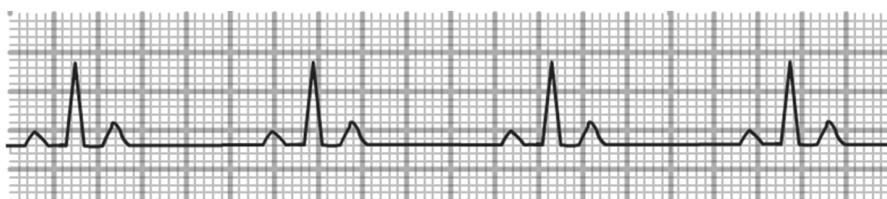
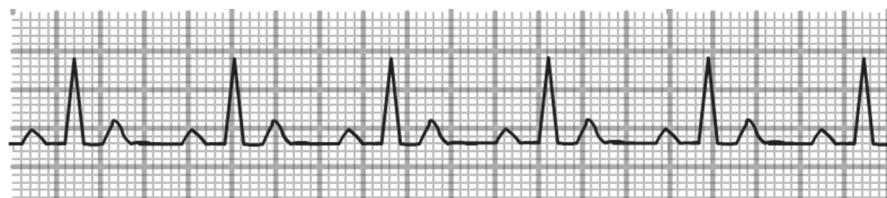


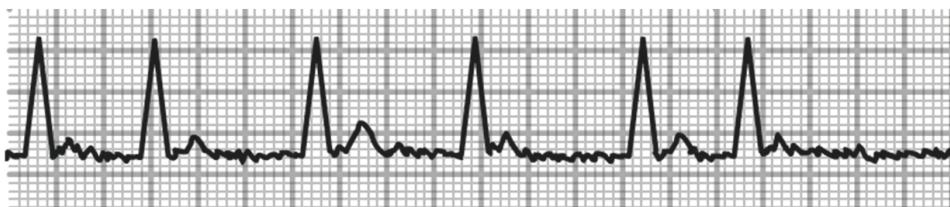
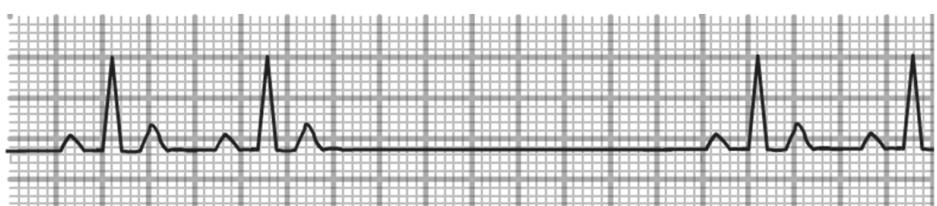
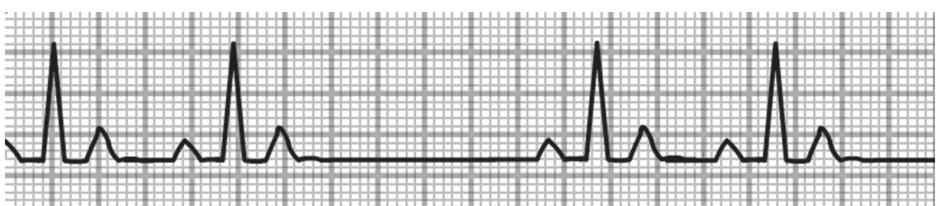
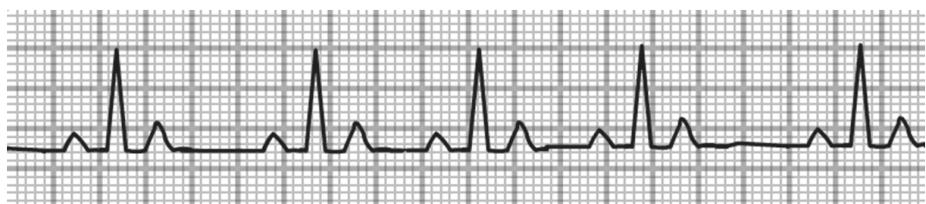
Zadatak 3: Na fotografiji je prikazan deo EKG trake. Obeleži Ahsmanovu jedinicu i objasni njenu značenje.

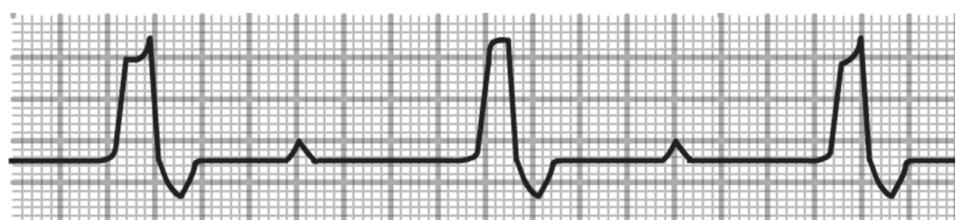
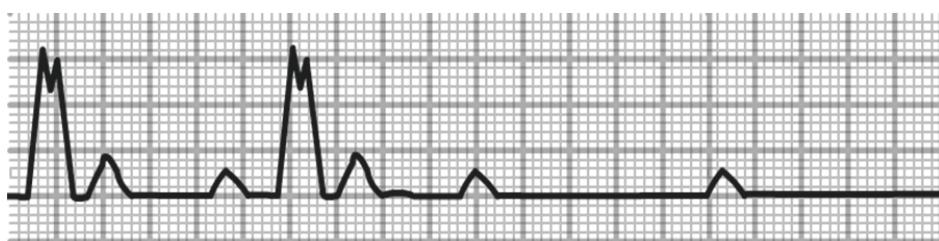
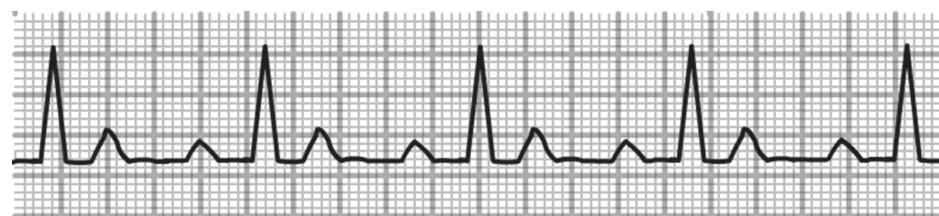
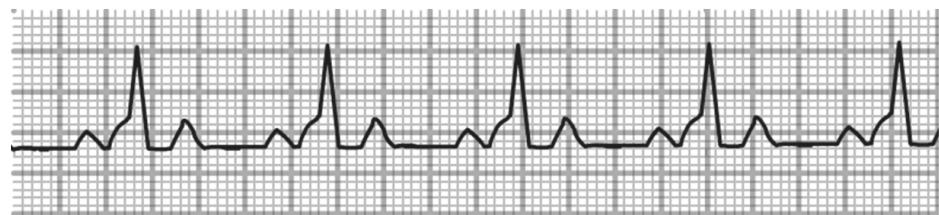
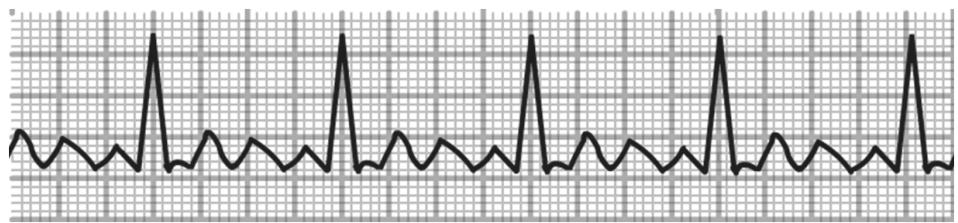


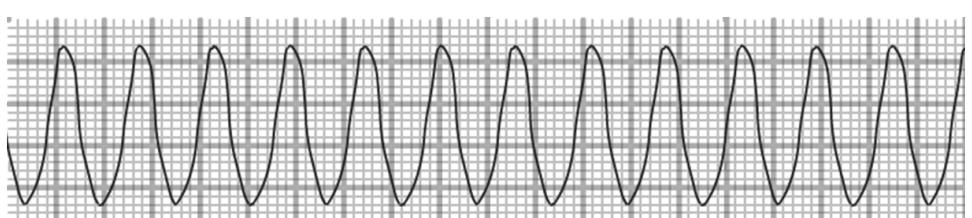
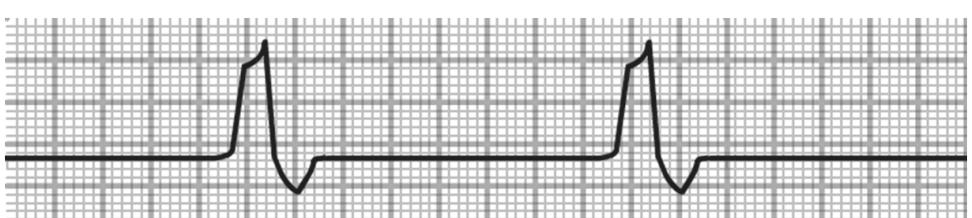
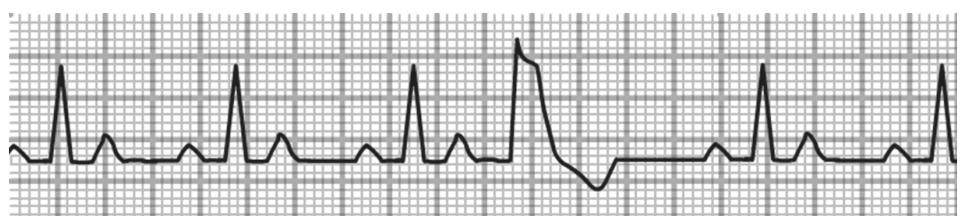
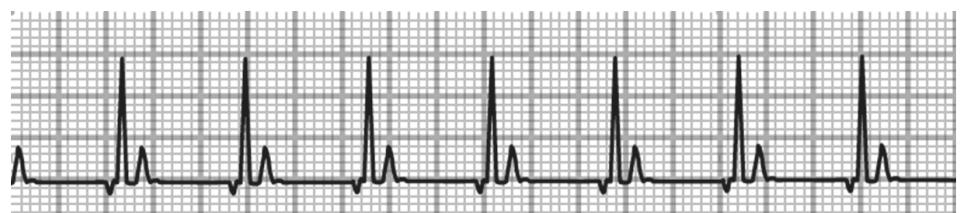
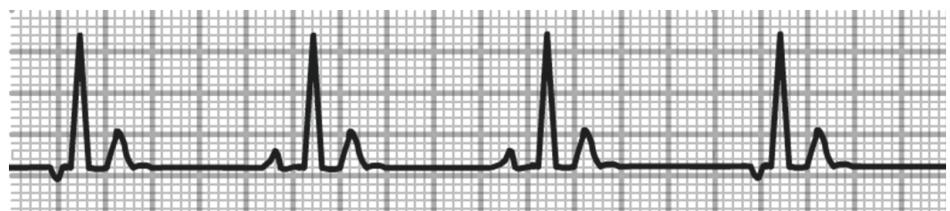
Zadatak 4: Objasnите EKG odvode i vrste koje postoje.

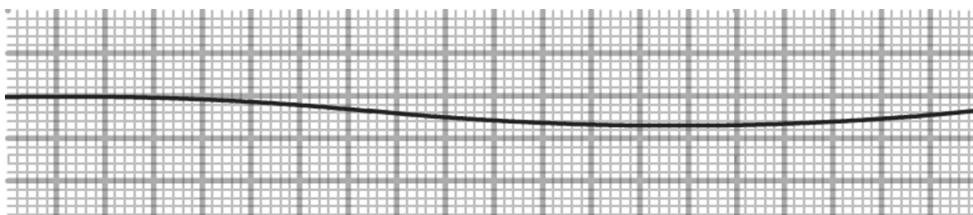
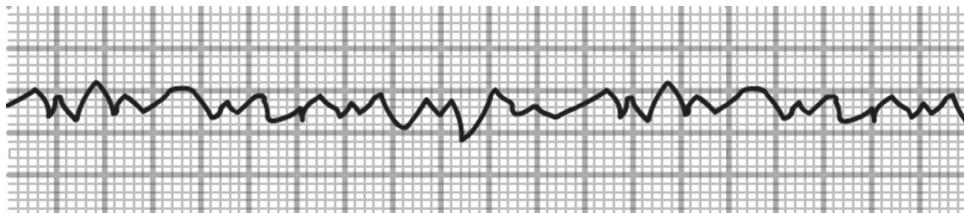
Zadatak 5: Na fotografiji su data 23 rezultata elektrokardiograma. Napišite ispod svakog navedenog rezultata dijagnozu oboljenja koje pokazuje. Na svakom odredite dužinu trajanja impulsa i visinu pulsnog talasa.









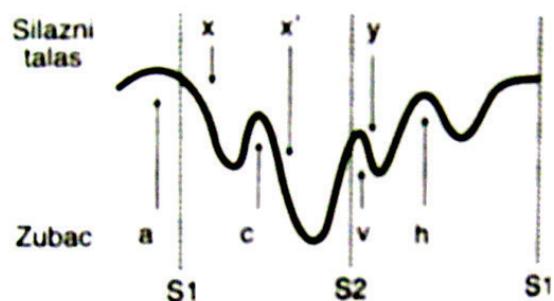


Zadatak 6: Promene u karakteru EKG talasa i zubaca ukazuju na potencijalne poremećaje srca.
Pored navedenih promena upišite prateći poremećaj funkcije srca.

<i>Visok zubac R</i>	
<i>Povećanje, proširenje i zaobljavanje zubca R</i>	
<i>Negativan zubac R</i>	
<i>Visoka amplituda QRS kompleksa</i>	
<i>Sniženje visine svih pikova EKGa</i>	
<i>Totalni AV blok</i>	
<i>Proširen P talas, eventualno zaobljen</i>	
<i>Povišen P talas sa pojavom oštine vrha</i>	
<i>ST interval</i>	
<i>Produžen QT interval</i>	
<i>Skraćen QT interval</i>	
<i>Visok T talas</i>	

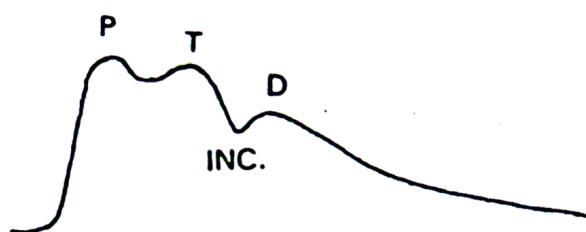
Zadatak 7: Nacrtajte EKG nalaz kod poremećene koronarne perfuzije oštećenja miokarda.

Zadatak 8: Objasnite obeležene elemente prikazanog flebograma kod konja (v.jugularis)

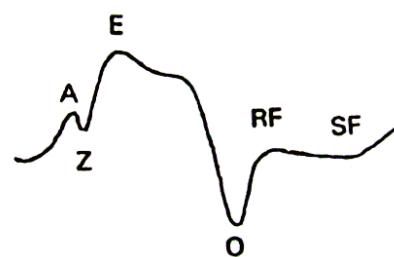


Zadatak 9: Opišite metodu polukardiografije i principe te metode

Zadatak 10: Opišite metodu karotidografije i proanalizirajte dati karotidogram.



Zadatak 11: Opišite metodu apekskardiografije i proanalizirajte dati apekskardiogram.



Zadatak 12: Kliničke indikacije za pregled srca

Zadatak 13: Patofiziološko ispitivanj pulsa i srčanih tonova

Zadatak 14: Principi EKG dijagnostike

Zadatak 15: Posmatranje EKGa, oređivanje pulsa, voltaže i dužine trajanja struja

Zadatak 16: Opišite osnovne promene na zupcima i njihovo značenje u EKG dijagnostici

Zadatak 17: Opišite osnovne uzroke koji dovode do promena na EKG nalazu

Zadatak 18: Koji su osnovni principi polikardiografije

Zadatak 19: Koji su osnovni principi ehokardiografije

Zadatak 20: Koji su osnovni principi ergometrije i kako se primenjuje kod životinja

Zadatak 21: Najvažniji markeri oštećenja miokarda i srčane insuficijencije i njihova interpretacija

Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj 1:

Hronično oboljenje mitralnih valvula									
Hematology									
RBC	7.00	M/ μ L	(5.50	-	8.50)		
HCT	47.7	%	(37.0	-	55.0)		
HGB	15.6	g/dL	(12.0	-	18.0)		
MCV	68	fL	(60	-	77)		
MCH	22.2	pg	(19.5	-	26.0)		
MCHC	32.7	g/dL	(32.0	-	36.0)		
WBC	20.3	K/ μ L	HIGH	(5.7	-	16.3)	
Neutrophil	18.70	K/ μ L	HIGH	(3.00	-	11.50)	
Lymphocyte	0.86	K/ μ L	LOW	(1.00	-	4.80)	
Monocyte	0.44	K/ μ L	(0.15	-	1.35)		
Eosinophil	0.30	K/ μ L	(0.10	-	1.25)		
Basophil	0.00	K/ μ L	(0.00	-	0.10)		
Platelets	376	K/ μ L	(164	-	510)		
Chemistry									
Glucose	78	mg/dL	(60	-	125)		
BUN	12	mg/dL	(7	-	27)		
Creatinine	0.7	mg/dL	(0.4	-	1.8)		
Phosphorus	4.0	mg/dL	(2.1	-	6.3)		
Calcium	9.2	mg/dL	(8.2	-	12.4)		
Sodium	138	mmol/L	LOW	(141	-	156)	
Potassium	4.3	mmol/L	(4.0	-	5.6)		
Chloride	106	mmol/L	(105	-	115)		
tCO ₂	14	mmol/L	LOW	(17	-	24)	
Anion Gap	23	(12	-	24)			
T. Protein	6.5	g/dL	(5.1	-	7.8)		
Albumin	3.3	g/dL	(2.5	-	4.0)		
Globulin	3.2	g/dL	(2.1	-	4.5)		
A/G Ratio	1.0	(0.6	-	1.6)			
ALT	79	U/L	(5	-	107)		
ALKP	232	U/L	HIGH	(10	-	150)	
GGT	2	U/L	(0	-	6)		
T. Bilirubin	0.1	mg/dL	(0.0	-	0.4)		
D. Bilirubin	0.0	mg/dL	(0.0	-	0.2)		
Cholesterol	201	mg/dL	(112	-	328)		

Tumačenje:

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Kod nomotopnih poremećaja stvaranja impulsa u srcu, impuls se stvara u:
 - a) U sino-atrijalnom čvoru*
 - b) U nishodnim centrima
2. Kod heterotopnih poremećaja stvaranja impulsa u srcu, impuls se stvara u:
 - c) U sino-atrijalnom čvoru
 - d) U nishodnim centrima*
3. Aktivna heterotopija nastaje ako je:
 - a) Očuvana aktivnost SA čvora*
 - b) Ako je rad SA čvora u potpunosti prekinut
4. Pasivna heterotopija nastaje ako je:
 - a) Očuvana aktivnost SA čvora
 - b) Ako je rad SA čvora u potpunosti prekinut*
5. Ekstrakardijalna sinusna tahikardija može nastati prilikom:
 - a) Šoka
 - b) Iskrvarenja
 - c) Dekompenzacije srčanih bolesti
 - d) Tokom febrilnog stanja
 - e) Sve navedeno je tačno*
6. Sinusna tahikardija se ljavlja pri:
 - a) povećanom intrakranijalnom pritisku
 - b) stimulaciji vagisa
 - c) febrilnom stanju*
 - d) hipotireozi
7. Intrakardijalna tahikardija:
 - a) Je uvek patološka*
 - b) Može biti fiziološka
8. Tokom tahikardije dolazi do:
 - a) Producenja trajanja dijastaze
 - b) Skraćeno trajanje dijastole komore*
 - c) Normalnog punjenja srca krvljem
 - d) Smanjenog punjenja srca krvljem i rada na prazno*
 - e) Srčane ishemije*
9. Na EKG nalazu tokom sinusne tahikardije dolazi do:
 - a) Skraćenja T-P intervala*
 - b) Producetka Q-T intervala

- c) Producetka P-R intervala
- d) Daje sliku ubrzanog pulsa*

10. Ekstrakardijalna sinusna bradikardija:

- a) Može biti fiziološka*
- b) Uvek patološka

11. Do sinusne bradikardije će dovesti sledeći poremećaji:

- a) Intrakranijalni tumori*
- b) Meningitis*
- c) Hipertireoza
- d) Tokom ileusa*
- e) Respiratorna acidoza
- f) Febra
- g) Kod bolesti pankreasa*
- h) Kod opstruktivnog ikterusa*
- i) Sve navedeno je tačno

12. EKG nalaz tokom sinusne bradikardije ima sledeće karakteristike:

- a) Značajno produženje T-P intervala uz pulsus rarus*
- b) Značajno produženje T-P intervala uz pulsus frequens
- c) Značajno skraćenje T-P intervala uz pulsus rarus
- d) Značajno skraćenje T-P intervala uz pulsus frequens

13. Kod supraventrikularnih sistola impuls nastaje:

- a) U SA čvoru
- b) U miokardu predkomora ili AV čvoru*
- c) U Hisovom snopu

14. Ritam bigeminus predstavlja:

- a) Pojava kada se posle tri sistole javi jedna ekstrasistola
- b) Pojava kada se posle tri ekstrasistole javi jedna sistola
- c) Pojava da se posle svake sistole javi po jedna ekstrasistola*
- d) Pojava da se posle dve normalne sistole javi jedna ekstrasistola

15. Kod supraventrikularne ekstrasistole postoji sledeći EKG nalaz:

- a) Promjenjen P zubac*
- b) Producem P-R interval
- c) Promjenjen komorni kompleks
- d) Nepromjenjen komorni kompleks*

16. Prilikom ekstrasistole predkomora mogu se naći znaci pozitivnog venskog pulsa na flebogramu.

DA*

NE

17. Pojava različite visine pulsog talasa na sfigmogramu nastaje kao posledica postekstrastistolne pauze.

- DA*
- NE

18. Kod atrioventrikularne ekstrasistole P zubac je najčešće negativan uz vrlo kratak P-R interval i normalan komorni kompleks.

- DA*
- NE

19. Paroksizimalna tahikardija:

- a) Javlja se konstantno i lagano prestaje
- b) Javlja se u napadima i brzo prestaje*

20. Posledica paroksizimalne tahikardije je Adams-Stoksov sindrom koji se karakteriše:

- a) Gubitkom svesti
- b) Ishemojom mozga
- c) Pojavom tonično-kloničnih grčeva
- d) Acidoznom komom
- e) Sve navedeno je tačno*

21. F talasi na EKG nalazu su karakteristični za:

- a) Paroksizimalnu tahikardiju
- b) Sinusnu bradicardiju
- c) Treperenje pretkomora*
- d) Ventrikularnu tahikardiju
- e) Lepršanje pretkomora*
- f) Treperenj komora

22. Zašto nastaje preautomatska pauza u pasivnoj heterotopiji?

23. Sino-atrijalna blokada trećeg stepena nastaje kada postoji:

- a) Usporeno provođenje impulsa u srcu
- b) Kada je prekinuto provođenje pojedinih impulsa
- c) Kada postoji prekid provođenja svih impulsa*

24. Razlikujemo 2 vrste AV-blokade, koji se nazivaju Mobik tip I i Mobik tip II, a podela je nastala na osnovu:

- a) Promene P-R intervala*
- b) Promene S-T intervala
- c) Promene QRS kompleksa

25. Kod AV bloka trećeg stepena na EKG-u se primećuje:

- a) Veći broj P zubaca koji nisu praćeni komornim kompleksom
- b) Postojeći komorni kompleksi su nešto izmenjeni i u pravilnim vremenskim razmacima
- c) P-R interval je nepravilan

d) Sve navedeno je tačno*

26. Tokom intra-ventrikularne blokade QRS kompleks je promenjen u smislu:

- a) Izmenjen amplitude
- b) Izmenjene dužine trajanja talasa
- c) Izmenjene amplitude i dužine trajanja talasa*

27. Endokrina hipertenzija javlja se kod:

- a) hipertireoze*
- b) hipotireoze
- c) hiperaldosteronizma*
- d) feohromocitoma*
- e) hipogonadizma

28. Glavni patogenetski faktor u srčanoj insuficijenciji je:

- a) hipoperfuzija miokarda
- b) smanjena kontraktilnost i snaga srčanog mišića*
- c) metabolički poremećaji u miokardu
- d) hiperkinetika i hipertrofija srčanog mišića
- e) smanjeno snabdevanje kiseonikom

29. Etiopatogenetski činioci srčane insuficijencije su:

- a) arterijska hipertenzija*
- b) poremećaj srčanog ritma*
- c) infarkt miokarda*
- d) hiperlipidemija
- e) hipokorticizam

30. U toku ishemije miokarda:

- a) smanjuje se funkcija Na-K pumpe*
- b) nagomilavaju se laktati*
- c) povećava se membranski potencijal
- d) povećava se sklonost depolarizacije u dijastoli*

31. U ishemiji miokarda od EKG promena najvažnije su:

- a) depresija ST segmenta*
- b) elevacija ST segmenta
- c) inverzija T talasa*
- d) pojava Q zubca

32. Dijastolno opterećenje srca javlja se kod:

- a) teške anemije *
- b) arterijsko-venske fistule*
- c) hipertireoze*
- d) plućne hipertenzije
- e) aortne insuficijencije*

33. Sekundarna hipertenzija je:

- a) hipertenzija nepoznatog porekla
- b) hipertenzija u nefropatiji prouzrokovanoj analgeticima*
- c) hipertenzija kojoj je uzrok poznat a lečenje uzročno*
- d) hipertenzija kod tumora bubrega koji luče renin*
- e) svi odgovori su tačni

34. Povećana simpatička aktivnost (autonomni nervni sistem) u arterijskoj hipertenziji:

- a) preko adrenalina i noradrenalina povećava ukupni periferni otpor*
- b) inhibira sistem renin angiotenzin aldosteron
- c) smanjuje nivo glikokortikoida u krvi
- d) smanjuje ukupni periferni otpor

35. Hipertrofija miokarda leve komore dovodi do:

- a) ventrikularnih aritmija i iznenadne srčane smrti
- b) smanjenju koronarne rezerve
- c) poremećajima sistolne i dijastolne funkcije srca
- d) koronarnoj insuficijenciji
- e) svi odgovori su tačni*

36. Komplikacije arterijske hipertenzije su:

- a) maligna hipertenzija
- b) cerebralna hemoragija*
- c) srčana insuficijencija*
- d) nefroskleroza*
- e) disekantna aneurizma aorte*

37. Hipertenzija u Cushing-ovom sindromu nastaje zbog:

- a) inhibicije sistema renin angiotenzin aldosteron
- b) preteranog stvaranja supstrata renina*
- c) smanjene osetljivosti krvnih sudova na presore
- d) povećanog lučenja glikokortikoida

38. Posledice insuficijencije levog srca su:

- a) ortopneja*
- b) nabrekle vene vrata
- c) kardijalna ciroza jetre
- d) Cheyne-Stokesovo disanje*
- e) dispneja*

39. Koji poremećaj hemodinamike postoji u mitralnoj stenozi:

- a) povećan pritisak u levoj predkomori*
- b) povećan pritisak u levoj komori
- c) pulsus celer et altus
- d) pulmonalna kongestija*

- e) povećan dijastolni pritisak u aorti
40. Insuficijencija desnog srca karakteriše se sledećim poremećajima:
- a) edemima*
 - b) hipotenzijom
 - c) plućnim edemom
 - d) želudačno-crevnim poremećajima*
 - e) porastom centralnog venskog pritiska*
41. Ekstrakardijalni kompenzatori mehanizmi kod srčane slabosti su:
- a) Povišenje tonusa simpatikusa
 - b) Zadržavanje natrijuma i vode
 - c) Odgovor na hipoksiju
 - d) Sve navedeno je tačno*
42. Koja EKG promena je ispravno povezana sa patofiziološkim poremećajem:
- a) visok i šiljat T zubac - hiperkalijemija*
 - b) elevacija ST segmenta - lezija miokarda*
 - c) deformacija QRS kompleksa - AV blok III stepena
 - d) P talas nezavisan od QRS kompleksa - lepršanje pretkomora
 - e) mnoštvo P zubaca 250-350/min - komorska ekstrasistola

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Poremećaj stvaranja impulsa u srcu
2. Nmotopni poremećaji stvaranja impulsa u srcu
3. Heterotopni poremećaji stvaranja impulsa u srcu
4. Mehanizam nastanka srčanih aritmija
5. Poremećaji provođenja impulsa kroz srce
6. Poremećaji funkcije miokarda
7. Vrste srčanog opterećenja
8. Srčana hipertrfija
9. Srčana slabost
10. Mehanizmi kompenzacije srčane slabosti
11. Dekompenzovana srčana slabost
12. Biomarkeri srčanog oštećenja i srčane insuficijencije
13. Poremećaj funkcije srčanih zalistaka
14. Ductus arteriosus Botalli persistens
15. Subaortna stenoza
16. Stenoza otvora a.pulmonalis
17. Patofiziologija perikarditisa
18. Patofiziologija šoka
19. Poremećaji arterijskog i venskog pulsa
20. Poremećaji srčanih tonova
21. Patofiziološka dijagnostika i interpretacija kardiovaskularnih poremećaja

PATOFIKOLOGIJA RESPIRATORNOG SISTEMA

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

Primarna uloga respiratornog sistema je u razmeni gasova. Ovaj proces je definisan alveolarnom ventilacijom (ubacivanjem i izbacivanjem vazduha iz pluća), perfuzijom (cirkulacijom krvi kroz mali krvotok) i difuzijom pluća (razmenom O₂ i CO₂ preko alveolarnog zida). Poremećaji respiratornih organa na osnovu navedenog dele na : poremećaje ventilacije (opstruktivne i restriktivne bolesti), poremećaje difuzije (promene vezane za alveo-kapilarnu membranu: zadebljanje membrane, smanjenje difuzijske površine zbog smanjenja alveolarnih prostora ili površine kapilara) i poremećaje perfuzije (vezani za pojavu plućnog edema, plućne hipertenzije, plućne embolije, infarkta pluća i hroničnog plućnog srca). Opstruktivne bolesti (ili bolesti disajnih puteva) se karakterišu povećanim otporom prema protoku vazduha zbog parcijalne ili potpune opstrukcije na bilo kom nivou respiratornog sistema. Restriktivne bolesti se karakterišu smanjenim širenjem plućnog parenhima i smanjenjem ukupnog plućnog kapaciteta.

U okviru procene funkcionalnog statusa respiratornog sistema najpre se primeti dinamika i karakteristike respiracije. Producena inspiratorna faza disanja ukazuje na lezije gornjih respiratornih puteva, obično laringsa i tracheje, restriktivnih bolesti pluća ili lezija koje zauzimaju pleuralnu šuplinu. Producena ekspiratorna faza disanja ukazuje na obstruktivne bolesti donjih disajnih puteva, kao što je hronična opstruktivna bolest pluća. Kašalj je sledeći simptom, koji je značajan u proceni lokalizacije promena u respiratornim organima. Jak, prodoran i eksplozivan kašalj u napadima ukazuje na oboljenja prednjih respiratornih organa. Slab kašalj, koji je učestao (kašljucanje) ukazuje na probleme u donjem respiratornom traktu (bronhiole, alveole). Svaki vid dispnee mora biti detaljno analiziran, jer dispnea može biti izazvana brojnim respiratornim, ali i ekstrarespiratornim uzrocima.

Funkcionalno ispitivnaje pluća obuhvata ispitivanje: pleuralnog izliva, sputuma, sprometrijska/volumetrijska ispitivanja, gasne analize krvi i pulsnu oksimetriju.

Pleuralni izliv nastaje kao odgovor plućnog tkiva na različite inzulte. Može biti u formi transudata ili eksudata, a za njegovu dijagnostiku se koristi Rivaltnina proba. Način izvođenja metode: U cilindar sa 100 ml destilovane vode se dodaju dve tri kapi acidum aceticum glaciale i dobro promeša. U ovu mešavinu se spusti iz pipete kap tečnosti, koja se ispituje i prati njen ponasanjan tokom spuštanja na dno cilindra. Ako se kap koja pada na dno suda zamuti u vidu dima onda je to eksudat; a ako zamućenja nema to je transudat. Zamućenje izaziva materija koja se zove seromucin, koje ima u eksudatu, ali ne i u transudatu. Dešava se da i transudat da pozitivnu reakciju, tako da je Rivaltnina reakcija orijentaciona. Druga metoda za ispitivanje pleuralnog izliva je aerometrija. Aerometrom se može odrediti specifična težina pleuralnog izliva, gde težina od preko 1,015 ukazuje na eksudat. Ovo proba je vrlo značajna, jer kod pojave eksudata postoji prisustvo inflamacije.

Ispitivanje sputuma podrazumeva ispitivanje na mikroorganizme, neoplastične i druge ćelije. Kvalitetniji materijal za ispitivanje jeste materija dobijena transtrahealnom aspiracijom ili bronhoalceolarnom lavažom. U sadržaju dobijenom transtrahealnom aspiracijom možemo primetiti mukopurulentnu inflamaciju (mukoidni materijal bazofilno obojen ili eozinofilno ako je zapaljenje jače). Bakterije se mogu videti kao intracelularne, posebno kod degenerisanih neutrofila. Ako postoji mukopurulentni nalaz obavezno treba staviti u uzorak u transportni

medijum i poslati na analizu patologu. Nepurulentne inflamacije daju visok procenat vidljivih makrofaga, eozinofila ili obe populacije. Diferencirani makrofagi ukazuju na prolongiranu inflamaciju, dok eozinofili dominiraju kod parazitskih i alergijskih procesa. Od ostalih ćelija primećuju se reaktivne epitelijalne ćelije, posebno kod mačaka, sa vidljivom bazofilnom citoplazmom i izraženim jedrom sa nukleolusima. Ove ćelije razlikovati od malignih ćelija. U postupku ispitivanju bioptata posmatra se prisustvo malignih ćelija. Često su vidljive i ćelije srčane greške, koje se odlikuju prisustvom velike količine hemosiderina u makrofagima.

Spirometrija je metoda za ispitivanje ventilacije pluća, koja je ključna za normalnu razmenu gasova. Pneumotahografija je metoda kod koje pacijent (posle postavljanja posebne maske) diše kroz cev poznatog prečnika, a aparat meri vreme protoka vazduha i električnim putem meri ukupni volumen vazduha koji je udahnut ili izdahnut. Na taj način se dobija krivulja, koja govori o odnosu protoka i volumena gasova. S obzirom, da se životinja ne može naterati da po želji diše forsirano, stimulacija se može vršiti fizičkim kretanjem (tredmil) ili aplikacijom lobelina (alkaloida koji stimuliše disanje). Direktnim putem može se izmeriti respiratorna frekvencija, respiratorni volumen, ventilacija (L/min), vrh ekspiratorne i inspiratorne linije (L/s) i respiratorna rezerva, što se radi u mirovanju i po stimulaciji. Ispitivanja su pokazala da kod goveda sa sniženim vrednostima vitalnog kapaciteta i maksimalne ventilacije posle stimulacije češće nastaju gubici usled respiratornih bolesti.

Za procenu hronične opstruktivne bolesti kod kopitara, koristi se ultrazvučna spiometrija i volumetrijska kapnografija. Volumetrijski kapnogram je grafik koncentracije izdahnutog CO₂ merenog u funkciji zapremine izdahnutog vazduha. Grafičko predstavljanje se naziva "dijagram CO₂ iz jednog daha" (SBD-CO₂ – single-breath diagram for CO₂). Ova metoda je ekonomična i neinvazivna.

Gasne analize krvi su ispitivanja arterijske i venske krvi. One se rade odmah nakon uzimanja krvi, a uzorak ne sme da bude u kontaktu sa vazduhom. Nakon dobijenih vrednosti analize dobijeni rezultat parcijalnog pritiska kiseonika i CO₂ se množi sa određenim korektivnim faktorima, koji zavise od vremena, koje je prošlo od momenta uzimanja krvi do same analize krvi. Parcijalni pritisak kiseonika (PO₂) određuje se Klarkovim principom, dok se parcijalni pritisak PCO₂ se određuje Severinghausovim principom. Dobijeni rezultati se koriste za analizu respiratorne insuficijencije pluća. Latentna respiratorna insuficijencija pluća se karakteriše normalnim PO₂ i PCO₂ u mirovanju, uz sniženje i izražen porast PCO₂ u naporu. Manifestnu respiratornu insuficijenciju karakteriše snižen PO₂ mirovanju, a PCO₂ je povišen ili normalan (kod parcijalne insuficijencije), dok se merenja u naporu ne vrše, zbog toga što mogu naškoditi pacijentu.

Stanje kardio-respiratorne insuficijencije je posebno zanimljivo kod konja i naziva se sipnja kod konja. Ova bolest je često skrivena mana konja i uzrok mnogih sudskeih sporova u kupoprodajnim ugovorima, te je zato i spominjemo u smislu edukacije naših studenata o metodama procene sipnje kod konja. Sipnja predstavlja otežano disanje kod konja, koje je uzrokovano hroničnim, neizlečivim bolestima ili patološkim stanjima u plućima i srcu i oni smanjuju radnu sposobnost konja u određenoj meri. Naziv sipnja se može zameniti rnativom dispnoja, što govori o bolesnom stanju i posebnom patološkom entitetu. Po uzroku sipnja može biti: plućna (uzroci – hronični alveolarni emfizem, hronični kataralni bronhitis, hronična pneumonija, a ređe i hronični pleuritis i različiti tumor), srčana (uzroci – hronična hipertrofija i hronična srčana dilatacija, insuficijencija zalistaka i stenoza otvora kao i bolesti miokarda) i mešovita (posledica funkcionalne povezanosti kardio-respiratornog sistema).

Procena na sipnju vrši se njegovom opservacijom: u mirovanju, u pokretu/radu i odmaranju posle kretanja/rada. Normalna frekvencija disanja je 10-14 udisaja u minuti. Kod

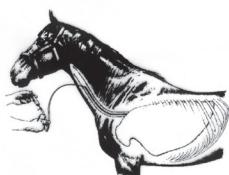
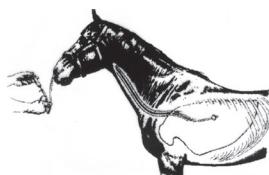
zdravih konja naviknutih na rad ona može da bude 40-80 u minutu, ali se tokom odmora od 5 minuta ove vrednosti smanjuju, a za 10-20 minuta vraćaju u fiziološke granice. Kod sipnje konja frekvenca disanja u mirovanju je oko 30, u radu 80-120/min., a u fazi odmora tek posle 30-60 minuta se vraća u vrednosti zabeležene pre početka rada. Značajno je napomenuti i kaudalno pomeranje kaudalne granice plućnog perkusionog polja. Zbog toga se primećuje i pomeran ictus cordis za 1-2 međurebarna polja i povećane srčane mukline. Frekvencija srčanog rada zdravih konja je 40-60/min., a pri radu do 100/min. Kod sipnje konja puls je ubrzan i posle umerenog kretanja iznosi 100-120/min., slabo je punjen, iregularan, uz često lupanje srca i prvi srčani ton često slabo izražen. Proba rada se vrši tri puta u razmaku od 1-2 dana. Životinja se izlaže fizičkom radu i svakih 5 – 30 minuta zaustavlja se fizički rad i meri puls, telesna temperatura i disanje. Nakon 30 minuta životinja se odmara (ili ranije ukoliko krenu jaki napadi sipnje uz obilno znojenje i sl., a da bi se sprečila ruptura pluća ili ugušenja od srčane slabosti). Za vreme odmora se uzimaju navedena tri nalaza (puls, temperatura, disanje, tj. trijas) i to 10., 20., 30. minuta, ali može i duže ukoliko postoji potreba.

Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Navedite na koje poremećaje ukazuje produženi inspirijum, a na šta produženi ekspirijum?

Zadatak 2: Navedite na koje kliničke znake ukazuje slab učestao kašalj i jak, eksplozivan kašalj?

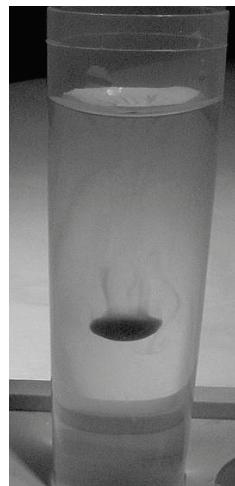
Zadatak 3: Na fotografiji je prikazana metoda bronhoalveolarne lavaže i transtrahealne aspiracije kod konja. Navedite razliku između ove dve metode i objasnite kada se koja primenjuje.



Zadatak 4: Navedeni su elementi značajni za diferencijalnu dijagnozu transudata i eksudata pleuralnog izliva. Navedite elemente značajne za diferencijalnu dijagnozu transudata od eksudata pleuralnog izliva.

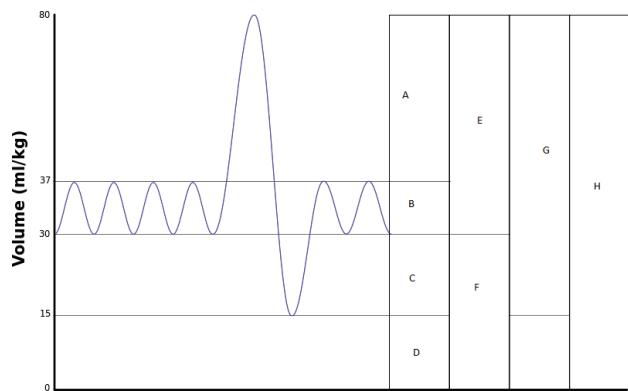
	Transudat	Eksudat
Izgled		
Obojenost		
Specifična masa		
Koncentracija proteina		
pH		
Prisusvo bakterija i ćelija		
Koagulacija		
Enzimi		
Seromucin		
Nastaje u okviru upale		

Zadatak 5: Na fotografiji je prikazana Rivaltina proba. Objasnite ovu metodu.



Zadatak 6: Opišite metodu spirometrije i njen dijagnostički značaj, nacrtaj ekspiracijsku krivulju protok-volumen i obeleži od čega zavise njeni elementi.

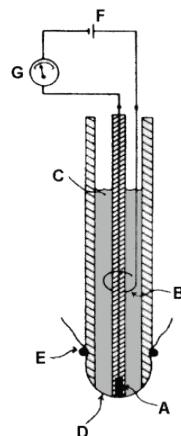
Zadatak 7: Na grafikonu je prikazan rezultat merenja respirastornih volumena. Obeleži nazive respiratornih volumena i objasni parametre značajne za izračunavanje Tifeneovog indeksa i navedi njegov dijagnostički značaj.



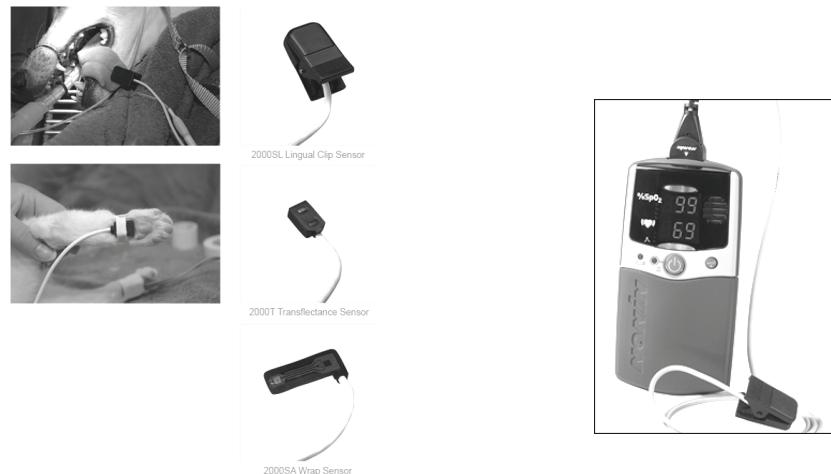
Zadatak 8: U tabeli su dati dijagnostički parametri koji se koriste za određivanje diferencijalne dijagnoze restriktivnih i opstruktivnih bolesti pluća. Popuni tabelu koristeći stelice (\downarrow -sniženo, \uparrow -povišeno) poštujući rezultate zadatih parametara.

	Opstruktivna	Restriktivna
Disajni vol.		
Ekspirijumski rez.vol.		
Inspirijumski rez.vol		
Vitalni kapacitet		
Tifnoov.ind.		
Frekvencija disanja		
Minutni vol.ventilac.		
Maksimalni disajni kapac.		
Disajna rezerva		

Zadatak 9: Na šemici je prikazana Klarkova eletroda. Opiši njenu upotrebu i princip rada.



Zadatak 10: Na slici je prikazan pulsni oksimetar i nečin njegove upotrebe. Navedite svrhu upotebe ovog aparata.



Zadatak 11: Navedite za šta se koriste gasne analize krvi i koji je dijagnostički značaj tih parametara?

Zadatak 12: Na slici je prikazana tredmil mašina i njena primena kod životinja. Navedite prednost korišćenja tredmila u proceni funkcionalnog statusa kardio-respiratornog sistema?



Zadatak 13: Odnos ventilacije i perfuzije u proceni plućne funkcije

Zadatak 14: Kliničke indikacije za pregled respiratornog sistema

Zadatak 15: Pregled pleuralnog izliva, diferencijalna dg.transudata i eksudata

Zadatak 16: Mala spiometrija i diferencijalna dijagnoza opstruktivnih i restriktivnih bolesti pluća

Zadatak 17: Gasne analize krvi – diferencijalna dijagnoza

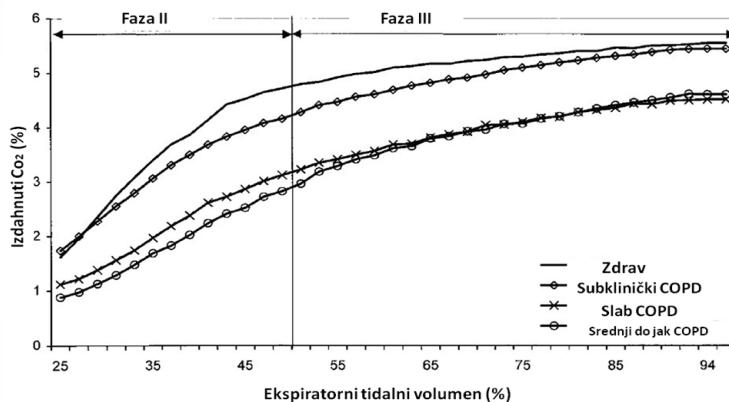
Zadatak 18: Ispitivanje i patofiziološka procena sipnje kod konja

Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj 1:

Dijagnoza: Hronična opstruktivna bolest pluća (COPD)

Na dijagramu su prikazani rezultati ultrazvučne spiometrije zdravih konja i konja sa različitom težinom COPD-a (hronična opstruktivna bolest pluća). Meren je respiratorični volumen i volumen CO₂. Njihov međusodni odnos dat je na dijagramu. Objasni dobijene rezultate.



Tumačenje:

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Hemoptysis je:

- a) Nakupljanje krvi u pleuralnoj duplji
- b) Pojava sputuma sa primesama krvi*
- c) Nakupljanje krvi u alveolama pluća
- d) Oštećenje bronha

2. Nervnu kontrolu ventilacije čine:

- a) Apneustički centar
- b) Pneumotaksični centar
- c) Dorzalna respiratorna grupa
- d) Ventralna respiratorna grupa
- e) Sve navedeno je tačno*

3. Mehanička kontrola ventilacije odvija se pomoći tri vrste receptora i to su:

- a) Iritantni receptori
- b) Streč receptori
- c) J receptori
- d) Sve od navedenog je tačno*
- e) Ništa od navedenog nije tačno

4. Centralni hemoreceptori informaciju o promeni koncentracije vodonikovih jona, parcijalnog pritiska gasova krvi dobijaju preko:

- a) Direktno iz krvi
- b) Preko perifernih nerava i njihovih medijatora
- c) Preko pH vrednosti cerebrospinalne tečnosti*

5. Hipoventilacija se karakteriše:

- a) Sniženjem respiratornog volumena i smanjenjem frekvence disanja*
- b) Sniženjem respiratornog volumena i povećanjem frekvence disanja
- c) Povećanjem respiratornog volumena i smanjenjem frekvence disanja
- d) Povećanjem respiratornog volumena i povećanjem frekvence disanja

6. Komplikacija hipoventilacije je:

- a) Respiratorna alkaloza
- b) Respiratorna acidoz*
- c) Cerebralni edem*
- d) Cor pulmonale*
- e) Smanjenje sekrecije eritropoetina
- f) Hipokalemija
- g) Srčane aritmije*

7. Hiperkapnija je:

- a) Povećanje parcijalnog pritiska CO₂ u arterijskoj krvi*
- b) Smanjenje parcijalnog pritiska CO₂ u arterijskoj krvi
- c) Povećanje parcijalnog pritiska O₂ u arterijskoj krvi
- d) Smanjenje parcijalnog pritiska O₂ u arterijskoj krvi

8. Hipoksemija je:

- a) Povećanje parcijalnog pritiska CO₂ u arterijskoj krvi
- b) Smanjenje parcijalnog pritiska CO₂ u arterijskoj krvi
- c) Povećanje parcijalnog pritiska O₂ u arterijskoj krvi
- d) Smanjenje parcijalnog pritiska O₂ u arterijskoj krvi*

9. Nabroj četiri vrste hipoksemije: _____.

10. Anemijska hipokscija vezana je za:

- a) Nedovoljne količine Hb u krvi
- b) Methemoglobinemiju
- c) Trovanje ugljen-monoksidom
- d) Sve navedeno je tačno*

11. Na hipoksiju je najosetljivije:

- a) Srce
- b) Jetra
- c) Organi CNSa*
- d) Bubrezi

12. Cijanoza nastaje kada je:

- a) Količina deoksigenisanog Hb 50g/L i ukupna koncentracija Hb smanjena
- b) Količina deoksigenisanog Hb 50g/L i ukupna koncentracija Hb povišena
- c) Količina deoksigenisanog Hb 50g/L bez obzira na ukupnu koncentraciju Hb*

13. Za hiperventilaciju je tačno:

- a) Nastaje kod povećane frekvencije disanja i povećanja respiratornog volumena*
- b) Dovodi do porasta pCO₂
- c) Dovodi do respiratorne alkaloze*
- d) Može se javiti kao kompenzacija metaboličke alkaloze
- e) U metaboličkoj acidozni hiperventilacija nije praćena poremećajem koncentracije O₂ i CO₂*

14. U opstruktivne bolesti pluća spadaju:

- a) Astma*
- b) Pleuritis
- c) Pneumotoraks
- d) Hronični bronhitis*
- e) Neuromiščni poremećaji respiratornih organa
- f) Emfizem pluća*
- g) Poremećaj zida grudnog koša

15. U poremećaje brzine disanja spadaju:

- a) tahipneja*
- b) bradipneja*
- c) hiperpneja
- d) hipopneja

16. Poremećaji dubine disanja su:

- a) tahipneja
- b) hipopneja*
- c) bradipneja
- d) oligopneja
- e) hiperpneja*

17. Poremećaji disajnog volumena su:

- a) tahipneja
- b) hipoventilacija*
- c) bradipneja
- d) hiperventilacija*
- e) hipopneja
- f) hiperpneja

18. Kusmaulovo disanje:

- a) karakteriše produbljeno i ubrzano disanje*
- b) karakteriše vremenski pravilna pojava povremene apneje
- c) se odlikuje porastom ventilacije*
- d) javlja se kod acidoze, dijabetične kome, uremije*
- e) javlja se kod kraniocerebralnih povreda i tumora N

19. Opstruktivni sindrom karakteriše:

- a) smanjen FEV1 i smanjen FVC*
- b) smanjen FEV1 i povišen FVC
- c) povišen FRC i povišen RV *
- d) snižen FRC i snižen RV

20. Opstruktivni sindrom karakteriše:

- a) smanjen VC*
- b) povišen VC

- c) normalan VC
- d) smanjen Tiffenau indeks*

21. Restriktivni sindrom karakteriše:

- a) smanjen VC*
- b) povišen VC
- c) smanjen FEV1*
- d) povišen FEV1
- e) smanjen Tiffenau indeks
- f) povišen Tiffenau indeks
- g) normalan Tiffenau indeks*

22. Tipovi respiratorne insuficijencije su:

- a) hipoksemija bez hiperkapnije*
- b) hipoksemija sa hiperkapnijom*
- c) ventilaciono-perfuziona insuficijencija
- d) ventilaciono -hipoksemička insuficijencija*
- e) perfuziono -hipoksemička insuficijencija

23. Hronični plućni emfizem karakteriše:

- a) distenzija i hiperinflacija pluća*
- b) gubljenje elastičnosti pluća *
- c) porast elastičnosti pluća
- d) porast RV*
- e) sniženje RV
- f) snižen VC*
- g) povišen VC

24. Bronhijalna astma se karakteriše:

- a) napadima reverzibilne bronhijalne opstrukcije*
- b) edemom i hipersekrecijom sluzi*
- c) iskašljavanjem krvavo-gnojavog ispljuvka
- d) gušenjem i sviranjem u grudima*

25. Akutno plućno srce karakteriše:

- a) hipertrofija i dilatacija desnog srca*
- b) plućna hipertenzija*
- c) plućna opstrukcija
- d) plućna hipertenzija*
- e) insuficijencija desnog srca*

26. Opstrucijski oblik poremećaja ventilacije nastaje usled:

- a) kontrakcije glatke muskulature bronhija,*
- b) deformacije skeleta grudnog koša,
- c) smanjenog lučenja sluzi male viskoznosti,
- d) edema sluznice disajnih puteva,*
- e) poremećaja funkcije respiratornog centra.

27. Plućni edem karakterišu i sledeći patofiziološki poremećaji:

- a) postoji izrazita dispneja i tahipneja,*
- b) opstrukcija malih disajnih puteva je izazvana pojačanim izlučivanjem i nagomilavanjem guste i žilave sluzi,
- c) kapilarni pritisak u plućima je uvek povišen,
- d) pojačano je stvaranje surfaktanta,
- e) zbog prepunjenoosti alveola ekstravaskularnom tečnošću, kašljavanje penušastog i sukrvičavog ispljuvka.*

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Kontrola alveolarne ventilacije i disajni volumeni
2. Klinička patofiziologija i simptomatologija respiratornog sistema
3. Kvantitativni poremećaji disanja
4. Kvalitativni poremećaji disanja
5. Periodični i paradoksalni tipovi disanja
6. Hipoventilacija
7. Hiperventilacija
8. Perfuzija, ventilacija i difuzija pluća
9. Patofiziologija opstruktivnih bolesti pluća – opšte osobine i podela
10. Patofiziologija restriktivnih bolesti pluća – opšte osobine i podela
11. Bronhijalna astma i hronični opstruktivni bronhitis
12. Emfizem pluća
13. Plućna atelektaza
14. Bolesti pleure
15. Bolesti plućnog parenhima
16. Plućni edem

PATOFIJOLOGIJA GASTROINTESTINOGLA SISTEMA – DIGESTIVNI TUBUS, JETRA I PANKREAS

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

U veterinarskoj praksi najviše su zastupljeni poremećaji funkcije i bolesti alimentarnog trakta. Posmatranjem poremećaja svih sistema može se zaključiti da skoro svaki od njih u nekoj određenoj fazi ispoljava i poremećaje vezane za gastrointestinalne organe i regulaciju apetita. Sa druge strane, poremećaji funkcije digestivnih organa veoma brzo dovode do promena i na nedigestivnim organima. Zbog svega navedenog, značajno je poznavati metode za procenu finkcionalnog statusa želuca, creva, predželudaca, jetre i egzokrinog pankreasa.

Poremećaj funkcije želuca ispoljava se u poremećaju motorike (hipermotilitet, hipomotilitet i atonija) ili poremećaju stvaranja želudačnog soka (hipersekrecija, hiposekrecija i achylia gastrica).

Hipomotilitet prestavlja usporeno pražnjenje želuca u duodenum. Ono nastaje kao posledica inflamacija, poremećaja metabolizma (hipokalijemija i hiperkalcemija, endokrini poremećaji, kao što su hipotireoza, dijabetes melitus i hipoadrenokorticizam) i davanja lekova kao što su antiholinergici, opijati i β -adrenergički agonisti. Posledica hipomotiliteta je nagomilavanje sadržaja u lumenu želuca, dehidracija, hemokoncentracija, metabolička alkalozra i jak abdominalni bol. Pod atonijom se podrazumeva potpuni gubitak tonusa želuca, gubitak peristaltike i refleksa na povraćanje. Može biti posledica opšte anestezije, povrede vagusa, kompresije duodenuma, spazma pilorusa ili opstrukcije creva. Atoniju želuca prati nemogucnost pražnjenja želuca. Hipermotilitet želuca je najčešće jatrogenog porekla. Ubrzano pražnjenje želuca nastaje kod davanja lekova (metoklopramid) koji stimulišu njegovu peristaltiku.

Dijagnostika poremećaja motiliteta želuca vrši se radiografskim metodama, posle sukcesivnog snimanja pacijenta koji je uneo barijum kao kontrastno sredstvo. Smatra se da u zavisnosti od vrste hrane sadržaj iz želuca u potpunosti pređe u duodenum za 2-3 sata, osim partikula manjih od pola milimetra, koje mogu znatno brže ući u duodenum. Pasaža čije trajanje nije u pomenutom vremenskom intervalu uz prisustvo znakova drugih bolesti ukazuje da se radi o poremećaju motiliteta.

Hipersekrecija je lučenje želudačnog soka koje nije uvek praćeno aktivacijom fizioloških regulatornih mehanizama i koje se prevashodno javlja u vreme kada bi kod životinje trebala da postoji samo bazalna sekrecija. Hipersekrecija je praćena pojačanim lučenjem pepsinogena, hiperhlorhidrijom i posledičnim hiperaciditetom želudačnog sadržaja. Patogenetski mehanizmi hipersekrecije hlorovodončne kiseline (HCl) leže u: povećanju koncentracije gastrina, povećanju koncentracije kortikosteroida i povećanju koncentracije histamina. Hiposekrecija je smanjenje zapremine izlučenog želudačnog soka u periodu kada su žlezde sluznice želuca stimulisane na maksimalnu sekreciju. Praćena je smanjenjem lučenja pepsinogena i hipohlorhidrijom, odnosno hipoaciditetom želudačnog sadržaja. Ovaj poremećaj se javlja kod hroničnog atrofičnog gastritisa. Potpuni nedostatak lučenja želudačnog soka naziva se Achylia gastrica.

Poremećaj lučenja želudačnog soka dijagnostikuje se određivanjem slobodne hlorovodončne kiseline, određivanjem ukupnog aciditeta ili određivanjem bazalne sekrecije lučenja HCl (pogledati metode u 3. poglavljju). Pored metoda za određivanje bazalne sekrecije postoje i metode kojima se ispituje odgovor koji nastaje posle stimulacije sekrecije, a da bi se

odredio maksimalno izlučivanje želudačne kiseline. Stimulacija lučenja želudačnog soka se može vršiti histaminom ili insulinom.

Nedostatak slobodne HCl se naziva ahlorhidrija, a javlja se prilikom propadanja i razaranja parijetalnih ćelija. Ako u želudačnom soku ima manje HCl od normalne vrednosti, dolazi do pojave hipohlorhidrije. Povećanu vrednost bazalne sekrecije (kod ljudi preko 5 mmol/h) nalazimo kod obolelih od duodenalnog ulkusa i hiperparatiroidizma, dok vrednosti preko 15 mmol/h nalazimo kod Zollinger-Ellisonovog sindroma (gastrinom sa upornim recidivima ulkusne bolesti i hipersekrecijom, a uzrok je tumor koji se nalazi u gušteraci i luči gastrin). Smanjeno lučenje HCl utvrđeno je kod atrofičnog gastritisa i karcinoma želuca i kod većine obolelih od želudačnog ulkusa. Kod ahilije nedostaje HCl, unutrašnji činilac i pepsinogen.

Određivanje poremećaja lučenja želudačnog soka izazvane gastrinom vrsi se standardnim kitovima, posle uzimanja krvi. Indikacije su: hronično povraćanje, intemitentna dijareja, progresivan gubitak telesne mase, pojava melene, hemameteze i abdominalnog bola.

Poremećaj funkcije predželudaca kod preživara se manifestuje u nastanku indigestija buraga (kisela, bazna, penušavo vrenje) i dislokacije sirišta kao i drugih manje zastupljenih poremećaja.

Posle uzimanja buražnog sadržaja vrši se ispitivanje njegovih fizičko-hemijskih osobina u cilju procene funkcionalnog statusa buraga. Fizičke osobine buragovog sadržaja su: boja, miris, konzistencija i pH. Boja: Ovaj sadržaj može biti u sledećim bojama. Normalno je tamno siva, tamno maslinasta ili zeleno-crna. Zeleno-crna boja je znak truležnih procesa ili staze buražnog sadržaja. Svetlo siva, mlečna boja se može zapaziti kad se životinja prejeda sa zrnastom hranom. Miris: Miris je normalno aromatičan. Truležan miris srećemo kod staze buragovog sadržaja ili raspadanja belančevina (bazna indigestija). Kiseo miris srećemo kod životinja koje su se prejele žitarica. Normalna konzistencija je viskozna, sa često izraženom tegljivošću. Ukoliko postoji prisustvo pene, to ukazuje na patološki proces. Normalna vrednost pH je 6,2-7,2. Vrednosti iznad normalnih ukazuju na baznu indigestiju i truležne procese, a vrednosti ispod normalnih su znak kisele indigestije. Ukoliko se javi vrednost pH ispod 5 proces kisele indigestije postaje ireverzibilan.

Nakon inspekcije može se vršiti sedimentacija i flotacija buražnog sadržaja. Sveže uzet sadržaj pomoću sonde treba procediti kroz grubo sito. Tako prodejen sok treba sipati u stakleni sud (široka epruveta, menzura) i posmatrati u uspravnom položaju. Nakon formiranja sistema sitnije partikule sadržaja, koje plutaju u gornjem sloju tečnosti, počinju polako da se spuštaju na dno. Partikule iz donjih slojeva se zajedno sa mehurućima penju na gore, a grublje končaste partikule formiraju sloj na površini. Ovaj proces traje 5-10 minuta. Kod gladovanja, pothranjivanja i indigestija zapaža se vrlo brza sedimentacija i spora flotacija. Vrlo brza flotacija uz stvaranje penušavog sadržaja javlja se kod naduna.

U proceni funkcionalnog statusa buraga sledeći značajan korak je pregled infuzorija. U buragovom sadržaju se nalazi više desetina vrsta protozoa, a u jednom ml buragovog soka ima 10^6 infuzorija. Veličina infuzorija je od 20 do 200 mikrona, te se dela na: male, srednje i krupne. U zavisnosti od broja i veličine infuzorija procenjujemo funkcionalni status buraga. Postupak procene infuzorija: Uzima se kap buražnog soka i stavi na predmetno staklo. Poklopi se ljuspicom i posmatra pod malim uvećanjem 80-100x. Dobijeni rezultati se obeležavaju sa - , +, ++, +++, u zavisnosti od sadržaja infuzorijama. Da bi posmatranje bilo urađeno ispravno, treba malo ugrevati preparat na plameniku ili održavati 30°C, jer se stavljanjem na predmetno staklo infuzorije brzo umire, te nije moguće obaviti pregled. Pri posmatranju treba uočiti broj progresivno pokretljivih i nepokretnih-odumrlih infuzorija. Kod poremećenog varenja iz buražnog soka najpre isčezavaju krupne infuzorije, zatim srednje, dok se sitne gube poslednje.

Kod acidoze ili alkaloze buraga, infuzorije mogu brzo nestati. Novija istraživanja pokazuju da je punjenost infuzorija glikogenom (posle bojenja Lugolovim rastvorom) pokazatelj energetskog statusa kod mlečnih krava.

Hemiske karakteristike buragovog sadržaja i njihovo određivanje opisane su u poglavlju 3. kroz posebno odabране metode.

Ispitivanje funkcionalnog statusa creva se vrši prilikom postojanja sindroma vezanih za tanka creva: sindrom malresorpcije, dijareje, konstipacija i opstipacija, zapaljenje creva, meteorizam i neprohodnost creva.

Pri dijagnostici dijareja neophodno je ispitati da li je dijareja poreklom iz tankih ili debelih creva. Dijareja iz tankih creva ima sledeće osobine: značajno uvećana zapremina fecesa, retko prisustvo sluzi, odsustvo hematohezije, prisustvo steatoreje i nesvarenih delova hrane, odsutnost hitnosti u defekaciji, povećana frekvenca defekacije, odsutnost dishezija, mršavljenje, povraćanje (eventualno). Dijareja iz debelih creva ima sledeće osobine: normalnu ili neznatno povećanu zapreminu fecesa, česta prisutnost sluzi, odsutnost melene, česta prisutnost hematohezije, bez steatoreje i tragova nesvarene hrane, prisutnost hitnosti i tenezama, viša frekventnost defekacije, prisutnost dishezije i izuzetno retka izraženost gubitka telesne mase i povraćanja.

Testovi za dijagnostiku poremećaja funkcije tankih creva i egzokrinog pankreasa i jetre zasnivaju se na činjenici da se pojedine materije apsorbuju iz creva u nepromenjenom obliku zbog funkcije crevnih enzima ili mikrobne flore.

Test opterećenja D-ksilozom se zasniva na principu da se D-ksiloza, kao pentoza apsorbuje difuzijom u duodenumu i jejunumu, bez obzira na funkcionalni status jetre i pankreasa. Oko 20% unete količine izlučuje se putem mokraće i ta količina je proporcionalna koncentraciji u serumu. Za utvrđivanje koncentracije ksiloze radi se klasična fotometrijska metoda u tri peruvete (proba, kontrola, standard) sa p-brom anilin reagensom. Koncentracija ksiloze u krvi se određuje pre hranjenja, zatim 30, 60, 90 i 120 minuta nakon peroralnog davanja 0,4 g ksiloze na kilogram telesne mase. Najviši nivo ksiloze, iznad 60 mg/dl, kod normalnih pasa dobija se nakon 60 do 90 minuta, dok je nivo ksiloze u krvi kod malapsorpcije mnogo niži.

Digestivna i apsorbtivna uloga creva se procenjuje *testom opterećenja skrobom* (STT – skrob tolerans test), jer se skrob pod dejstvom amilaze razlaže do glukoze i u tako se apsorbuje. Određivanjem glikemije tokom STT testa dobija se uvid u poremećaj pomenutih funkcija. Ovaj test je pozitivan u smanjenoj amilolitičkoj aktivnosti digestivnih sokova, kao posledica napredovale insuficijencije pankreasa (hronični pankreatitis, karcinom pankreasa).

Za procenu intestinalne apsorpcije vitamina B12, koja se obavlja u terminalnom delu ileuma, a za šta je potreban i unutrašnji faktor iz želuca koristi se *Šilingov test*. Nedostatak unutrašnjeg faktora dovodi do megaloblasne anemije i nervnih poremećaja. Reakcija se zasniva na per os aplikaciji vitamina B12 obeleženog radioaktivnim izotopom Co-57. Pošto je vitamin B12 hidrosolubilan, višak koji se u organizmu formira posle aplikacije izlučuje se putem bubrega. Ukoliko je smanjena reapsorpcija vitamina iz creva, biće smanjena i njegova količina u mokraći. Test pruža mogućnost procene efikasnosti apsorpcije i lokalizacije patološkog procesa. Nivo folata u krvi ukazuje na stepen apsorpcije u proksimalnom delu jejunuma, a nivo kobalamina ukazuje na stepen apsorpcije u distalnom delu ileuma. Vrednosti ova dva testa mogu biti promenjene kod prerastanja bakterijske flore: nivo folata u krvi je veći usled pojačane bakterijske sinteze, dok je nivo kobalamina manji, obzirom da bakterije vezuju vitamin B12 sprečavajući njegovu apsorpciju. Postupak izvođenja metode: životinji se per os daje kapsula vitamina B12 sa radioaktivnim elementom našte i skuplja se urin u toku 24h. Dva sata nakon aplikacije kapsule, aplikuje se 1mg običnog vitamina B12. Sutradan (nakon 24 h od početka) se donosi urin na

analizu. Standard za upoređivanje radioaktivnosti se postiže rastvaranjem kapsule u 200 ml vode i merenjem radioaktivnosti.

Nitrozonafol test zasniva se na pojavi da u uslovima prerastanja bakterijske flore creva, bakterije povećano koriste nitrozonafol, dovodeći do njegovog metabolizovanja i povećanja ekskrecije preko bubrega. Za ovo ispitivanje postoji komercijalni reagens za brzu detekciju parahidroksifenil-acetata u urinu (bojena reakcija), koja predstavlja produkt bakterijske razgradnje tirozina u crevima.

Test opterećenja sa mastima je sledeći test koji se koristi za procenu funkcionalnog statusa creva i egzokrinog pankreasa i jetre (žuči). Izvodi se nakon gladovanja preko noći, kada se per oralno se daje 6 ml/kg Lipomala ili običnog kuhinjskog ulja. Nakon 2 - 3 h uzima se krv i procenjuje zamašćenost seruma. Ako je apsorpcija normalna, krvna plazma će biti zamućena – lipemična. Pored navedenog, masti se mogu određivati i u stolici, mada je metoda tehnički teško izvrdljiva, jer feces treba sakupljati nekoliko dana.

BT-PABA apsorpcioni test se koristi za merenje aktivnosti pankreasnog himotripsina i pokazatelj je hroničnog pankreatitisa. Način izvođenja testa: BT-PABA (n-benzoyl-l-tryosyl-p-aminobenzojeva kiselina) se aplikuje peroralno u količini od 50 mg/kg, himotripsin hidrolizuje peptidnu komponentu kojom se oslobađa i apsorbuje PABA, a tokom 6 časova ona se izlučuje preko bubrega. Ukoliko se paraaminobenzojeva kiselina traži u krvi, uzorci krvi se uzimaju na 0, 30, 60, 90, 120 i 150 minuta nakon peroralne aplikacije reagensa, a ukoliko se traži u urinu, urin se sakuplja tokom 6 h. U normalnim okolnostima nakon 60 do 90 minuta od davanja BT-PABA nivo PABA u krvi je obično veći od 10 mikrograma u mililitru plazme.

Mikroskopski pregled stolice na svarljivost hrane je pregled dela stolice na mikroskopskoj pločici posle uočavanja nesvarenih delova hrane. Test se izvodi na tri pločice. Pločica sa fiziološkim rastvorom (nativni preparat) se koristi za traženje mišićnih i nesvarenih vezivnih vlakna koja su vidljiva kada želudačno varenje nije dovoljno (jer samo želudačni sok može primarno da razori pomenuta vlakna). Pločica sa Sudanom III se koristi za pregled na prisustvo masti. Neutralne masti se boje narandžasto-crveno, a kristali masnih kiselina ostaju neobojeni. Pojava većeg broja ovih kapljica ukazuju na steatoreju i druge poremećaje koji utiču na apsorpciju masti. Pločica sa Lugolom se koristi za posmatranje prisustva ovalnih zrna skroba, koji su plavkaste boje. Pojava nesvarenog skroba naziva se amiloreja.

Ispitivanje funkcionalnog statusa jetre i pankreasa

Jetra ima brojne uloge u organizmu, koje se mogu podeliti na: uloga u metabolizmu bilirubina, detoksifikaciji, kao i brojne biosintetske uloge i uloge u metabolizmu. Ova podela je korisna sa aspekta poremećaja funkcije jetre, obzirom da većina bolesti jetre daje neke od navedenih znakova: poremećaj opšteg zdravlja, ikterus, anemija, disproteinemije i dislipidemije. U procesu dekompenzacije nastaje i ascites, endokrinološki poremećaji i hepatična koma.

Ikterus/žutica nastaje retencijom konjugovanog ili nekonjugovanog bilirubina. Vrstu žutice određuje odnos nekonjugovanog bilirubina i konjugovanog bilirubina u krvi. Prehepatička ili hemolitička žutica nastaje u hemolitičkim stanjima kada razgradnja eritrocita i oslobađanje bilirubina u ćelijama RES-a prevazilazi kapacitete jetre za njegovo preuzimanje. Hiperbilirubinemija je posledica povećanja koncentracije nekonjugovanog bilirubina u krvi. Hepatička ili hepatocelularna žutica je najčešći oblik žutice, koji nastaje pod dejstvom raznih etioloških agenasa, koji dovode do neposrednog oštećenja jetre. Kao posledica otežanog izlučivanja već konjugovanog bilirubina javlja se holestaza koja se karakteriše stazom žuči u intrahepatičkim žučnim kanalima, usled čega dolazi do regurgitacije žuči u krvotok.

Ekstrahepatička ili opstruktivna žutica nastaje u slučaju parcijalne ili potpune opstrukcije glavnih žučnih puteva. Kod pasa i mačaka se ne javlja često, mada je opisano više slučajeva, najčešće kao posledica spoljašnje kompresije žučnih puteva tumorima, opstrukcije holelitima i kod nekih upala i striktura žučnih puteva i duodenuma.

Kao posledica poremećene sinteze proteina, skraćenog života eritrocita, zbog hipersplenizma ili teških gastrointestinalnih krvarenja i portne hipertenzije nastaje anemija uz koju se najčešće javlja i promena u broju leukocita i trombocita.

Ascites primarno nastaje kao poremećaj ravnoteže između intravaskularnog (v. porte) i intersticijalnog prostora (tečnost u peritonealnoj duplji). Osnovni činioci poremećaja hidrostatskog i onkotskog pritiska su portna hipertenzija i hipoalbuminemija. Ascites najčešće nastaje u slučajevima istovremenog razvoja hipoalbuminemije i portne hipertenzije. Hepatička portna hipertenzija je izazvana intrahepatičkim poremećajima koji ometaju cirkulaciju u sinusoidima - najčešće kao posledica difuzne fibroze jetre, hroničnog hepatitisa, lipidoze, tromboze vena unutar jetre, zastoja žuči, neoplazmi, itd. Hipoalbuminemija u prvom redu nastaje kao posledica insuficijencije jetre. Prehepatička portna hipertenzija je izazvana poremećajima portnog krvotoka presinusoida i može da nastane usled kompresije ili tromboze portne vene i njenih ograna i usled arterijsko-venskih malformacija. Posthepatička portna hipertenzija nastaje kao posledica poremećaja u predelu vene hepatike, kaudalne šuplje vene ili srca. Tako, na primer, do sekundarnih smetnji u portnoj cirkulaciji može da dođe kod insuficijencije srca, konstriktornog perikarditisa, tamponade srca, opstrukcije vene kave kaudalis tumorima ili trombima, tromboze vene hepatike, itd.

Hepatična encefalopatija nastaje zbog nemogućnosti jetre da preuzme i neutrališe toksične produkte iz portne krvi. Do ove pojave dolazi kod teških oštećenja jetrinog parenhima kada hepatociti nisu u stanju da neutrališu preuzete toksine, ili kod porto-kavalnih šantova kada portna krv sa toksinima apsorbovanim u crevima zaobilazi jetru. Osnovni mehanizam nastanka ove pojave je vezan za sledeći mehanizam: toksini iz intestinalnog trakta portnim krvotokom kroz jetru ili zaobilazeći jetru dospevaju u sistemski krvotok. Najvažniji toksini koji se javljaju su amonijak i kratkolančane masne kiseline.

Najčešće bolesti pankreasa su: pankreatitis (akutni i hronični), insuficijencija egzokrinog pankreasa i neoplazme pankresa. Nije dovoljno ispitano gde primarno nastaju patološke promene na pankreasu tokom zapaljenskog procesa (na endotelu krvnih sudova pankreasa, na acinusnim ćelijama ili ćelijama izvodnih kanala), ali bez obzira na tok ovog procesa krajnji ishod je autoliza pankreasa. U kliničkoj slici pankreatitisa dominira bol u epigastrijumu, anoreksija, depresija, povraćanje, hipertermija, eventualno krvav proliv, teška dehidracija, ikterus i šok, dok u prolongiranim i hroničnim upalama nastaju i nervni poremećaji, anemije, steatoreja, mršavost, promene na koži i drugo.

U ispitivanju funkcionalnog statusa **jetre** vrši se određivanje i analiza **hepatograma**. Hepatogram se sastoji od nekoliko jetrinih profila, koji zajedno čine neki od hepatičnih sindroma: sindrom zapaljenske reakcije, sindrom bilijarne retencije, sindrom insuficijencije hepatocita i sindrom nekroze hepatocita.

Sindrom zapaljenske reakcije podrazumeva opšte principe za dijagnostiku zapaljenskog procesa: određivanje leukograma, sedimentacije krvi, gama globulina i dr. Navedeni nalazi su nespecifični.

Sindrom bilijarne retencije obuhvata određivanje: koncentracije ukupnog i direktnog bilirubina u krvi, koncentracije urobilinogena u krvi, koncentracije žučnih boja u mokraći i fesesu, koncentracije holesterola u krvi, serumska aktivnost AP i GGT i test ekskrecije bromsulfaleina.

Parametri koji ukazuju na smanjenje pojedinih funkcija jetre (sindrom insuficijencije jetre) su: koncentracija albumina u krvi, koncentracija amonijaka u krvi, koncentracija proteinskih faktora koagulacije krvi, protrombinsko vreme, ekskrecija bromsulfaleina, koncentracija holesterola i žučnih kiselina u krvi.

Parametri koji ukazuju na nekrozu jetrinog parenhima (sindrom nekroze hepatocita) odgledaju se u aktivnosti sledećih enzima: Alanin aminotransferaza (ALT), Asparat aminotransferaza (AST), Izocitrat dehidrogenaza (ICD), Sorbitol dehidrogenaza (SDH), Ornitin-karbamil transferaza (OCT), Laktat dehidrogenaza (LDH), Alkalna fosfataza (AP), Holinesteraza i dr.

Bilirubin se određuje diazo-reagensom, a na osnovu odnosa konjugovanog i nekonjugovanog bilirubina razlikujemo tri osnovna tipa ikterusa. U hemolitičkom ikterusu je značajan nalaz povećanje koncentracije nekonjugovanog bilirubina. Kod hepatocelularnog ikterusa postoji značajno povećanje koncentracije konjugovanog (preko 50%) i nekonjugovanog bilirubina. Kod posthepatičnog opstruktivnog ikterusa značajno je povećana koncentracija konjugovanog bilirubina (do 90%). Određivanje urobilinogena je značajno za dodatnu dijagnostiku ikterusa, tako da je urobilinogen uvek prisutan kada su žučni putevi prohodni, dok kod posthepatičnog opstruktivnog ikterusa njegovo prisustvo izostaje. Sterkobilinogen i sterkobilin izmeta daju uvek pozitivnu reakciju kod zdravih jedinki.

Amonijak se određuje posle izolacije putem jonoizmenjivačkih smola. Određivanje se vrši enzimski preko NADH ili u reakciji sa natrijum hipohloritom i fenolom. Koncentracija amonijaka je povišena u bolestima jetre, posebno u dekompenzovanim stanjima. Za ispitivanje sposobnosti jetre da detoksikuje organizma od amonijaka izvodi se test opterećenja amonijakom na sledeći način: per oralno se aplikuje amonijum hlorid - 100 mg/kg telesne mase, a 30 minuta kasnije se ispituje koncentracija amonijaka u krvi. Normalna koncentracija amonijaka kod pasa i mačaka iznosi 35-70 mmol/L, dok je kod konja ona 0-40 mmol/L. Nakon peroralne primene amonijum hlorida, koncentracija amonijaka u krvi se kod zdravih pasa ne podiže iznad 117 mmol/L.

Biosintetska funkcija jetre se određuje merenjem koncentracije albumina i imunoglobulina, uz određivanje faktora koagulacije, ali i drugih proteina (npr. proteina akutne faze). Porast Ig ukazuje na hronične procese u jetri (poliklonska gamopatija), što se na elektroforetskoj traci očitava kao beta-gama fuzija (jer se frakcije beta i gama spajaju).

Određivanje holesterola može imati dijagnostički značaj jer povećanje holesterola ukazuje na opstruktivni ikterus, dok se kod teških oštećenja jetre javlja smanjena koncentracija holesterola.

Žučne kiseline u krvi se mere u četiri faze: za vreme gladovanja, 2 h posle obroka, posle peroralnog unošenja soli žučnih kiselina i kao brzina izlučivanja intravenski unetih soli žučnih kiselina obeleženih radioaktivnim izotopima.

Test ekskrecije bromsulfaleina (BSP) je specifičan test ekskrecione sposobnosti jetre. Način izvođenja testa: Intravenski se ubrizga 0,1 ml/kg telesne mase bromsulfaleina i nakon 30 minuta ispituje se koncentracija boje koja se zadržala u krvi. U normalnim okolnostima za 30 minuta izlazi se više od 95% bromsulfaleina.

Enzimi se određuju enzimatskim kolorimetrijskim i drugim metodama. Kretanje koncentracije ALT nema prognostički značaj jer nije u korelaciji sa stepenom oštećenja jetre. Poluvreme ALTa iznosi 1-2 dana, a moguće je da njegova koncentracija raste i prilikom aktivne regeneracije jetre. Uzrok ove pojave je činjenica da je ALT enzim citosola. AST je mitohondrijalni enzim, pa njegovo prisustvo govori o nekrozi hepatocita. Ipak, AST nije dovoljno specifičan za hepatična oboljenja, jer može biti povišen i prilikom muskularnih bolesti, hemolize i dr. Serumska alkalna fosfataza (AP) predstavlja grupu više izoenzima koji potiču iz različitih tkiva i organa. Kod mačaka se u jetri nalazi znatno manje AP, pa njen porast najčešće ukazuje na

bubrežne bolesti. Porast AP uz jetrene sindrome najčešće govori o holestazi. Posebno interesantan enzim je arginaza, s obzirom da se posle uspešne terapije brzo vraća u normalne granice, pa ima prognostički značaj. Kod kopitara je značajna sorbitol-dehidrogenaza.

Kod pankreasnog profila korisno je odrediti amilazu, lipazu i TLI (eng. Trypsin-Like Immunoreactivity). Rezultati koncentracije serumske amilaze i lipaze nisu u korelaciji sa težinom pankreatitisa. Amilaza i lipaza nisu potpuno specifični za pankreas. Bubrežna funkcija utiče na amilazu i lipazu, dok steroidi mogu da povise koncentraciju ovog enzima. Amilaza i lipaza nisu značajne za dijagnostikovanje pankreatitisa kod mačaka.

Interesantno je ispitivanje funkcije pankreasa prilikom dislokacije sirišta mlečnih krava, kada su vidljivi sledeći rezultati: hiperglikemija (kod jake dislokacije i preko 10 mmol/l, održavanje hiperglikemije posle hirurškog tretmana je loš prognostički znak, smanjena tolerancija na glukozu, hiperlipidemija, ketonemija, povećana aktivnost jetrinih enzima, hemokoncentracija, leukocitoza sa neutrofiljom, hipokalemija, hipohloremija, hiponatremija, hipokalcemija i hipofosfatemija (često kod krava u postpartalnom periodu pojava ovog nalaza predisponira krave ka nastanku dislokacije zbog atonije).

TLI (Trypsin-Like Immunoreactivity) određuje se specifičnim imunoesejom seruma u cilju dijagnostike insuficijencije egzokrinog pankreasa. Ovim testom se primarno meri pepsinogen, inaktivnog prekursora tripsina u serumu. TLI testom se dokazuje oslobođanje tripsinogena iz pankreasa. Kod pankreatitisa TLI test će dati povišene vrednosti (ali i kod jake insuficijencije bubrega), dok će vrednosti biti snižene kod insuficijencije pankreasa. Normlne vrednosti TLI su: 5,7-45,2 µg/L kod pasa, 12-82 µg/L kod mačaka, ali rezultati variraju u odnosu na različite laboratorije.

Pregled odabranih testova

ODREĐIVANJE DIREKTNOG I INDIREKTNOG BILIRUBINA PO METODI JENDRASSIK-GROF-A – Bilirubin-diklukuronid reaguje direktno sa diazonijumhloridom (diazotovana sulfonilna kiselina) dajući pri tom azo-boju koja ima indikatorske osobine. Ako je sredina neutralna, azo-boja je crvena, a ako je jako kisela ili bazna, azo-boja je zelena ili plava, zavisno od koncentracije bilirubina. Slobodan bilirubin raguje sa diazonijum-hloridom, ali je potrebno da se najpre raskine njegova veza sa albuminom, što se postiže dodatkom etanola, kofeina, Na-benzoata, Na-acetata i dr. Zbog ovakvog odnosa prema diazo-reakтивu bilirubin-diglukuronid je nazvan direktnim, a slobodni bilirubin indirektnim.

Reagensi i pribor: serum, rastvor kofeina (25g Na-acetata x 3H₂O rastvoriti u oko 150 ml destilovane vode uz dodatak 15 g Na-benzoata. Kada se obe soli rastvore, doda se 10g kofeina i mučkanjem rastvori kofein. Dopuni se vodom do 200 ml), diazonijum hlorid (10 ml Diazo I i 0,25 ml Diazo II. Sastav reagensa Diazo I: 5 g sulfanilne kiseline rastvori se u destilovanoj vodi uz dodatak 15 ml koncentraovane HCl, potom dopuniti vodom do jednog litra. Sastav reagensa Diazo II je rastvor Na-nitrata koncentracije mase 5,0 g/l, koji se čuva u tamnoj boci i obnavlja svake nedelje), rastvor Feling II (100g NaOH i 350 g kalijum-natrijumtarata rastvori se u destilovanoj vodi i dopuni vodom do 1 litra), NaCl 0,16 mol/l, standardni rastvor bilitubina 85,5 µmol/l (5 mg čistog bilirubina se rastvori u hloroformu i dopuni hloroformom do 100 ml), etanolni rastvor Na-bikarbonata (0,6 g Na-bikarbonata i 0,3 g NaCl rastvori se u etanolu i dopuni istim do 100 ml), epruvete, pipete, stakleni štapić, kolorimetar.

Ukupni bilirubin: U tri epruvete sipati po 1 ml seruma i po 2 ml kofeina. U epruvete 1 i 2 (analiza) se doda po 0,5 ml diazonijum-hlorida (diazo-reagensa), a u epruvetu 3 (slepa proba) 0,5 ml sulfanilne kiseline. Sadržaj u epruvetama se promeša i ostavi 10 minuta. Zatim se u sve tri

epruvete doda po 1,5 ml Felinga II, sadržaj promeša i odmah fotometriira prema slepoj probi na 610 nm (crveni filter). Rezultat se čita sa standardne krive.

Direktni bilirubin: U tri epruvete se sipa po 1 ml seruma i po 2 ml NaCl. Ostali deo metode je identičan kao određivanje ukupnog bilirubina.

Pravljenje standardne krive vrši se po sledećim razblaženjima prikazanim u tabeli:

Br.epruvete	1,2	3,4	5,6	7,8
ml standarda rastvora	1,0	0,5	0,2	0,1
Količina bilirubina µmol/l	85,5	42,75	17,1	8,55
Ekstinkcija (E)				

Brojevima od 1-8 obeleže se epruvete i u njih sipa onoliko ml standardnog rastvora koliko je naznačeno u tabeli. Stave se epruvete u kupatilo sa ključalom vodom dok sav hloroform ne ispari, a zatim se izvaditi iz kupatila. Bilirubin u epruvetama rastvoriti u 1 ml Na-bikarbonata u etanolu. Sadržaj epruveta se mučka dok se ne izbistri. U bistar rastvor se doda po 2 ml kofeina i 0,5 rastvora diazonijum-hlorida. Posle 10 minuta dodaje se po 1,5 ml rastvora Felinga II i odmah fotometriira na 610 nm, pa iz pročitanih ekstinkcija napravi standardna kriva.

ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI ALKALNE FOSFATAZE (AP) PO KING-U – Prema Kingu i Armstrongu jedinica alkalne fosfataze (AP) je ona količina enzima koji oslobađa 1 mg fenola za 15 minuta, tj. 3 mg fosfora za isto vreme. Za određivanje AP se koristi oslobođeni fenol, fosfor ili Ca-glicerofosfat, koji se dobijaju reakcije sa dinatrijum-fenilfosfatom.

Za izvođenje reakcije potrebni su sledeći reagensi: a) pufer 0,1 mol/l natrijum bikarbonat; b) 0,01 mol/l dinatrijum fenilfosfata (rastvor najpre proključa, a potom se ohladi i čuva uz malo hloroforma); c) Folin-Čukalto reagens; d) osnovni standard fenola (1 g kristalnog fenola rastvoriti i dopuniti do litra sa 0,1 mol/l HCl); e) standard fenola (5 ml standardnog fenola se odmeri u balon od 500 ml, dodaje se 100 ml razblaženog (1:3) Folin-Čukaltovog reagensa i dopuni se vodom do 500 ml).

Način izvođenja metode: u konusnu epruvetu od 10 ml sipa se pipetom 2 ml pufera i 2 ml supstrata (dinatrijum fenilfosfat). Stavlja se u vodeno kupatilo na 37°C i inkubira tokom 3 minuta. Zatim se doda 0,2 ml krvne plazme i promeša. Vraća se da još 15 minuta stoji u vodenom kupatilu. Dodati 1,8 ml razblaženog Folinovog reagensa, izmeša se i centrifugira (2500 obrtaja, 5 min). Kontrola: U epruvetu za centrifugiranje uspe se 2 ml pufera i 2 ml supstrata uz dodatak 1,8 ml Folinovog razblaženog reagensa i 0,2 ml krvne plazme. Centrifugirati kao predhodno (2500 obrtaja, 5 min). U epruvetu se uzme po 4 ml supstrata ili filtrata i svakoj dodaje 2 ml karbonata (150 g/l) i po 4 ml vode. Stavlja se u vodeno kupatilo 10 minuta na 37°C, da se razvije boja. Pravljenje standarda podrazumeva da se u epruvetu stavi 4 ml standardnog fenolnog rastvora, doda 2 ml karbonata i 4 ml vode. Drži se u vodenom kupatilu zajedno sa probom. Nakon navedenog vrši se fotometriranje na 660 nm.

Broj jedinica alkalne fosfataze u 100 ml plazme izračunava se prema sledećoj formuli:

$$Uap = ((Ep-Ek)/Est) \times 30$$

Ep – ekstinkcija probe, Ek – ekstinkcija kontrole, Est – ekstinkcija standarda.

ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI LAKTAT DEHIDROGENAZE (LDH) U KRVNOM SERUMU – Za ovo određivanje koristi se Warburg-ov test. Potrebno je: 0,1 mol/l fosfatni pufer (pH 7,4); 0,1 mol/l rastvor Na-piruvata; 0,1 mol/l rastvor NADH. U kivetu fotometra dodati reagensle po sledećem redosledu i u sledećoj količini: pufer (1,5 ml), Na-piruvat (0,1 ml), NADH (0,05 ml), voda (0,32 ml) i serum (0,05 ml).

Način izvođenja metode: Pre dodavanja enzima sadržaj treba dobro pomešati plastičnim štapićem i izmeriti ekstinkciju na 340 ili 366 nm. Početna ekstinkcija se ponovo proverava posle 1-2 minuta. Reakcija počinje dodavanjem enzima (svežeg seruma krvi), pa se po dodavanju i mešanju ekstinkcija očitava svakih 30 sekundi. Posle završenog višeminutnog očitavanja izračunava se promena ekstinkcije u minutu.

Promena ekstinkcije u minuti na nivou 0,001 odgovara jednoj jedinici enzimske aktivnosti.

ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE U KRVNOM SERUMU – Za određivanje aktivnosti ovog enzima koristi se metoda po Wohlgemuth-u. Princip reakcije se zasniva na sposobnosti da amilaze razlažu skrob do maltoze, preko serije intermedijernih proizvoda – dekstrina. Skrob i njegovi međuproducti daju bojene reakcije sa jodom. Skrob sa jodom boji plavo, a dekstrini od ljubičaste preko crvene do bezbojne. Jedinica aktivnosti amilaze je ona količina enzima koja je u stanju da hidrolizira 1 ml rastvora skroba pod određenim uslovima. Čitanjem razblaženja dobija se broj jedinica amilaze u ispitivanom serumu, te ako je razblaženje 1:32 to znači da količina enzima u 1/32 ml krvi hidrolizuje 1 ml rastvora skroba.

Materijal za izvođenje ove metode: a) pufer (1 litar rastvora KH_2PO_4 0,066 mol/l i 1 litar rastvora Na_2HPO_4 0,066 mmol/l, čuvaju se u odvojenim bocama sa po 5 ml hloroformom); b) fiziološki rastvor NaCl u puferu pH=7,3 (1 g NaCl u 77ml Na_2HPO_4 i 23 ml KH_2PO_4); c) Lugolov rastvor ($R=1:2$), 10 g/l i d) rastvor skroba 10 g/l.

Način izvođenja metode: Uzme se 9 epruveta i obeleže se brojevima od 2 do 10. U svaku epruvetu se sipa po 1 ml puferizovanog fiziološkog rastvora. U epruvetu obeleženu brojem 2 dodaje se 1 ml krvnog seruma. Zatim dobro izmeša, pa se 1 ml smeše iz epruvete broj 2 prenese u epruvetu broj 3, pa se iz epruvete 3 uzme 1 ml i sipa u epruvetu 4 i tako redom do epruvete 10. Na kraju iz epruvete 10 izbací 1 ml smeše. U sve epruvete se doda po 1 ml rastvora skroba. Epruvete se pomešaju i stavljaju u vodeno kupatilo na 37°C na inkubiranje 30 minuta. Nakon inkubacije epruvete se ohlade pod mlazom tekuće vode. U svaku epruvetu, počevši od 10. do 2., dodati po jednu kap razblaženog Lugolovog rastvora.

U epruvetama gde postoji veliko razblaženje seruma aktivnost enzima je niska, pa skrob ostaje nehidrolizovan i daje plavu boju sa Lugolovim rastvorom. Sa smanjenjem razblaženja aktivnost enzima je viša, pa dolazi do postepene hidrolize skroba.

U tabeli su prikazani brojevi epruveta, razblaženja serumu i broj jedinica:

Epruveta br.	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Razblaženje serumu	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024
Broj jedinica	4	8	16	32	64	128	256	512	1024

Za određivanje broja jedinica alfa-amilaze uzimamo epruvetu sa najvećim razblaženjem u kojoj je aktivnost enzima takva da hidrolizuje skrob. Stepen razblaženja odgovara broju

Wohlgemuth jedinica (WU) aktivnosti amilaze. Fiziološke vrednosti za serum su 32, a za urin 8-64 WU.

ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI ASPARTAT AMINOTRANSFERAZE (AST) U KRVNOM SERUMU – AST se u svežem serumu određuje dinamičkom metodom, putem indikatorske reakcije. L-asparat i alfa-ketoglutarat daju, pod katalitičkom aktivnošću AST, L-glutamat i oksalacetat. Količina nastalog oksalacetata ukazuje na stepen aktivnosti AST. Povećanje koncentracije oksalacetata određuje se pomoću indikatorske reakcije sa NADH (malat dehidrogenaza katalizator), gde se dobija L-malat i NAD⁺. Promena koncentracije NADH registruje se na 340 ili 366 nm i predstavlja indirektno meru aktivnosti AST.

Neophodni su sledeći reagensi: a) 0,1 mol/l fosfatni pufer pH=7,4; b) 40 mM L-aspartata (0,5324 g L-aspartata rastvoriti u 100 ml 0,1 M fosfatnog pufera pH=7,4); c) 12 mM redukovani nikotinamid-adenin-dinukleotid NADH (0,008551 g NADH se rastvara u 1 ml redestilovane vode); d) 2,5 mg malat dehidrogenaze (MDH) rastvara se u 10 ml demineralizovane vode; e) 0,25 M alfa-ketoglutarat (3,652 g alfa-oksigluterne kiseline se rastvara u 100 ml redestilovane vode i kontrolisati pH).

Fotometriranje se vrši na 340 ili 366 nm, pri temperaturi od 25°C (držati kivetu u temperiranom držaču). U kivetu se pipetom dodaje: 3,0 ml fosfatnog pufera, 0,05 ml NADH, 0,05 ml MDH i 0,5 ml ispitivanog krvnog seruma. Sadržaj se dobro promeša i ostavi da odstoji 5 minuta na 25°C.

Reakcija započinje dodatkom 0,1 ml rastvora alfa-ketoglutarata, brzo se promeša, početna ekstinkcija se podesi na 0,5, uključi se štoperica i meri se promena ekstinkcije na svaka 2 minuta, tokom 6-10 minuta. Radi se nekoliko paralelnih proba.

Iz dobijenih rezultata se izračunava razlike vrednosti dobijenih po isteku svaka dva minuta, pa naći srednju vrednost. Dobijeni rezultat se podeli sa dva da bi se dobila promena u minuti. Množenjem promene sa brojem 2,242 (ako je vršeno merenje na 366 nm) odnosno 1,190 (ako je vršeno merenje na 340 nm) dobija se vrednost AST u milijedinicama po mililitru krvnog seruma (mU/ml).

KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE SLOBODNE I VEZANE HCl I CELOKUPNOG ACIDITETA ŽELUDAČNOG SOKA – Kislost želudačnog soka se izražava u obliku tzv. titracijske kiselosti. Titracijska kiselost mera je količina NaOH koncentracije supstance 0,1 mol/l utrošenog za neutralizaciju 100 ml želudačnog soka.

Potrebni reagensi: želudačni sok, NaOH koncentracije supstance 0,1 mol/l, alkoholni rastvor dimetilamidoazobenzola (indikator) koncentracije mase 5,0 g/l, alkoholni rastvor fenolftaleina masene koncentracije 10 g/l, epruvete, birete, čaše, pipete.

Način izvođenja metode: U staklenu čašu se stavi 5 ml želudačnog soka i doda 2-3 kapi indikatora. Ukoliko u želudačnom soku ima slobodne HCl, sadržaj će dobiti izrazito crvenu boju. U biretu se sipa NaOH, a zatim se želudačni sok iz birete lagano titrira do pojave narandžaste boje, koja pokazuje da je slobodna HCl neutralisana. Zabeleži se broj utrošenih ml NaOH. Producira se titracija do pojave limunžute boje, koja je znak da je u želudačnom soku neutralisana i vezana HCl. Zabeleži se ponovo utrošak mililitara NaOH i potom se sadržaju koji titrimo doda 2-3 kapi fenolftaleina i oprezno produži titraciju. Posle par dodatnih kapi pojavljuje se crvena boja, što je znak da je neutralizacija završena. Zabeleži se i ova vrednost utroška NaOH (broj mililitara).

Vrednost kiselosti želudačnog soka izražava se u mmol/l. Broj utrošenih ml NaOH odgovara broju mmol HCl. Pošto smo titrisali 5 ml želudačnog soka, da bi smo dobili vrednost u 1000 ml (1 litar) vršimo množenje sa 200.

Primer: ukoliko je za neutralizaciju slobodne HCl utrošeno 2 ml NaOH, aciditet želudačnog soka biće $200 \times 2 = 400$ mmol/l, ako je za neutralizaciju vezane HCl potrošeno još 0,8 ml NaOH aciditet će biti 560 mmol/l ($(2+0,8) \times 200$), a rezultat utroška još 0,2 ml NaOH do potpune neutralizacije je celokupni aciditet od 600 mmol/l ($(2+0,8+0,2) \times 200$).

Pored navedenog u kliničkim ispitivanjima se vrši i merenje hlorhidrične proizvodnje, što podrazumeva ispitivanje sukcesivno uzetih frakcija želudačnog soka, kako bi se stekao uvid u stanje želudačne sekrecije. Hlorhidrična proizvodnja se određuje tako što se ukupna količina želudačnog soka pomnoži sa vrednošću aciditeta slobodne HCl u svakoj porciji i proizvod podeli sa 1000.

Vrednost HCl se može izraziti i u gramima, ako se broj utrošenih ml NaOH pomnoži sa 0,0356 i sa 200. Ako je vrednost za ukupnu HCl 600 mmol/l, količina HCl će biti 21,36 g.

ODREĐIVANJE STEPENA REDUKCIJE NITRATA U BURAŽNOM SADRŽAJU –
Način izvođenja metode: U 3 epruvete se nalije po 10 ml procedenog buražnog soka. U epruvete se dodaje u prvu 0,2; u drugu 0,5 i u treću 0,7 ml 0,025% rastvora kalijum-nitrita i sve se stave na 39°C na inkubiranje. Svakih 5min. iz svake epruvete stavljene u termostat uzima se po 1 kap sadržaja i na porcelanskoj pločici meša sa REAGENS-om I i REAGENS-om II. Sve dok u test epruvetama ima još neredukovanog nitrita, na porculanskoj pločici se pojavljuje crvena boja. Normalno bi trebalo da se crvena boje više stvara sa sadržajem iz epruvete br. 1 posle 5-10 min., a iz epruvete 2 posle 25-30 minuta. Odstupanja od normalnih vrednosti su vezana za **ubrzano iščezavanje crvene boje** (kod pojачanog aktiviteta-ishrana zelenom hranom, penušavi meteorizam i truljenje u buragu). Može da se javi i **usporeno iščezavanje crvene boje**, tj. kada se boja stvara znatno duže nego što je to očekivano (kod različitih vrsta gladovanja i bolesti predželudaca). Sastav REAGENS-a I je Acid.sulfanil 2,0; Acid. Acetic 30% ad 200ml. Sastav REAGENS-a II je Alfa-naphthylamin 0,6; Acid acetic. Conc. 16,0; Aquae destil. 140 ml.

ISPITIVANJE VARENJA GLUKOZE U BURAGU – Način izvođenja metode: U Eichhornovu cev stavlja se 10ml buragovog soka i u to dodaje 0,5ml 16% sveže glukoze. Ovako formiran sistem se stavlja u termostat na 39°C. Rezultat probe se očitava posle 30 i 60 minuta. Normalni sok buraga stvara 1-2ml gasa za 1 čas. U slučaju inaktivnosti buražnog soka gasa ima manje ili se u opšte ne stvara. Ako se radi o penušavom nadunu stvaranje gasa je znatno obimnije nego normalno, a pri tome se stvara i pena.

DOKAZIVANJE AMONIJAKA U BURAŽNOM SADRŽAJU – Procedeni sadržaj buraga, 73,6 mmol/l rastvor sublimata, 670 mmol/l rastvor kalijumjodida, 1,25mmol/l rastvora NaOH; epruvete, dermatograf, termometar, grejalica, vodeno kupatilo i ureja.

Način izvođenja metode: Pripremi se svež Nesslerov reagens stavljanjem u epruvetu 2-3ml rastvora sublimata i dodavanjem rastvora KJ, sve dok se žuto-crveni talog merkurijodida, koji pri tom nastaje potpuno ne rastvori u višku KJ i onda dopuni epruveta rastvorom NaOH. Isprba se Nesslerov reagens, odlivanjem u epruvetu i duvanjem u nju paru amonijaka iz boce. Ako je reagens dobar, javlja se crveno-žuta boja. U epruvetu se sipa 5-6ml procedenog sadržaja buraga, dodati na vrh noža ureje in supstantia. U drugu epruvetu uzeti samo 5-6ml procedenog sadržaja buraga. Epruvete se obeleže i stave u vodeno kupatilo na 39°C. Posle 30-60 minuta izvade se obe epruvete iz kupatila. U dve epruvete sipa se po 5-6 ml svežeg Nesslerovog

reagensa. U jednu epruvetu dodaje se nekoliko kapi sadržaja buraga u kome je dodata ureja, a u drugu nekoliko kapi sadržaja bez ureje.

Pojava crveno-žute boje u prvoj epruveti dokazuje prisustvo amonijaka.

Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Navedite znake ispoljavanja poremećaja funkcionalnog statusa želuca i creva.

Zadatak 2: Navedite podelu dijareja po mehanizmu nastanka.

Zadatak 3: Napišite rezultate parametara diferencijalne dijagnoze između dijareja koje potiču iz tankog i debelog creva.

Parametar	Tanko crevo	Debelo crevo
Zapremina		
Melena		
Sluz		
Hematohezija		
Steatoreja		
Nesvarena hrana		
Boja		
Brzina (hitnost) defekacije		
Tenezmi		
Frekvencija defekacije		
Dishezija		
Mršavljenje		
Povraćanje		
Flatulencija		
Halitoza		

Zadatak 4: Prikazana je tabela sa navedenim metodama ispitivanja digestivnog sistema. Opišite navedene metode i komentar patološkog rezultata.

Metoda	Opis	Tumačenje poremećenog rezultata
TLI		
Test apsorpcije ksiloze		
Kvantitativno određivanje masti u fesesu		
Elektroforeza proteina serumu		
Koncentracija folata u krvi		
Koncentracija vitamina B12 u krvi		
Nitrozonaftol test u urinu		
Mikroskopski pregled duodenalnog aspirata		
Broj bakterija iz crevnog aspirata		
Endoskopija i biopsija		
Radiografija sa barijumom		

Zadatak 5: Na fotografiji je prikazan buražni sadržaj. Navedite fiziološka vrednost pH buražnog sadržaja i protumačite patološki nalaz?



Zadatak 6: Objasnite patofiziološki značaj infuzorija buraga.

Zadatak 7: U tabeli su navedeni sindromi oboljenja jetre. Upišite koji se testovi koriste za izradu hepatograma kod navedenih sindroma.

<i>Sindromi jetre</i>	<i>Testovi</i>
<i>Sindrom zapaljenske reakcije</i>	
<i>Sindrom bilijarne retencije</i>	
<i>Sindrom insuficijencije hepatocita</i>	
<i>Sindrom nekroze hepatocita</i>	

Zadatak 8: U tabeli su navedni različiti oblici ikterusa i rezultati ispitivanja seruma, urina i fecesa kod navedenih oblika ikterusa. Napišite vrednosti koncentracija navedenih biohemijskih parametara u zavisnosti od tipa ikterusa (- smanjeno ili nedostaje, +normalno, ++neznatno povišena, +++povišena, ++++ jako povišena).

<i>Oblik ikterusa</i>	<i>Rezultati ispitivanja seruma, mokraće i fecesa kod različitih oblika ikterusa</i>					
	<i>Bilirubin seruma</i>		<i>Serumska alkalna fosfataza</i>	<i>Mokraća</i>		<i>Sterkobilin u fecesu</i>
	<i>Direktni</i>	<i>Indirektni</i>		<i>Bilirubin</i>	<i>Urobilinogen</i>	
<i>Opstruktioni</i>						
<i>Hepatocelularni</i>						
<i>Hemolitički</i>						

Zadatak 9: Patofiziološka procena dijareja, osnovna pitanja u anamnezi i razlika prema kliničkim karakteristikama

Zadatak 10: Dokazivanje prisustva slobodne HCl u želudačnom soku

Zadatak 11: Određivanje kiselosti želudačnog soka

Zadatak 12: Određivanje bazalne sekrecija (BAO)sa tumačenjima

Zadatak 13: Uvećan histaminski test po Keju

Zadatak 14: Insulinski test po Holanderu

Zadatak 15: Nacrtaj dijagram toka za dijagnostiku dijareja

Zadatak 16: Test opterećenja d-ksilozom

Zadatak 17: Šilingov test

Zadatak 18: Nitrozonaftol test

Zadatak 19: BT-PABA apsorpcioni test

Zadatak 20: Pregled stolice na svarljivost sastojaka

Zadatak 21: Dokazivanje okultnog krvarenja u stolici

Zadatak 22: Organoleptičko ipitivanje buražnog sadržaja

Zadatak 23: Sedimentacija i flotacija buražnog sadržaja

Zadatak 24: Patofiziološki značaj i pregled infuzorija buražnog sadržaja

Zadatak 25: Proba vrenja celuloze i glukoze u buragu

Zadatak 26: Ispitivanje redukcije nitrita u buragu

Zadatak 27: Određivanje isparljivih masnih kiselina i mlečne kiseline u buragu

Zadatak 28: Dokazivanje amonijaka u buragu

Zadatak 29: Klinički vodič u bolestima jetre

Zadatak 30: Klinički vodič u bolestima pankreasa

Zadatak 31: Definiši sastavne delove hepatograma i njihove komponente

Zadatak 32: Kvantitativno određivanje bilirubina u krvi

Zadatak 33: Određivanje žučnih boja u mokraći

Zadatak 34: Određivanje žučnih boja u izmetu

Zadatak 35: Određivanje amonijaka

Zadatak 36: Test opterećenja amonijakom

Zadatak 37: Testovi za ispitivanje biosintetske funkcije jetre

Zadatak 38: Test ekskrecije bromsulfaleina

Zadatak 39: Sindrom nekroze hepatocita-enzimi u bolestima jetre

Zadatak 40: Određivanje amilaze u krvi i urinu

Zadatak 41: Određivanje amilaza/kreatinin klirensa

Zadatak 42: Određivanje lipaze u serumu

Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj 1:

Masna jetra kod krava u peripartalnom periodu

Krave u ranoj laktaciji su podložne nastanku negativnog energetskog bilansa, hipoglikemiji i pojačanoj lipolizi u masnom tkivu, što dovodi do višeg stepena lipogeneze i akumulacije triglicerida u masnim vakuolama hepatocita. Cilj jednog našeg istraživanja bio je određivanje dimenzija i optičke gustine masnih vakuola i jedra krava u ranoj laktaciji. U eksperiment je uključeno 10 krava Holštajn-frizijske rase, čiji su uzorci jetrinog tkiva uzeti biopsijom 3-15 dana nakon teljenja (5 krava kontrolne grupe i 5 krava sa metaboličkim profilom koji ukazuje na masnu jetru). Uzorci su pažljivo obrađeni, obojeni hematoksilin-eozin i Sudan tehnikom i mikroskopski pregledani. Upoređivanjem veličina i optičkih gustina masnih vakuola kod ove dve grupe krava zaključili smo da grupa krava sa masnom jetrom ima značajno veće dimenzije masnih vakuola, manje dimenzije jedra, znatno manju volumetrijsku gustinu jedra i veću volumetrijsku gustinu masnih vakuola. Korelacija između promera masnih vakuola i jedra je bila negativna. Ovo možemo povezati sa masnom degeneracijom i procesima nekroze i apoptoze koji otpočinju u hepatocitima krava sa masnom jetrom. Negativna korelacija između dijametra i optičke gustine nukleusa sa dijametrom i optičkom gustinom masnih vakuola govori o tome da hepatociti kao posledica masne infiltracije mogu ući u procese degeneracije, apoptoze i nekroze. Poznato je da ćelije u zavisnosti od tipa i intenziteta oštećenja mogu ući i u apoptizu i u nekrozu.

Bez obzira na tip ćelijske smrti, redukovanje dimenzija jedra (kariopiknoza) se dešava u ćelijama smanjenje vijabilnosti.

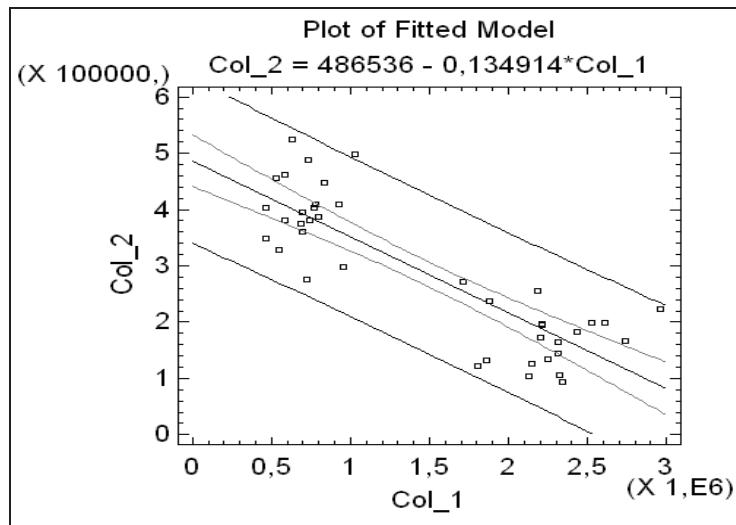
Tabela: Optička gustna (optical density) i dijometar jedra hepatocita kod zdravih krava (control) i krava sa masnom jetrom (fatty liver)

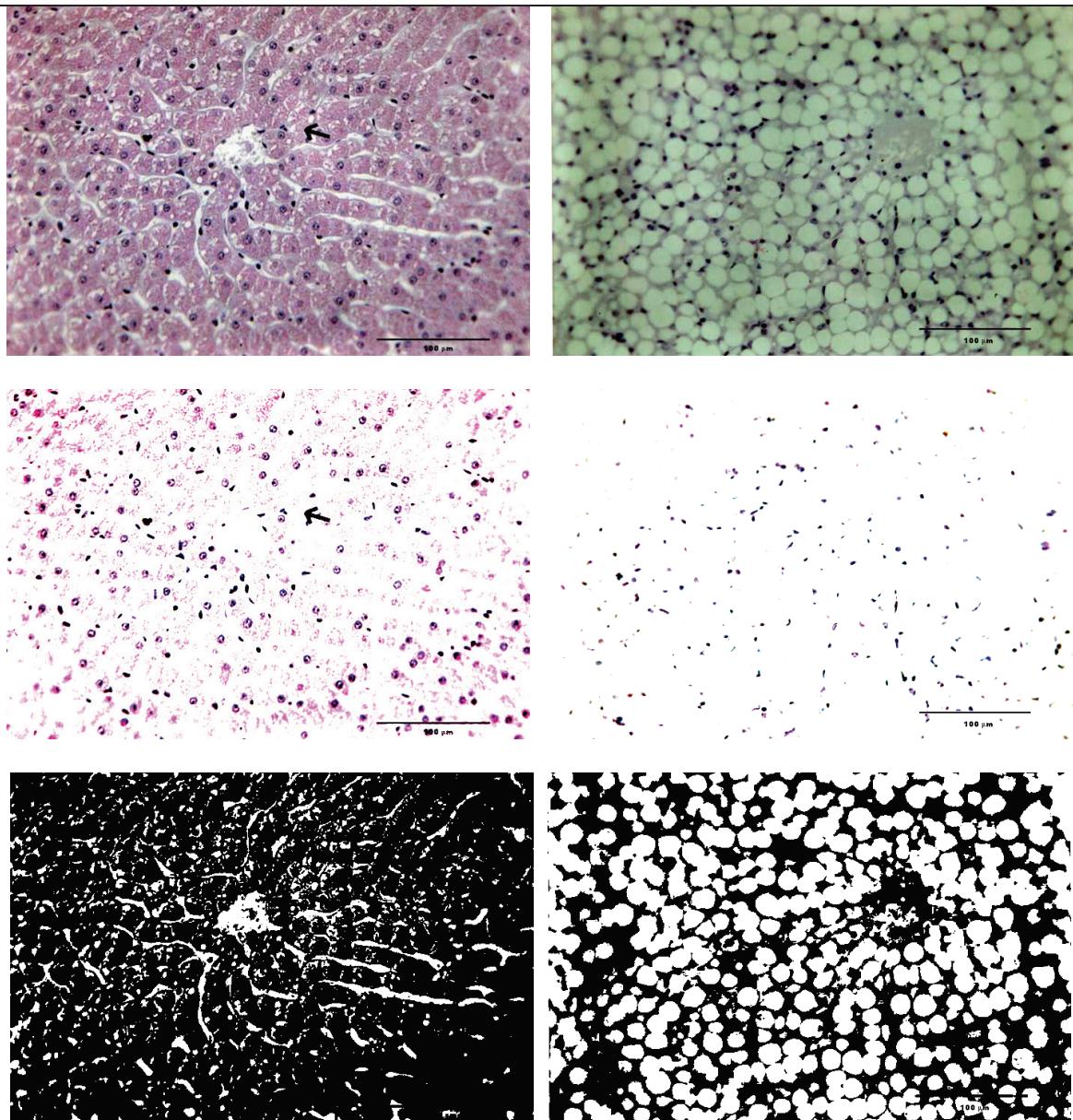
	Optička gustina jedra		Dijametar jedra (nm)	
	Control	Fatty liver	Control	Fatty liver
Average	401477.2	171361.3	7335.3	5194.8
SD	64484.1	51201.9	999.9	1219.8
CV	16.06%	29.88%	13.63%	23.48%
p	P <0.001		P <0.001	

Tabela: Optička gustna (optical density) i dijometar masnih vakuola u hepatocitima kod zdravih krava (control) i krava sa masnom jetrom (fatty liver)

	Optička gustina masnih vakuola		Diametar masnih vakuola (nm)	
	Control	Fatty liver	Control	Fatty liver
Average	708578.1	2258360.2	4658.7	19901.9
SD	155922.2	309406.3	1116.4	3165.3
CV	22%	13.7%	23.9%	15.9%
p	P <0.001		P <0.001	

Grafikon: Korelacija i regresija između dijametra jedra hepatocita i masnih vakuola





Slika : Histološki nalaz normalne (levo) i zamašćene jetre (desno) – prvi red histološki nalaz, drugi red izdvojena jedra, treći red izdvojene vakuole i žučni putevi

U jednoj studiji ispitivali smo uticaj telesne kondicije (BCS) i promene telesne kondicije u peripartalnom periodu (Δ BCS) na metaboličku adaptaciju krava i funkcionalni status hepaocita. U studiju je uključeno 20 zdravih krava Holštajn-frizijske rase. Krave su kategorisane na osnovu intenziteta u gubitku telesne kondicije na dve grupe: Δ BCS <0.75 (normalan intenzitet) i ≥ 0.75 (povećan intenzitet). Utvrđena je signifikantna razlika u vrednosti pojedinih metabolita, pa su krave koje su intenzivno gubile na telesnoj kondiciji pokazale višu koncentraciju NEFA, nižu koncentraciju glukoze i višu koncentraciju bilirubina uz intenzivniji pad vrednosti triglicerida. Najveći broj krava koje su normalno gubile na telesnoj kondiciji imale su koncentraciju masti u jetri u rasponu od 0 do 20%, dok je kod krava koje su intenzivno gubile na telesnoj kondiciji

polovina krava imala 20 do iznad 40% masti u jetri. Promene u telesnoj kondiciji krava koreliraju sa energetskim bilansom krava.

Tabela: Vrednost BCS kod eksperimentalne grupe krava (mean BCS \pm SD) i promena vrednosti BCS (Δ BCS) između perioda zasušenja i rane laktacije.

Group	BCS (-2 wk)	BCS (+2 wk)	Δ BCS
Low BCS loss, L (N=9) Mali gubitak tel.kondicije	3.78 \pm 0.15	3.53 \pm 0.15**	0.25
High BCS loss, H (N=11) Veliki gubitak telesne kond.	4.39 \pm 0.26	3.52 \pm 0.28**	0.87

** - P<0.01

Tabela: Razlika u koncentraciji NEFA u krvi (mmol/l) u različitim nedeljama (wk-week , nedelja) oko teljenja kod krava sa niskim i visokim gubitkom telesne kondicije i indeks porasta (increment index, H/L).

Periods	L	H	Increment index (H/L)
-2 wk to -1 wk	0.050	0.159	3.18
-1 wk to +1 wk	0.117	0.123	1.05
+1wk to +2 wk	0.011	0.093	8.45

Grafikon: Proporcija krava sa različitim sadržajem masti u jetri (liver fat, %) u funkciji gubitka telesne kondicije (l-low, mali gubitak, H-high, velik gubitak)

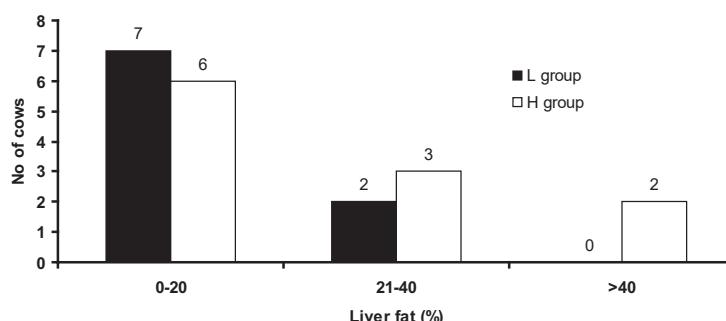
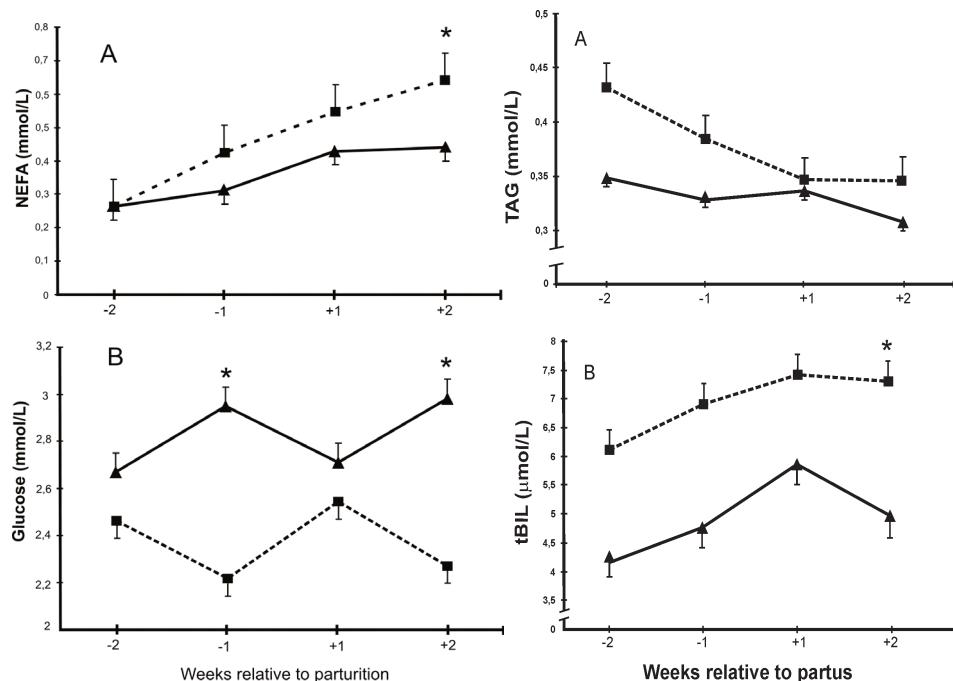


Tabela : Energetski bilans i proizvodnja mleka kod krava koje su malo (low) i značajno (high) izgubile na telesnoj kondiciji i korelacija sa Δ BCS

Group	EB1 (-2 wk)	EB2 (+2 wk)	Δ EB (EB1- EB2)	Milk production in firs 14 day (l/day)
Low BCS loss, L (N=9)	19.3 \pm 8.8	10.1 \pm 23.3	-9 \pm 14.4	21 \pm 3.2
High BCS loss, H (N=11)	17.1 \pm 9.5	6.1 \pm 15.5	-11 \pm 13.3	24 \pm 4.5
Correlations with Δ BCS	-0.51*	-0.59**	0.73**	0.3

* p<0.05, ** p<0.01



Grafikon: Koncentracija NEFA, glukoze, triglicerida i bilirubina u ispitivanim grupama krava (LS means \pm SEM) (▲ - L group, ■ - H group)

Tumačenje:

Slučaj 2:

Akutni pankreatitis					
Hematology					
5-19-2005 10:18:44 AM					
LaserCyte®					
WBC	=	23.00	K/ μ L	H	(5.50 – 16.90)
LYM	=	1.00	K/ μ L		(0.70 – 4.90)
MONO	=	2.20	K/ μ L	H	(0.10 – 1.40)
NEU	=	19.80	K/ μ L	H	(2.00 – 12.00)
EOS	=	0.00	K/ μ L	L	(0.10 – 1.49)
BASO	=	0.00	K/ μ L		(0.00 – 0.10)
%LYM	=	4.0	%		
%MONO	=	10.0	%		
%NEU	=	86.0	%		
%EOS	=	0.0	%		
%BASO	=	0.0	%		
HCT	=	33.0	%	L	(37.0 – 55.0)
RETIC	=	80.0	K/ μ L		
%RETIC	=	3.0	%		
MCV	=	74.0	fL	H	(60.0 – 72.0)
RDW	=	13.0	%	L	(14.7 – 17.9)
MCHC	=	30.0	g/dL	L	(31.0 – 37.0)
MCH	=	18.00	pg	L	(19.50 – 24.50)
PLT	=	400.0	K/ μ L		(175.0 – 500.)
MPV	=	12.20	fL		
PCT	=	0.2	%		
PDW	=	21.2	%		
Chemistry					
5-19-2005 10:18:44 AM					
VetTest®					
ALB	=	2.8	g/dL		(2.2 – 3.9)
ALKP	=	1040.	U/L	H	(23. – 212.)
ALT	=	438.	U/L	H	(10. – 100.)
AMYL	=	1278.	U/L		(500. – 1500.)
BUN	=	22.0	mg/dL		(7.0 – 27.0)
CA	=	7.7	mg/dL	L	(7.9 – 12.0)
CREA	=	1.3	mg/dL		(0.5 – 1.8)
GLOB	=	2.3	g/dL	L	(2.5 – 4.5)
GLU	=	67.	mg/dL	L	(74. – 149.)
LIPA	>	6000.	U/L	H	(200. – 1800.)
PHOS	=	5.3	mg/dL		(2.5 – 6.8)
TBIL	=	4.5	mg/dL	H	(0.0 – 0.9)
TP	=	5.1	g/dL	L	(5.2 – 8.2)
Immunoassay					
5-19-2005 10:18:44 AM					
SNAP® Reader					
T4	=	0.7	μ g/dL		
Electrolyte					
5-19-2005 10:18:44 AM					
VetLyte®					
Na	=	152.	mmol/L		(144. – 160.)
K	=	2.8	mmol/L	L	(3.5 – 5.8)
Cl	=	121.	mmol/L		(109. – 122.)

Tumačenje:

Slučaj 3:

Hepatocelularni holestatski hepatitis sa zapaljenjem peritoneuma

Hematology

RBC	6.13	M/ μ L	(5.50 - 8.50)				
HCT	42.3	%	(37.0 - 55.0)				
HGB	14.8	g/dL	(12.0 - 18.0)				
MCV	69.1	fL	(60.0 - 75.0)				
MCHC	35.0	g/dL	(30.0 - 37.5)				
WBC	47.0	K/ μ L	HIGH (6.0 - 17.0)				
Bands	0.94	K/ μ L	HIGH (0.0 - 0.3)				
Neutrophil	39.48	K/ μ L	HIGH (3.00 - 12.00)				
Lymphocyte	1.88	K/ μ L	(1.0 - 5.0)				
Monocyte	4.70	K/ μ L	HIGH (0.15 - 1.35)				
Eosinophil	0	K/ μ L	LOW (0.10 - 1.25)				
Basophil	0	K/ μ L	(0.00 - 0.10)				

Chemistry

GLU	100	mg/dL	(67 - 132)				
BUN	43	mg/dL	HIGH (7 - 32)				
CREA	0.8	md/dL	(0.5 - 1.5)				
PHOS	6.4	mg/dL	(2.2 - 7.9)				
Ca	7.4	mg/dL	LOW (9.7 - 12.3)				
Na	141	mmol/L	(138 - 148)				
K	3.9	mmol/L	(3.5 - 5.0)				
Cl	101	mmol/L	LOW (105 - 117)				
tCO ₂ (Bicarb)	21	mmol/L	(13 - 24)				
Anion Gap	23	mmol/L	HIGH (9 - 18)				
TP	7.3	g/dL	HIGH (4.8 - 6.9)				
ALB	3.1	g/dL	(2.3 - 3.9)				
GLOB	4.2	g/dL	HIGH (1.7 - 3.8)				
A/G	0.7	LOW (0.8 - 1.9)					
ALT	169	U/L	HIGH (3 - 69)				
ALKP	467	U/L	HIGH (20 - 157)				
GGT	25	U/L	HIGH (5 - 16)				
TBIL	3.2	mg/dL	HIGH (0.1 - 0.8)				
Unconj BIL	0.4	mg/dL	HIGH (0.0 - 0.3)				
Conj BIL	1.0		HIGH (0.0 - 0.0)				
Delta BIL	1.8		HIGH (0.0 - 0.7)				
CHOL	185	mg/dL	(125 - 301)				
AMYL	438	U/L	(378 - 1033)				
LIPA	363	U/L	(104 - 1753)				

Tumačenje:

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Neuropeptid Y stimuliše unos hrane, dok se alfa- melanostimulišući hormon luči kada je životinja sita, pa inhibiše unos hrane.

DA*

NE

2. Koji signali regulišu unošenje hrane:

- a) Količina masnog tkiva u organizmu
- b) Glikemija
- c) Signali iz gastrointestinalnog trakta
- d) Pojava hedonističke regulacije bez obzira na biohemijske signale
- e) Sve navedeno je tačno*

3. Centralna uloga leptina je u stimulaciji apetita.

DA

NE*

4. Hedonistička regulacija apetita u svojoj osnovi ima:

- a) Promene u insulinemiji tokom ishtrane
- b) Promene u lučenju encefalina i endorfina*
- c) Promene u lučenju glukokortikoida
- d) Promene u lučenju tireoidnih hormona

5. Fiziološke uloge želudačno-crevnih hormona su:

- a) sekretin izaziva lučenje velike količine pankreasnog soka, bogatog u bikarbonatu
- b) holescistokinin izaziva lučenje pankreasnog soka bogatog enzimima
- c) somatostatin smanjuje lučenje HCl i pepsinogena
- d) holecistokinin izaziva kontrakcije žučne kesice
- e) sve navedeno je tačno*

6. Nedostatak unutrašnjeg činioca želudačnog soka se može nadoknaditi povećanim radom ostalih digestivnih organa.

DA*

NE

7. Tokom infekcije i inflamacije inapetenca nastaje kao posledica lučenja različitih proinflamatornih citokina.

DA*

NE

8. Koji od navedenih lekova mogu izazvati polifagiju:

- a) Glukokortikosteroidi
- b) Antihistaminici
- c) Benzodiazepini
- d) Sve navedeno je tačno*
- e) Ništa od navedenog nije tačno

9. Otežano žvakanje hrane može nastati usled:

- a) Tumora u ustima
- b) Myasteniae gravis
- c) Polymyositisa
- d) Paralize n.trigeminusa
- e) Usled poremećaja CNS
- f) Sve navedeno je tačno*

10. Smanjeno lučenje pljuvačke - aptijalizam nastaje usled:

- a) dehidratacije*
- b) upale jednjaka
- c) davanja atropina*
- d) stomatitisa

11. Poremećaj pokretljivosti jednjaka nastali usled oštećenja poprečno-prugastih mišića utvrđeni su u sledećim poremećajima:

- a) ahalaziji
- b) u stanjima hipogastrinemije
- c) bulbarnoj paralizi*
- d) mijasteniji gravis*

12. Faringealna disfagija nastaje kao posledica:

- a) Paralize n.facialisa
- b) Paralize n.trigeminusa
- c) Kod tetanusa*
- d) Kod paralize n.glasopharyngeusa*

13. Uzroci hipersekrecije želudačnog soka su:

- a) Povećano lučenje gastrina
- b) Povećana sekrecija kortikosteroida
- c) Povećana koncentracija histamina
- d) Sve navedeno je tačno*

14. Posledice hiperaciditeta želuca su:

- a) Povećana aktivacija enzima pankreasnog soka
- b) Taloženje žučnih soli*
- c) Opstipacija
- d) Steatoreja*

15. Ahilija je:

- a) Delimični nedostatak lučenja želudačnog soka
- b) Potpuni nedostatak lučenja želudačnog soka*
- c) Znak difuzne atrofije želuca*
- d) Znak prisustva peptičkog ulkusa

16. Peptički ulkus se učestalije javlja u sledećim poremećajima:

- a) pernicioznoj anemiji
- b) unosu hrane sa krupnim česticama
- c) unosu preterano usitnjene hrane posebno kod svinja*
- d) cirozi jetre*
- e) stresu*

17. Uzroci otežanog pražnjenja želudca su:

- a) hipokalijemija
- b) hipertrofička stenoza pilorusa
- c) karcinom želudca
- d) dijabetička ketoacidoza
- e) sve navedeno je tačno*

18. Prežderavanje kod konja i prezivara komplikuje se dilatacijom želuća i spastičkom kontrakcijom pilorusa, kao posledica:

- a) Lakog previranja hrane
- b) Visoke osmotske koncentracije sadržaja želuca
- c) Oslobođanje veće količine nižih masnih kiselina
- d) Sve navedeno je tačno*
- e) Ništa od navedenog nije tačno

19. Povraćanje za razliku od ezofagealne regurgitacije je:

- a) Aktivan čin*
- b) Pasivan čin

20. Tokom povraćanja se javlja:

- a) Izronična dehidratacija
- b) Hipotonična dehidratacija
- c) Izotonična pa hipotonična dehidratacija*

21. Povraćanje dovodi do:

- a) Metaboličke alkaloze*
- b) Metaboličke acidoze

22. Povraćanje sa gubitkom pankreasnog soka, kod opstrukcije creva, dovodi do:

- a) Metaboličke alkaloze
- b) Metaboličke acidoze*

23. Sindrom malapsorpcije može nastati usled:

- a) Upale digestivnih organa
- b) Poremećaja funkcije egzokrinog pankreasa
- c) Nedovoljno lučenje žući
- d) Sve navedeno je tačno*

24. Posledice malapsorpcije mogu biti:

- a) gubitak telesne težine*

- b) produženo protrombinsko vreme*
- c) hiperproteinemija
- d) hipokalcemija*
- e) hiperinsulinemija
- f) steatoreja*

25. Nabroj 4 osnovna patogenska mehanizma u nastanku dijareja:

26. Za osmotsku dijareju je tačno sledeće:

- a) Nastaje usled unošenja materija koje se teško apsorbuju i razlažu*
- b) Nastaje usled jakih infekcija creva
- c) Prestaje posle gladovanja*
- d) Mora se lečiti antidijaroicima

27. Sekretorne dijareje nastaju kao posledica povećane sekrecije tečnosti u digestivni lumen prilikom infekcije sa E.coli, Salmonellom ili Clostridium difficile.

DA*

NE

28. Sekretorne dijareje prestaju posle gladovanja životinje.

DA

NE*

29. Eksudativne dijareje:

- a) Su inflamatornog tipa
- b) Nastaju zbog delovanja bakterijskih toksina koji remete veze među enterocitima
- c) Vazodilatacija krvnih sudova je bitan patogenski mehanizma ovih dijareja
- d) Sve navedeno je tačno*

30. Kod životinja se povraćanje često javlja zajedno sa dijarejom. Pojava žuči u povraćenom sadržaju ukazuje da je primaran problem u:

- a) Tankim crevima*
- b) Debelim crevima

31. Uzroci konstipacije creva mogu biti:

- a) Povećana ishrana grubim hranivima ili premalo vlakana u hrani
- b) Nagli prestanak fizičke aktivnosti
- c) Myasthenia gravis
- d) Hipotireoidizam
- e) Sve navedeno je tačno*

32. Umereno povećanje pritiska u lumenu digestivnih organa stimuliše sekreciju i resorpciju vode i elektrolita, ali jače povećanje pritiska povećava samo sekreciju.

DA*

NE

33. U crevnom ileusu se javljaju:

- a) Povećan apetiti
- b) Količni bolovi*
- c) Dehidratacija*
- d) Hiperhidratacije
- e) Hipokalemija*
- f) Hiponatremija*
- g) Bez poremećaja acido-bazne ravnoteže
- h) Razvija se acidoza i/ili alkaloza*

34. Po karakteru promena strangulacioni ileus je u odnosu na ostale tipove najakutniji.

DA*

NE

35. Ako je pH u buragu ispod 5,5 tumači se kao:

- a) Patološka*
- b) Fiziološka
- c) Patološka ili fiziološka shodno načinu ishrane

36. Jaka distenzija retikulima i pravog želuca preživara:

- a) Stimulišu rad buraga
- b) Inhibiraju rad buraga*

37. Prema etiološkim uzrocima indigestije mogu biti (3): _____.

38. Hipokalcemija kod preživara dovodi do sekundarne hipotonije predželudaca.

DA*

NE

39. Tokom kisele indigestije dolazi do:

- a) Smanjene koncentracije laktata u rumenu
- b) Dehidratacije*
- c) Osmotske dijareje*
- d) Povećanja motorne aktivnosti buraga
- e) Učestalijeg mokrenje
- f) Sistemske acidoze i šoka*

40. Nagomilavanje histamina i endotoksina je osnovni patogenski mehanizam put koga dolazi do pada motorne aktivnosti buraga u kiseloj indigestiji.

DA*

NE

41. Nabrojte pet karakterističnih promena koje ukazuju na subakutnu kiselu indigestiju:

_____.

42. Kod jake alkalne indigestije nastaje usled povećanog unosa urejeastaće:

- a) Poliurija
- b) Anurija

- c) Nema uticaja na izlučivanje mokraće
43. Kod bazne indigestije nadun je najčešće recidivirajućeg karaktera.
- DA*
NE
44. Akutni pankreatitis karakteriše se sledećim poremećajima:
- a) porastom amilaze i lipaze u krvi*
b) hipoglikemijom
c) hipokalcemijom *
d) porastom amilaze u abdominalnom punktatu*
45. Hronični pankreatitis se odlikuje sledećim poremećajima:
- a) test opterećenja sa d-ksilozom je patološki
b) OGTT daje zaravnjenu krivulju.
c) amilaza kreatinin klirens je povišen
d) umanjene vrednosti sekretinskog testa*
46. Određivanje serumske amilaze je dovoljno za dijagnostikovanje pankreatitisa.
- DA
NE*
47. Kod mačaka aktivnost serumske amilaze i lipaze je retko kad povećana.
- DA*
NE
48. Nekonjugovana hiperbilirubinemija utvrđena je tokom sledećih poremećaja:
- a) holestazi,
b) hemoliznoj anemije*
c) pernicioznoj anemiji*
d) žutici novorođenčeta*
49. Karakteristike hemoliznog ikterusa su:
- a) nekonjugovana hiperbilirubinemija*
b) intenzivan svrab kože
c) hiperholična stolica*
d) pojava bilirubina u mokraći
e) porast urobilinogena u mokraći*
50. U opstruktivnoj žutici u krvi se povećava koncentracija sledećih materija:
- a) holesterola*
b) enzima alkalne fosfataze*
c) nekonjugovanog bilirubina,
d) soli žučnih kiselina*
51. U akutnom virusnom hepatitisu usled nekroze hepatocita u serumu su povišene vrednosti ovih enzima:

- a) AST*
- b) alkalne fosfataze
- c) LDH*
- d) ALT*

52. Koji od navedenih testova ostaje u granici normalnih vrednosti u obolelih sa nekomplikovanim virusnim hepatitisom:

- a) AST,
- b) ukupni bilirubin,
- c) ALT,
- d) ukupni proteini*

53. Patofiziološke posledice portne hipertenzije su:

- a) kolateralni krvotok*
- b) smnajenje veličine i funkcije slezine
- c) konjugovana hiperbilirubinemija.
- d) krvarenje iz varikoziteta jednjaka i želudca*
- e) pancitopenijski sindrom*

54. U patogenezi ascitesa važnu ulogu imaju:

- a) portna hipertenzija*
- b) hiperamonijemija
- c) povećano stvaranje limfe*
- d) hipoalbuminemija*

55. Faktori koji utiču na stvaranje žučnih kamenaca su:

- a) gojaznost*
- b) oštećenje terminalnog ileuma*
- c) porast soli žučnih kiselina i fosfolipida u krvi,
- d) dugotrajna hemolizna anemija*

56. Hepatična encefalopatija nastaje jer:

- a) Amonijak zaobilazi hepatocite na svom putu iz digestivnih organa
- b) Jetra nije u stanju da detoksikuje amonijak koji je u nju dospeo iz organizma
- c) Amonijak dovodi do oksidativnog stresa na astrocitima
- d) Sve navedeno je tačno*

57. Kod malih oštećenja hepatocita možemo dijagnostikovati povećanu aktivnost:

- a) Arginaze*
- b) Glutamat-dehidrogenaze
- c) Aspartat-aminotransferaze*
- d) Ornitin-karbamoil-transferaze

58. Kod teških oštećenja ćelija jetre povećava se aktivnosti:

- e) Arginaze
- f) Glutamat-dehidrogenaze*
- g) Aspartat-aminotransferaze

- h) Ornitin-karbamoil transferaze*
59. Alkalna fosfataza je dobar pokazatelj stepena holestaze, osim kod:
- a) Pasa
 - b) Mačaka
 - c) Konja
 - d) Svinja
 - e) Preživara*
60. Kod pasa je određivanje arginaze korisno za dijagnostiku nekritičnih procesa u jetri, dok je aktivnost gama-glutamiltransferaze korisna za dijagnostiku ekstrahepatične holestaze.
- DA*
- NE

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Regulacija i patofiziologija apetita
2. Patofiziologija disfagije
3. Funkcionalni poremećaji ezofagealnog transporta i kaudalnog jednjačkog sfinktera
4. Poremećaj sekrecije pljuvačke
5. Poremećaj lučenja želudačnog soka
6. Poremećaj motorike želuca
7. Patofiziologija povraćanja
8. Patofiziologija gastritisa i ulkusne bolest želuca
9. Poremećaji motiliteta creva
10. Poremećaj funkcije creva – podela i opšta svojstva
11. Malapsorptivni sindrom
12. Patofiziologija i diferencijalna dijagnoza dijareje
13. Konstipacija i opstipacija
14. Patofiziologija zapaljenja creva
15. Patofiziologija meteorizma creva
16. Patofiziologija neprohodnosti creva
17. Poremećaj varenja u predželucima preživara – indigestije
18. Patofiziologija kisele indigestije
19. Subakutna kisela indigestija i prateći sindromi
20. Patofiziologija bazne indigestije
21. Patofiziologija naduna
22. Patofiziologija akutnog pankreatitisa
23. Patofiziologija pankreasne insuficijencije
24. Patofiziologija insuficijencije jetre
25. Lokalne i sistemske posledice u insuficijenciji jetre
26. Holestaza
27. Patofiziologija ikterusa i klasifikacija bilirubinemija
28. Komplikacije kod insuficijencije i bolesti jetre
29. Enzimi u poremećaju funkcije jetre

PATOFIJOLOGIJA URINARNOG SISTEMA

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

Urinarni sistem ima brojne funkcije u organizmu jer učestvuju u regulisanju metabolizma vode i jona i ima endokrinu ulogu. Svi poremećaji funkcije urinarnog sistema mogu biti uzrokovani prerenalnim (hipovolemija i/ili hipotenzija mogu da smanje protok krvi kroz bubrege i izazovu poremećaj funkcije bubrega), renalnim (glomerulske: nefritične (primarno zapaljenjske) i nefrotične (primarno degenerativne), neglomerulske: vaskularne, tubularne i intersticijalne) i postrenalnim uzrocima (koji izazivaju opstrukciju bubrežnih puteva).

Svetska zdravstvena organizacija je dala klasifikaciju bubrežnih bolesti, koja je napravljena po etiopatogenezi i može se primenitu u veterinarskoj medicini. Tako se bubrežne bolesti dele na: akutni nefritisni sindrom, nefrotski sindrom, asimptomatska urinarna abnormalnost (grupa 2 i 3 – kao posledica hroničnog glomerularnog nefritisa), akutna bubrežna insuficijencija, hronična bubrežna insuficijencija, infekcija urinarnog trakta, opstruktivna bolest urinarnog trakta, funkcijски defekti bubrežnih tubula, hipertenzivna nefropatija i nefrolitijaza i nefrokalcinoza.

Osnovni simptomi poremećaja urinarnih organa su: 1) prisustvo oligurije, poliurije ili anurije, 2) nespecifični simptomi (depresija, letargija, inapetenca, groznica, povraćanje...), 3) karakteristični nalaz urina (proteinurija, hematurija, glukozurija, kristalurija...) i 4) karakterističan nalaz u krvi (azotemija, uremija, dislipidemija, anemija i drugo).

Patofiziološka procena funkcionalnog statusa urinarnog sistema se vrši pomoću sledećih procedura.

- 1) Uzimanje i pregled mokraće
 - Fizički pregled
 - Hemijski pregled
- 2) Laboratorijski ispitivanje proteinurije
 - Kvalitativno i kvantitativno određivanje belančevina u mokraći
 - Diferenciranje tipa proteinurije
 - Određivanje selektivnosti proteinurije.
- 3) Pregled sedimenta mokraće
 - Cilindri
 - Er/Le/Epitelne ćelije
 - Broj ćelija.
- 4) Metode za procenu globalne funkcije oba bubrega
 - Određivanje koncentracije uree u serumu
 - Određivanje koncentracije kreatinina u serumu i mokraći
 - Određivanje konc. mokraće kiseline u serumu i mokraći.
- 5) Testovi za procenu pojedinih funkcija oba bubrega
 - Dilucionna proba po Volhardu
 - Koncentraciona proba po Fischbergu
 - Određivanje osmotske koncentracije plazme i mokraće.
- 6) Određivanje ukupnih bubrežnih klirensa (kvantitativni pokazatelji ukupne bubrežne funkcije)
 - Opšti principi merenja bubrežnih klirensa
 - Klirenс endogenog kreatinina

- Klirens ureje
- Određivanje klirensa bubrega radioizotopskom metodom
- Izračunavanje frakcije filtracije i tumačenje rezultata klirensa.

Količina mokraće (diureza) zavisi od očuvane funkcije bubrega, hrane i vode koja se unosi tokom dana. Na količinu mokraće utiču resorpcija različitih edema, dijabetes, poremećaji vezani ADH i Na, kao i vazopresin.

Boja i prozirnost mokraće se posmatra na beloj pozadini. Mokraća kod konja je žuta ili žuto-zelena boja; kod psa svetlo-žuta do čilibarno žuta; kod goveda slamno-žuta (svetlo do tamno). Veoma tamna boja mokraće se javlja kod paralitičke mioglobinurije, dok se izrazito svetla boja javlja kod šećerne bolesti. Mokraća je tamnija kod dehidratacije i febrilnih stanja. Različite nijanse žute i crvene moguće su kod babezioze. Mrko-crvena boja javlja se kod davanja fenotiazina, ali i kod životinja sa porfirinurijom. Kod ekvida mokraća je neposredno po izlučivanju mutna, a nakon dužeg stajanja se obrazuje talog. Kod ostalih životinjskih vrsta, mokraća je bistra, a posle dužeg stajanja se stvara neznatan talog. Zamućenost mokraće zavisi od sadržaja soli, prisustva epitelnih ćelija, masti ili mikroorganizama.

Miris mokraće je dosta specifičan za pojedine životinjske vrste i njegov intenzitet zavisi od koncentrovanosti mokraće. Na miris mokraće utiču i različita patološka stanja. Tako npr. acetonemija kod krava, koja dovodi do acetonurije daje specifičan miris mokraće na aceton, koji može biti toliko jak da cela štala miriše aceton.

Specifična težina mokraće se određuje urometrom koji je baždaren između 1,000 i 1,060. Ona je u obrnutoj srazmeri sa količinom izlučene mokraće. U šećernoj bolesti, se uz povećanu diurezu povećava i specifična težina mokraće (prelivna glukozurija).

pH vrednost mokraće je kisela kod mesojeda i bazna kod biljojeda. Bazna mokraća kod mesojeda ukazuje na nekrotične procese u bubregu ili na zapaljenje mokraćne bešike. Kisela mokraća kod biljojeda se javlja tokom gladovanja, enteritisa, pneumonije i dugotrajnih proliva. Hrana bogata azotom zakišljava mokraću biljojeda. Određivanje pH se vrši pH-metrom ili test-trakama.

Hemijsko ispitivanje pomoću test traka se vrši po sledećoj proceduri – Test traka se uroni u svež urin i drži najviše 1 sekund. Nakon 30-60 sekundi se upoređuje boja na trakici sa bojom na standardnoj skali. Nakon dva minuta stajanja rezultati su nevalidni. Test trakama se određuje više parametara, kao što su: Glukoza- normalno nalaz je negativan, a pozitivan je kod prelivne glukozurije i diabetesa; Bilirubin- normalno nalaz je negativan, a pozitivan nalaz se dobija u sklopu ikterusa; Keton- prisutni prilikom metabolički neregulisane šećerne bolesti; Krv- test trakice toleriš određeni broj eritrocita, tj. određenu koncentraciju hemoglobina (reakcija je vezana za Hb), a reakcija je pozitivna kod hematurije; Belančevine- normalan nalaz je negativan, a test traka toleriše određenu koncentraciju proteina; Urobilinogen- normalan nalaz je lako pozitivan, a ne može se koristiti za dijagnostiku opstruktivne žutice; Nitriti- normalan nalaz ovog pregleda je negativan, dok pozitivan nalaz ukazuje na bakterijsku uroinfekciju (kod biljojeda se može dobiti lažno pozitivan nalaz zbog sadržaja nitro jedinjenja u biljkama); Leukociti- nalaz ukazuje da u mokraći ima manje od $10 \times 10^6 / L$, a leukociturija ukazuje na zapaljenje.

Za dijagnostiku ketoze krava posebno je značajno određivanje ketonskih tela u mokraći krava. Za dijagnostiku se koristi acetat-test po Lestradetu (Rothera test), koji se zasniva na promeni boje natrijum-nitro prusida promeni u prahu od ružičaste (+) do tamnoljubičaste (++++) ukoliko postoje ketonska tela. Ipak, za preciznu dijagnozu je potrebno odrediti koncentraciju ketona u mmol/l (spektrofotometrijski, kolorimetrijski), a rezultati se tumače na sledeći način: 0,5-2,5 mmol/l normalno, 2,5-13 subklinička ketoza i 13-600 klinička ketoza.

Proteini u mokraći se određuju kvalitativnom ili kvantitativnom metodom. Od kvalitativnih metoda koristi se reakcija sa sulfasalicilnom kiselinom. Način izvođenja testa: Kap sulfasalicilne kiseline se kapne u epruvetu sa mokraćom i posmatra zamućenje. Zamućenje se posmatra prema crnoj podlozi i možemo dobiti sledeće nalaze: negativan (bistar), belančevine u tragu (+, jedva primetno zamućenje), jasno pozitivna (++, vidljivo zamućenje), jako pozitivna (+++), stvaranje sitnih pahuljica), i sirast talog (++++) (taloženje na dnu epruvete).

U mokraći se često kod obolelih od multiplog mijeloma nalaze Benc-Džonsovi proteini, laki lanci imunoglobulina. Značajna karakteristika ovih proteina je da se talože na temperaturi između 45 i 55°C, a rastvaraju se na višim temperaturama, što koristi za dokazivanje njihovog prusustva.

Kvantitativno određivanje proteina može se vršiti putem taloženja u Esbahovom albuminometru ili biuretskom reakcijom. Pri tome je važno izvršiti razdvajanje frakcija proteina ili dokazivanje prisustva pojedinih frakcija imunoenzimskim i drugim preciznim metodama. Pri pojava proteina u mokraći potrebno je izvršiti dodatna ispitivanja i posebo obratiti pažnju na donje urinarne puteve, iz kojih se eksudacijom tokom upale izdvajaju proteini. Konačna dijagnoza se postavlja ispitivanjem tipova proteina, te se tokom oštećenja glomerula javlja puno albumina i visokomolekulskih proteina u mokraći (transferin, IG, komplement), a tokom oštećenja tubula albumini sa niskomolekulskim proteinima, a moguća je i pojava prelivne proteinurije.

Pregled sedimenta mokraće se izvodi sledećom procedurom – Mokraća se centrifugirati 5-10 min na 1500-2000 obrtaja/min. Nakon toga se mokraća odlije a 1-2 kapi se stave na predmetnicu, pokriju ljuspicom i posmatraju pod mikroskopom na uvećanju 100-400x. Pojavi sedimenta pogoduje nizak pH, proteinurija, usporeno oticanje filtrata, prisustvo mukoidinsumporne kiseline. Mikroskopskim nalazom sedimenta možemo videti: leukocite, eritrocite, cilindre i kristale, itd.

Leukociti – Najčešće vidimo 4-8 u vidnom polju. Povećan broj ukazuje na infekciju ili hemijsku leziju urinarnog trakta.

Eritrociti – Normalno se vidi 1-3 eritrocita u vidnom polju. Povećan broj eritrocita se javlja kod hematurije, koja se može videti golim okom (prisutna promena boje - makrohematurija) ili mikroskopom (mikrohematurija). Eritrociti mogu biti sveži (očuvan oblik i oštре ivice, žućkasto-crveni) ili disformični vidljivi kao blede senke i nepravilnog izgleda. Hematurija može biti prerenalna, renalna i postrenalna. Eritrociti u mokraći mogu da potiču i iz genitalnih organa ženke, posebno kod kuja tokom ciklusa, što može dati lažno pozitivan rezultat. Kod hemoglobinurije je koncentracija hemoglobina povišena, a broj eritrocita nije, dok kod mioglobinurije (koja je česta kod kraš i blast sindroma, praznične bolesti konja i drugo) javlja bistru mokraću uz porast koncentracije kreatinfosfokinaze.

Cilindri, ćelije, neorganski sediment – To su istaložene proteine u obliku distalnih bubrežnih kanalića. Razlikujemo više vrsta cilindara: eritroidni – ružičaste boje, često kod glomerulonefritisa; leukocitni – tipično kod pijelonefritisa, ali i kod nekih vrsta glomerulonefritisa, mogu biti pojedinačni leukociti ili masa; epitelnici – pri težem oštećenju tubula, akutna zapaljenja bubrega; granulirani – kod izrazite tubulske lezije bubrega; hijalini – homogeni svetli cilindri, koji prate proteinuriju, ali ne ukazuju uvek na određeni tip oštećenja bubrega; široki – stvaraju se u sabirnom kanaliću bubrega, prilikom bubrežne insuficijencije; masni – cilindri sa masnim kapljicama na površini (džinovske epiteloidne ćelije bogate mastima); voštani cilindri – nastaju zbog dugog boravka u lumenu tubula i izrazito smanjenog protoka urina u tubulima, u sklopu glomerularnih oboljenja. Cilindroidi nisu pravi cilindri, već se radi o grupisanju pojedinih elemenata, kristala, belančevina bakterijskih ćelija i dr. Određen broj

epitelnih ćelija se normalno nalazi u mokraći i potiče iz bilo kog tela urinarnog trakta. Za detekciju je najvažnije uočiti epitelne ćelije, koje potiču iz tubulskog epitela, jer one ukazuju na zapaljenske procese i bubrežnu insuficijenciju. Te ćelije su veće od leukocita, sa okruglim jedrom i često jasno vidljivim nukleolusom. Pojava repastih epitelnih ćelija mogu biti znak dublje nekroze epitela urinarnog trakta, a izbledele i isprane ćelije, najčešće ukazuju na nefritis. Sveži eritrociti ukazuju na zapaljenje kontačne bešike (cistitis), a smežurane ćelije se nalaze u hiperosmolarnoj mokraći.

Razne materije u amorfnom ili kristalnom obliku. U baznoj mokraći se često vide kristali fosfatnog porekla, dok se kristali mokraće kiseline i uratni kristali vide u kiseloj mokraći. Neki lekovi (sulfonamidi) se izlučuju putem kristala i mogu biti različitog su oblika.

Pri detekciji eritrocita, leukocita i drugih celularnih elemenata u sedimentu mokraće, zbog tačnosti je potrebno izbrojati ih u komorici za krv, u poznatoj zapremini. Proteinurija sa velikim brojem izbrojanih eritrocita ukazuje da je hematurija bubrežnog porekla. Pojava eritrocituirije, proteinurije i eritrocitnih cilindara u mokraći dokazuje da je hematurija najverovatnije posledica glomerulske bolesti bubrega. Leukocituirija sa pojavom leukocitnih cilindara ukazuje na bakterijsku infekciju bubrega, odnosno mokračnih puteva.

Određivanje ureje, kreatinina i mokraće kiseline su klasične biohemijske metode i opisane su u poglavlju 3. Povećana koncentracija ureje dovodi do uremije, koja može biti bubrežna i vanbubrežna. Bubrežna je vezana za smanjenu funkcionalnu sposobnost bubrega, a vanbubrežna nastaje pojavom hipovolemije, dehidratacije, obilnih krvarenja u gastrointestinalnom traktu, bolestima jetre i dr. Znatno smanjeno lučenje kreatinina ukazuje na razvoj bubrežne insuficijencije. Lučenje kreatinina zavisi od mišićne mase tela, a kreatinin se ne reapsorbuje ni u jednom nefrotском segmentu. Povišenje koncentracije mokraće kiseline u serumu nastaje kod akutne ili hronične bubrežne insuficijencije, u sklopu opšte retencije azotnih materija u krvi i kod ekstrarenalne azotemije. Porast koncentracije mokraće kiseline u serumu je hiperurikemija i može biti primarna (giht) i sekundarna. Primarna hiperurikemija je vezana za enzimsku disregulaciju metabolizma mokraće kiseline, a sekundarna za različite proliferativne bolesti, leukemije i policitemiju veru, citotstatsku terapiju malignih bolesti i u svim bolestima gde se javlja povećan katabolizam sopstvenih proteina.

Ispitivanje dilucione sposobnosti bubrega – Način izvođenja metode: Izvrši se opterećenje vodom i uzima se mokraću na svakih 15-30 minuta i meri njena specifična težina. U toku dva časa zdravi bubrezi izluče polovinu unete tečnosti. Ukoliko specifična težina nije na donjoj fiziološkoj granici ili ispod nje, a ne izluči se kompletna količina vode u periodu od nekoliko časova, smatra se da postoji problem sa dilucionom sposobnošću bubrega. Proba dilucije ukazuje na funkciju glomerula, tj. njihovu moć filtracije i na nju utiču mnogi vanbubrežni faktori (aldosteron, ADH i srčana pumpa). Ovu metodu ne treba primenjivati kod pacijenata sa edemima, a kod pacijenata sa izraženom dehidratacijom ne dobijamo pouzdane rezultate. Ovaj test je manje specifičan od testa koncentracione sposobnosti bubrega.

Ispitivanje koncentracione sposobnosti bubrega – Način izvođenja metode: Ovaj test vrši se posle uskraćivanja vode (u periodu od 12 časova) ili nakon aplikacije antidiureznog hormona. Nakon 1 i 2 sata uzima se uzorak mokraće i meri specifična težina koja treba da bude blizu gornje fiziološke granice ili preko nje. Pad koncentracione sposobnosti se javlja kod hroničnog pijelonefritisa, hronične opstruktivne uropatije i uznapredovale bubrežne insuficijencije.

Osmometrija mokraće – Koncentraciona sposobnost bubrega se najspecifичnije određuje upoređivanjem osmolarnosti urina i seruma. Osnova osmometrije je u 4 koligativne osobine rastvora i to su: smanjivanje tačke mržnjenja i isparavanja i povišenje tačke ključanja i osmotskog pritiska. Za ovu metodu koristi se konduktometar.

Određivanje bubrežnih klirensa – Bubrežni klirens je deo volumena plazme koji se može indirektno izmeriti i koji se zahvaljujući radu bubrega u jedinici vremena oslobodi neke materije tako što je bubreg iz krvi prenese u stvorenu mokraću. Klirens je odnos količine klirensne supstance klirensa izlučene mokraćom u jedinici vremena i koncentracije te supstance u plazmi. Klirensi materija prirodno prisutnih u plazmi nazivaju se klirensi endogenih supstanci (urea, kreatinin, vodonikovi joni), dok su klirensi egzogenih materija klirens para-aminohipurne kiseline (PAH), insulina, radioaktivni Cr-EDTA. Klirensi inulina, Cr-EDTA i kreatinina ukazuju na jačinu glomerulske filtracije (JGF) – jer se ove materije izlučuju samo putem glomerulske filtracije. PAH i J-hipuran se izlučuju putem JGF i tubulske sekrecije, govore o efektivnom bubrežnom protoku plazme (EBPP). Frakcijska filtracija (FF) predstavlja odnos između JGF i EBPP i daje uvid u stanje glomerulsko-tubulske ravnoteže u bubregu.

Za određivanje klirensa endogenog kreatinina uzima se 24-časovna diureza. Klirens kreatinina se preračunava u odnosu na površinu tela pacijenta. Kod određivanja klirensa ureje treba isprazniti mokraćnu bešiku, dati pacijentu određenu količinu vode i u narednih sat vremena izmeriti klirens ureje. Klirens ureje je znatno osetljiviji na protok krvi kroz bubreg i znatno je promenljiviji.

Poređenjem parametara, posebno osmolarnosti mokraće i seruma, koncentracije Na mokraće i seruma, odnosa BUN/kreatinin u plazmi, JGF i FF vrši se lokalizacija urinarnog poremećaja (prerenalna, renalna i postrenalna), uzroci akutne bubrežne insuficijencije (insuficijencija bez nekroze, insuficijencija sa nekrozom kore i insuficijencija sa nekrozom srži bubrega) i faze hronične bubrežne insuficijencije (hipofunkcija, kompenzacija, dekompenzacija i uremija).

Pregled odabranih metoda

ODREĐIVANJE KONCETRACIJE UREE PO BERTELOTH-U – Metoda služi za određivanje koncentracije ureje u krvnom serumu i urinu. Ureja se, u prisustvu ureaze, razlaže na amonijak, ugljen dioksid i vodu. Amonijak u baznoj sredini reaguje sa fenolom i hipohloritom, pri čemu nastaje indofenol plave boje. Kao katalizator se koristi natrijum-nitroprusid. Za očitavanje se koristi zeleni filter (540 nm).

Potrebni reagensi u ovoj reakciji su: ureaza u fosfatnom puferu (pH 7,4), standardni rastvor ureje 5M, fenolni reagens, hipohloritni reagens, serum ili urin (razređenje 1:100).

Reagensi se u epruvete razlivaju po sledećoj šemi:

	Serum (ml)	Urin (ml)	Standard (ml)	Slepa proba (ml)
Epruveta br.	1	2	3	4
Ureaza	0,1	0,1	0,1	0,1
Serum	0,02	/	/	/
Urin	/	0,02	/	/
Standard	/	/	0,02	/
Voda	/	/	/	0,02
Zatim se sadržaji epruvete promešaju i inkubiraju 15 min na 37°C, a nakon toga se dodaju reagensi po sledećoj šemi				
Fenolni reagens (ml)	2,5	2,5	/	/
Hipohlorni reagens (ml)	2,5	2,5	2,5	/
Potom se vrši fotometriranje				

Koncentracija uree u mmol se izračunava prema sledećim formulama:

$$konc.uree\ u\ serumu = ((Eser-Esp)/(Est-Esp))xC$$

$$konc.uree\ u\ urinu = ((Eur-Esp)/(Est-Esp))xCx100x1,5$$

Eur – ekstinkcija ispitivanog urina

1,5 – prosečno dnevno izlučivanje mokraće (čovek)

100 – razblaženje mokraće (1:100)

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KREATININA MOKRAĆE PO JAFFE-U – Kreatinin sa pikrinskom kiselinom u alkalnoj sredini daje obojenu reakciju, koja stvara crveni tautomer kreatinin-pikrata. Po razvoju boje na kolorimetru se očitava vrednost apsorbance (490 nm).

Potrebni reagensi su: pikrinska kiselina (12 g/L), rastvor NaOH (2,5 mol/L) i standard kreatinina (0,1 mg/ml).

Način izvođenja metode: U čašu od 100ml sipa se 2 ml mokraće i dodaje 3 ml zasićenog rastvora pikrinske kiseline i 1 ml NaOH. Potom se sipa destilovana voda do 100 ml. U drugom sudu se ponavlja procedura ali se umesto mokraće dodaje standard.

Koncentracija kreatinina se izračunava prema sledećoj formuli:

$$Konc.kreatinina\ (mg/l) = (Est/Eur)x0,2x50x10$$

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KREATINA MOKRAĆE PO BENEDICT-MEIERS-U – Metoda se zasniva na hidrolizi kreatina zagrevanjem sa kiselinom, kada kreatin prelazi u kreatinin.

Način izvođenja metode: U čašu od 100 ml se stavi 50 ml mokraće, doda se 5 ml HCl (mol/l) i zagreva se u toku 5 minuta na 117°C. Potom se vrši hlađenje i neutralizacija sa 5 ml NaOH (mol/l). Zatim se doda destilovana voda do 100 ml, dobro promučka i uzme 4 ml za dalje određivanje sadržaja kreatinina metodom po Jaffe-u.

ODREĐIVANJE KALCIJUMA U MOKRAĆI PO KRAMMER-U I TISDALL-U – Princip ove analize je u taloženju kalcijuma rastvorom amonijum-oksalata u obliku kalcijum-oksalata. Taloženje magnezijuma sprečava se dodatkom amonijum-hlorida. Kalcijum-oksalat pod dejstvom sumporne kiseline oslobođa oksalnu kiselinu, koja se titriра sa permanganatom.

Amonijum-hlorid u kristalima, amonijak, koncentrovana sirčetna kiselina, zasićen rastvor amonijum-oksalata, HCl masene koncentracije 100 g/l, H₂SO₄ konc. 200 g/l, KMnO₄ konc. 0,1 mol/l, čaše, pipete, birete i epruvete.

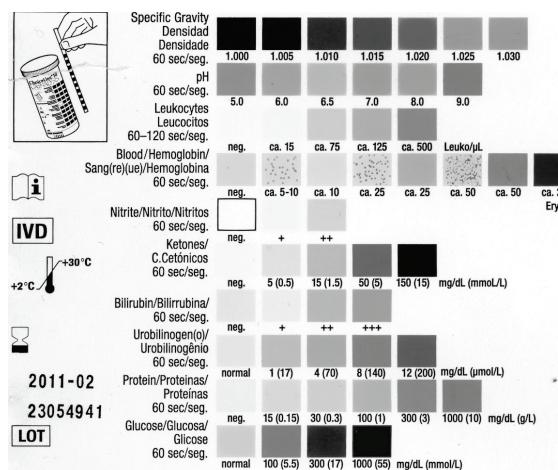
Način izvođenja metode: U čašu od 250 ml staviti: 100 ml mokraće, 3 g amonijum hlorida i 3 ml amonijaka, koji dodajemo kap po kap. Obrazovani talog fosfata gubi se dodatkom koncentrovane sirčetne kiseline. Sve se zagreva do ključanja, dodaje se 5 ml zasićenog rastvora amonijum-oksalata, zatim se filtrira do sledećeg dana. Zatim se talog koje skupio na filtru ispira topлом vodom sve dok filtrat sadrži oksalnu kiselinu (filtrat kontrolisati sa AgNO₃). Posle ovoga, isprani talog staviti u staklenu čašu. Da bi se sav talog sa filter-papira isprao, preko filter papira se sipa HCl (da razori filter) i topla destilovana voda. Zatim se u čašu dodaje 10 ml H₂SO₄ i zagreva se do 60°C. Oslobođena oksalna kiselina pod dejstvom H₂SO₄ titriра se sa KMnO₄ do pojave postojane roze boje.

1 ml KMnO₄ odgovara 0,05 mmol CaO, pa se koncentracija Ca (mmol/l) izračunava množenjem broja utrošenih militara pomnoženih sa 0,05 i sa 10.

Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Nabrojte postupke u patofiziološkoj dijagnostici poremećaja urinarnog sistema sa posebnim naglaskom na bubrežni metabolički profil.

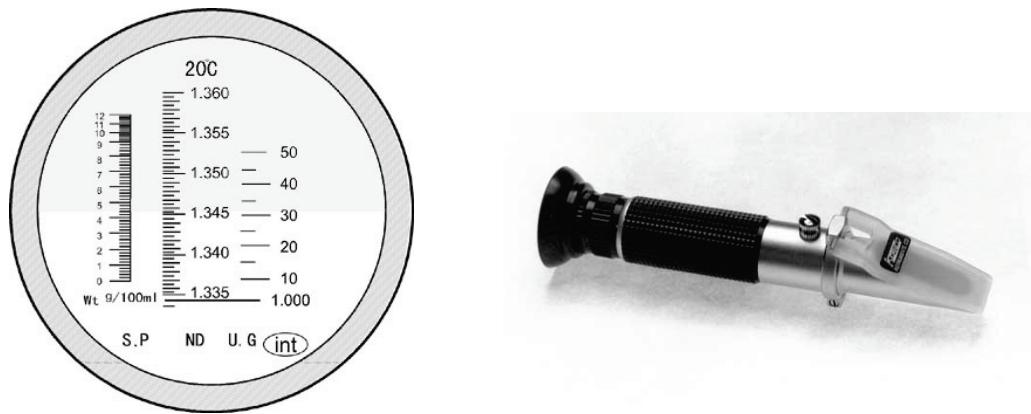
Zadatak 2: Na fotografiji je prikazan aparat za analizu urina pomoću brzih test trakica. Navedite principe ispitivanja mokraće pomoću ovih traka i šta može odrediti u mokraći.



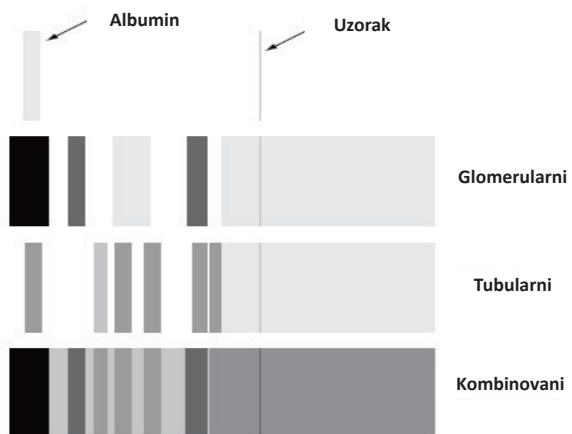
Zadatak 3: U tabeli su date vrednosti koncentracije ketona u mleku i urinu kod krava sa ketozom. Upišite dijagnozu ketoznog stanja.

Mleko	0,0-0,5	0,5-1,7	1,7-21
Mokraća	0,5-2,5	2,5-13	13-600
Dijagnoza			

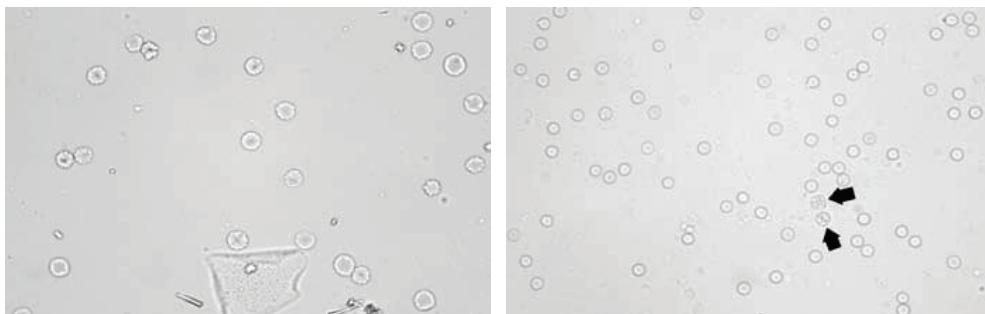
Zadatak 4: Na slici je prikazan polarimetar za određivanje specifične težine mokraće. Navedite kako se vrši merenje i tumačenje specifične težine mokraće.

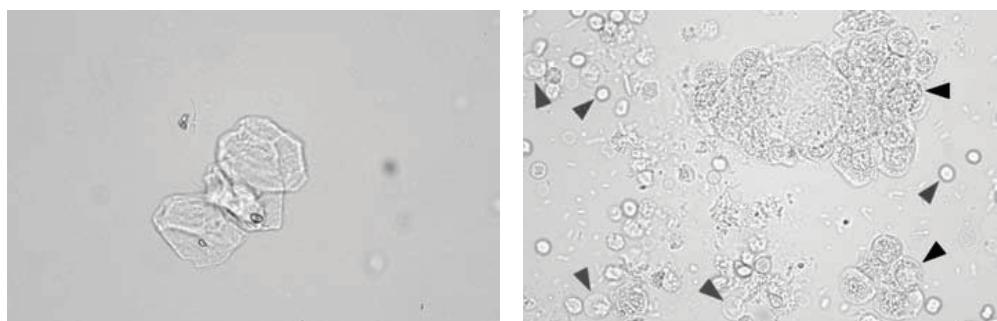
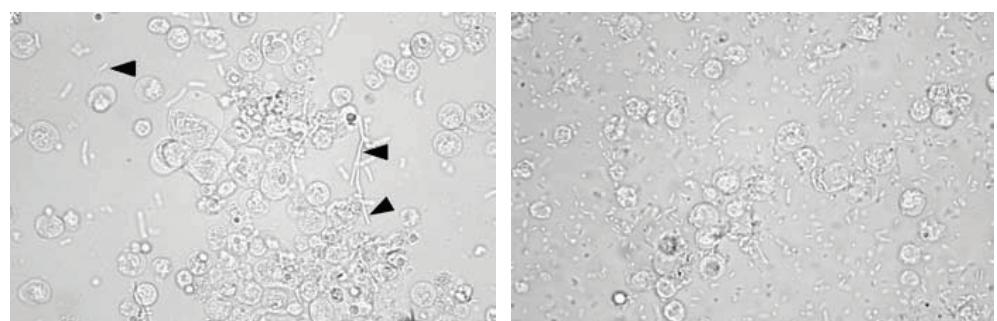
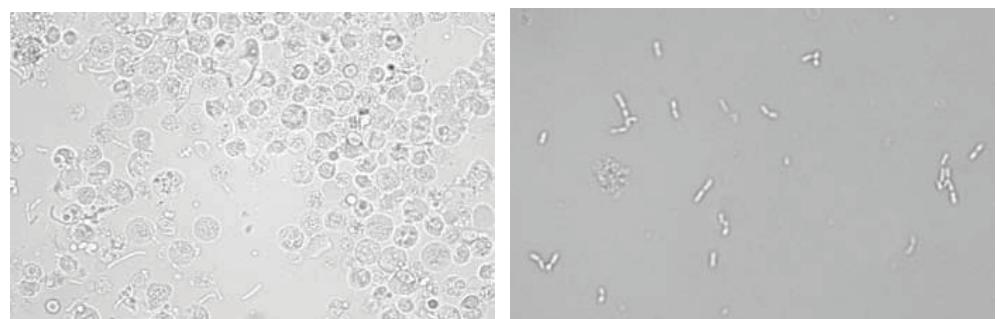


Zadatak 5: Na šemici je prikazan rezultat elektroforeze proteina koji potiču iz različitih delova urinarnog sistema. Objasnite dobijene rezultate elektroforeze.

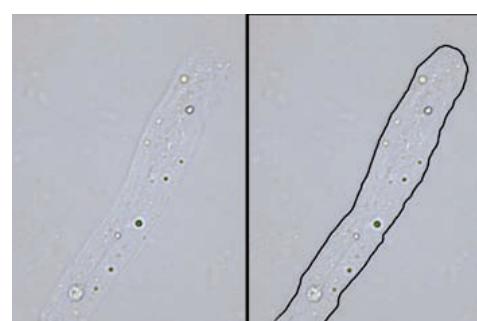


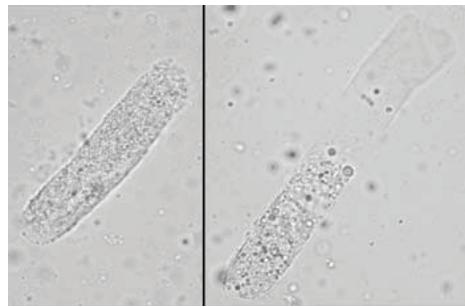
Zadatak 6: Na fotografijama je prikazano osam nalaza sedimenta urina. Napišite ispod slike tip ćelije koji se vidi u sedimentu urina.



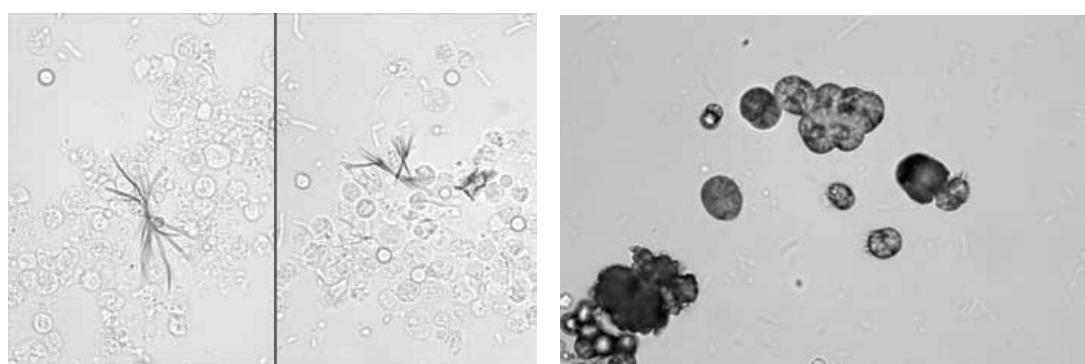
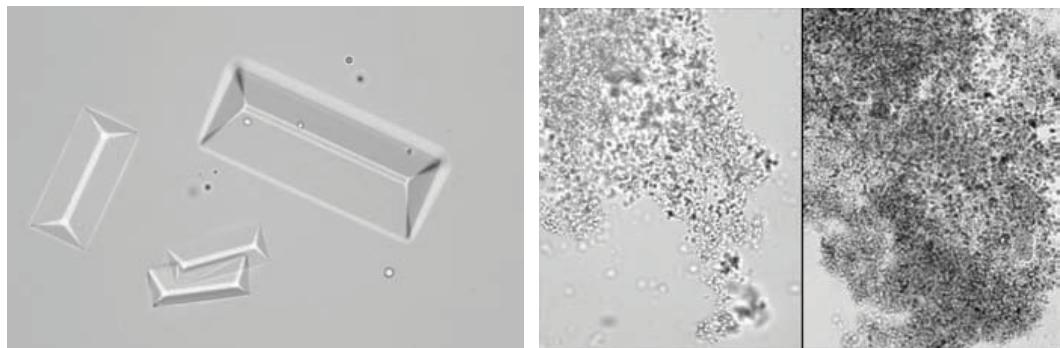


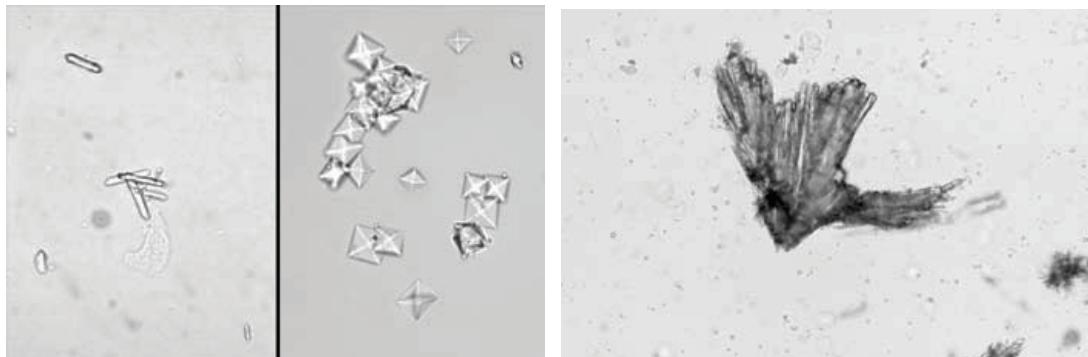
Zadatak 7: Na slikama su prikazani različiti tipovi cilindara u urinu. Napiši ispod slike tip cilindra koji se vidi u sedimentu urina





Zadatak 8: Na fotografijama su prikazani nalazi sedimenta urina sa različitim kristalima.
Napišite ispod slike tip kristala koji se vidi u sedimentu urina





Zadatak 9: Šta je suština određivanja ukupnih bubrežnih klirensa? Objasnite značaj određivanja ukupnih bubrežnih klirensa.

Zadatak 10: U tabeli su prikazani parametri značajni za diferencijalnu dijagnozu prerenalne od postrenalne insuficijencije bubrega. Upišite vrednosti datih parametara u prerenalnom i renalnom insuficijenciji bubrega.

	Prerenalna	Renalna
Frakcija izlučivanja natrijuma		
Koncentracija Na u mokraći		
Odnos kreatinin mokraće:kreatinin plazme		
Odnos azotne uree mokraće i azotne uree plazme		
Specifična težina mokraće		
Osmolarnost mokraće (mmol/kg H ₂ O)		
Odnos BUN/kreatinin u plazmi (mg/dl)		
Pokazatelj zatajivanja bubrega		
Sediment mokraće		

Zadatak 11: Nacrtaj citološke formacije, najčešće kristale i cilindre koji se nalaze u mokraći u različitim patofiziološkim okolnostima.

Zadatak 12: U tabeli su prikazani parametri značajni za diferencijalnu dijagnozu hematurije hemoglobinurije i mioglobinurije. Napišite rezultate nalaza koji su značajni za diferencijalnu dijagnostiku ovih pojava.

	Preko 3 eritrocita	Boja	Bilirubin	CPK
Hematurija				
Hb-urija				
Mb-urija				

Zadatak 13: Kliničke indikacije za patofiziološki pregled urinarnih organa

Zadatak 14: Nabroj sve metode za procenu bubrežne funkcije, po redosledu kojim se izvode

Zadatak 15: Fizička svojstva mokraće

Zadatak 16: Ispitivanje ketonskih tela u mokraći

Zadatak 17: Kvalitativno određivanje belančevina u mokraći

Zadatak 18: Dokazivanje Bence-Jonesovih proteina u mokraći

Zadatak 19: Kvantitativno određivanje belančevina u mokraći

Zadatak 20: Biuretska metoda za mokraću

Zadatak 21: Određivanje selektivnosti proteinurije

Zadatak 22: Pregled sedimenta mokraće

Zadatak 23: Određivanje koncentracije ureje u serumu

Zadatak 24: Određivanje koncentracije kreatinina u serumu i mokraći

Zadatak 25: Određivanje koncentracije mokraće kis. u serumu i mokraći

Zadatak 26: Procena dilucione i koncentracione sposobnosti bubrega

Zadatak 27: Određivanje osmotske koncentracije plazme i mokraće

Zadatak 28: Određivanje ukupnih bubrežnih klirensa

Zadatak 29: Opisati kaskadu patofiziološke procene hematurije

Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj 1:

Renalna insuficijencija

Hematology

RBC	= 4.80 M/ μ L	LOW (5.50 - 8.50)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
HCT	= 31.3 %	LOW (37.0 - 55.0)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
HGB	= 11.5 g/dL	LOW (12.0 - 18.0)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
MCV	= 65.2 fL	(60.0 - 77.0)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
MCH	= 23.98 pg	(18.5 - 30.0)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
MCHC	= 36.8 g/dL	(30.0 - 37.5)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
RDW	= 16.7 %	(14.7 - 17.9)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
%RETIC	= .5 %										
RETIC	= 23.2 K/ μ L										
WBC	= 12.57 K/ μ L	(5.50 - 16.90)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
%NEU	= 86.1 %										
%LYM	= 7.2 %										
%MONO	= 3.4 %										
%EOS	= 2.6 %										
%BASO	= 0.7 %										
NEU	= 10.82 K/ μ L	LOW (2.00 - 12.00)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
LYM	= .90 K/ μ L	LOW (1.00 - 4.90)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
MONO	= .43 K/ μ L	(0.30 - 2.00)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
EOS	= .32 K/ μ L	(0.10 - 1.49)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
BASO	= 0.09 K/ μ L	(0.00 - 0.10)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
PLT	= 51 K/ μ L	LOW (175 - 500)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
MPV	= 22.06 fL										
PDW	= 22.2 %										
PCT	= 0.1 %										

Urinalysis

Method of collection	Cystocentesis
Color	Red
Appearance	Hazy
Specific gravity	1.017
pH	6.5
Protein	+++
Glucose	Negative
Ketones	Negative
Bilirubin	+
Blood	+++
Urobilinogen	Normal
Sediment	
Casts	None seen
WBC	None seen
Epithelia	Rare
RBC	TNTC
Bacteria	None seen
Crystals	Occasional fragments of magnesium ammonium phosphate (struvite) crystals

Chemistry

BUN	= 43 mg/dL	HIGH (7 - 27)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
CREA	= 2.1 mg/dL	HIGH (0.5 - 1.8)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
PHOS	= 6.0 mg/dL	(2.5 - 6.8)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
Ca	= 9.5 mg/dL	(7.9 - 12.0)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
TP	= 7.5 g/dL	(5.2 - 8.2)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
ALB	= 2.4 g/dL	(2.2 - 3.9)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
GLOB	= 5.1 g/dL	HIGH (2.5 - 4.5)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
ALT	= 28 U/L	(10 - 100)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
ALKP	= 158 U/L	(23 - 212)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
TBIL	= 0.1 mg/dL	(0.0 - 0.9)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
CHOL	= 345 mg/dL	HIGH (110 - 320)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
AMYL	= 963 U/L	(500 - 1500)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
GLU	= 98 mg/dL	(70 - 143)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				

Electrolytes

Na	= 153 mmol/L	(144 - 160)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
K	= 4.9 mmol/L	(3.5 - 5.8)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				
Cl	= 115 mmol/L	(109 - 122)	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td><td>■</td></tr></table>	■	■	■	■	■	■	■	■
■	■	■	■	■	■	■	■				

Tumačenje:

Slučaj 2:

Hronično oštećenje bubrega sa komplikacijama na koštanom sistemu

Hematology

RBC	6.25 M/ μ L	(5.50 - 8.50)				
HCT	41.4 %	(37.0 - 55.0)				
HGB	12.8 g/dL	(12.0 - 18.0)				
MCV	66.2 fL	(60.0 - 77.0)				
MCH	20.42 pg	(18.50 - 30.00)				
MCHC	30.8 g/dL	(30.0 - 37.5)				
RDW	15.4 %	(14.7 - 17.9)				
%RETIC	0.3 %	(< 1.0)				
RETIC	17.0 K/ μ L	(< 60.0)				
WBC	5.06 K/ μ L	LOW (5.50 - 16.90)				
Neutrophil	3.52 K/ μ L	(2.00 - 12.00)				
Lymphocyte	0.74 K/ μ L	(0.50 - 4.90)				
Monocyte	0.60 K/ μ L	(0.30 - 2.00)				
Eosinophil	0.18 K/ μ L	(0.10 - 1.49)				
Basophil	0.02 K/ μ L	(0.00 - 0.10)				
Platelets	559 K/ μ L	HIGH (175 - 500)				
MPV	7.18 fL					
PDW	19.4 %					
PCT	0.4 %					

Chemistry

BUN	36 mg/dL	HIGH (7 - 27)				
CREA	2.6 md/dL	HIGH (0.4 - 1.8)				
PHOS	4.5 mg/dL	(2.1 - 6.3)				
Ca	11.2 mg/dL	(8.2 - 12.4)				
Na	154 mmol/L	(141 - 156)				
K	3.9 mmol/L	LOW (4.0 - 5.6)				
Cl	117 mmol/L	HIGH (105 - 115)				
TP	7.5 g/dL	(5.1 - 7.8)				
ALB	3.0 g/dL	(2.5 - 4.0)				
GLOB	4.4 g/dL	(2.1 - 4.5)				
ALT	72 U/L	(5 - 107)				
ALKP	54 U/L	(10 - 150)				
TBIL	0.3 mg/dL	(0.0 - 0.4)				
CHOL	328 mg/dL	(112 - 328)				
AMYL	1286 U/L	(500 - 1500)				
GLU	94 mg/dL	(60 - 125)				
CK	226 U/L	HIGH (10 - 200)				

Chemistry

BUN	100 mg/dL	HIGH (7 - 27)				
CREA	6.9 md/dL	HIGH (0.4 - 1.8)				
PHOS	7.6 mg/dL	HIGH (2.1 - 6.3)				
Ca	12.7 mg/dL	HIGH (8.2 - 12.4)				
Na	149 mmol/L	(141 - 156)				
K	6.2 mmol/L	HIGH (4.0 - 5.6)				
Cl	112 mmol/L	(105 - 115)				
TP	5.8 g/dL	(5.1 - 7.8)				
ALB	2.7 g/dL	(2.5 - 4.0)				
GLOB	3.1 g/dL	(2.1 - 4.5)				
ALT	41 U/L	(5 - 107)				
ALKP	12 U/L	(10 - 150)				
TBIL	0.2 mg/dL	(0.0 - 0.4)				
CHOL	324 mg/dL	(112 - 328)				
GLU	96 mg/dL	(60 - 125)				
CK	35 U/L	(10 - 200)				

Tumačenje:

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Autoimunski glomerulonefritis je pouzdano dokazan kod:
 - a) Konja*
 - b) Pasa
 - c) Mačaka
 - d) Goveda
2. Kod akutnog glomerulonefritisa se javljaju sledeće promene:
 - a) Hematurija*
 - b) Umerena proteinurija*
 - c) Poliurije
 - d) Pozitivan bilans natrijuma*
 - e) Bubrežna hipertenzija*
3. Kliničke manifestacije glomerulonefritisa su vudljive kada glomerulsa filtracija opadne na:
 - a) 80-120 ml/min
 - b) 40-60 ml/min
 - c) 10-15 ml/min*
4. Kliničke manifestacije glomerulonefritisa su vudljive kada je oštećeno:
 - a) 1% nefrona
 - b) 7% nefrona
 - c) 10% nefrona
 - d) 70% nefrona i više*
5. Kod tubulointersticijalnog nefritisa izazvanog preosetljivošću najčešće se radi o:
 - a) I tipu preosetljivosti
 - b) II tipu preosetljivosti
 - c) III tipu preosetljivosti
 - d) IV tipu preosetljivosti*
6. U nefrotskom sindromu osnovni mehanizam koji dovodi do pojave edema je:
 - a) Retencija Na i vode
 - b) Povećano odavanje proteina*
7. U nefritičnom edemu osnovni mehanizam njegovog nastanka je:
 - c) Retencija Na i vode*
 - d) Povećano odavanje proteina
8. Nefrotski sindrom nastaje kada je dnevno izlučivanje proteina veće od _____ g/dan.
9. Edemi nastaju kada albuminemija padne ispod _____ g/L.
10. Nefrotski otoci su posledica:
 - a) povećane permeabilnosti zidova krvnih sudova
 - b) gubitka proteina zbog oštećenja bazalne membrane glomerula*

- c) poremećene glomerularno tubularne ravnoteže
11. Tačno je da su zajedničke odlike nefritisnih i nefrotskih edema sledeće:
- a) topli su, bledi, bezbolni i testasti, lokalizovani pretežno u rastresitom vezivnom tkivu*
 - b) i jedni i drugi dovode do pada koloido-osmotskog (onkotskog) pritiska plazme
 - c) i jedni i drugi dovode do sekundarnog hiperaldosteronizma
 - d) ništa od navedenog nije tačno
12. Nefrotski sindrom je:
- a) klinički izraz različitih bubrežnih oboljenja, u kome dominira masivna proteinurija, hipoproteinemija, hiperlipidemija, hiperkoagulabilnost krvi i otoci*
 - b) poremećaj koncentracione sposobnosti bubrega
 - c) poremećaj dilucione sposobnosti bubrega
 - d) ništa od navedenog
13. Tačno je da su u nefrotskom sindromu žesto prisutni i sledeći poremećaji:
- a) pojačana sklonost ka infekcijama*
 - b) povišena zapreminaintravaskularne plazme
 - c) sekundarni hiperaldosteronizam*
 - d) snižena koncentracija triglicerida i holesterola u serumu
 - e) povećana sklonost za nastanak tromboembolijskih komplikacija*
14. Nefrolitijaza je:
- a) bolest stvaranja bubrežnih kamenaca*
 - b) impregnacija bubrežnog parenhima solima kalcijuma
15. Cilindrurija je:
- a) normalni urinarni nalaz
 - b) znak oštećenja bubrežnog parenhima*
 - c) obavezan nalaz u infekcijama donjih mokraćnih puteva
16. Uzroci prerenalne insuficijencije bubrega su:
- a) Krvarenje
 - b) Dehidratacija
 - c) Povraćenje
 - d) Insuficijencija srca
 - e) Insuficijencija jetre
 - f) Pojava šoka
 - g) Svi navedeni odgovori su tačni*
17. Za cirkulacijski (prerenalni) oblik akutne bubrežne insuficijencije tačne su sledeće tvrdnje:
- a) uvek postoji oligo-anurija*
 - b) mokraća je izostenurična
 - c) nastaje zbog pada filtracionog pritiska u glomerulima izazvanog hipovolemijom ili padom sistemskog krvnog pritiska*
 - d) koncentracije azotnih materija u krvi nikad nije povišen.
 - e) koncentracije natrijuma i hlorida u mokraći su niske*

18. Za renalni oblik akutne bubrežne insuficijencije karakteristično je:

- a) mokraća je hiperosmolarna u odnosu na plazmu
- b) koncentracija natrijuma u mokraći je povišena *
- c) odlikuje se hipokalijemijom
- d) koncentracija azotnih materija u serumu je povišena, a u mokraći znatno snižena*

19. U akutnoj renalnoj insuficijenci, za razliku od prerenalne, nema mogućnosti ekskrecije koncentrisanog urina, bez obzira na oliguriju.

DA*

NE

20. Osmolarnost urina je veća u renalnoj bubrežnoj insuficijenci nego u prerenalnoj.

DA

NE*

21. Za poslerenalni oblik akutne bubrežne insuficijencije tačne su sledeće tvrdnje:

- a) osnovni patogenetski mehanizam nastanka oligurije u bolesnom bubregu jeste nemogućnost oticanja već stvorene mokraće*
- b) pad jačine glomerulske filtracije je uzrokovani povišenim intrarenalnim pritiskom*
- c) koncentracija azotnih materija u serumu nije povišena kod opstrukcije solitarnog bubrega
- d) dugotrajna opstrukcija bubrega dovodi do gubitka funkcije istog*

22. Azotemija i uremija su sinonimi.

DA

NE*

23. Koje su od navedenih tvrdnji tačne za hroničnu bubrežnu insuficijenciju:

- a) azotemija, metabolička acidozna i druge nenormalnosti u sastavu telesnih tečnosti nastaju u njenoj terminalnoj fazi
- b) u stvaranju mokraće učestvuju samo preostali zdravi nefroni sa očuvanom glomerulo-tubulskom funkcijom
- c) izostenurija je posledica prevelikog osmotskog opterećenja po preostalim zdravim nefronima
- d) sve od navedenog je tačno*

24. Uremiju prate sledeće abnormalnosti:

- a) Metabolička acidozna*
- b) Hiperkalcemija
- c) Hipofosfatemija
- d) Hiperurikemija*
- e) Hipertrigliceridemija*
- f) Sekundarni hiperparatiroidizam*
- g) Povećana koncentracija vitamina D
- h) Hipertermija

25. Neselektivna proteinurija označava veći stepen strukturnog oštećenja glomerulskog filtra od selektivne.

DA*
NE

26. Masivna mioglobinemija tokom oštećenja muskulature može da dovede do oštećenja funkcije bubrega.

DA*
NE

27. Veliki broj epitelnih ćelija u sedimentu govore u prilog zapaljenskog procesa urotela izvodnih mokraćnih puteva.

DA*
NE

28. Crvena boja mokraće uvek ukazuje na hematuriju.

DA
NE*

29. Osnovni poremećaj u hepato-renallnom sindromu je vazokonstrikcija u kortikalnim krvnim sudovima bubrega sa sledstvenim padom jačine glomerulske filtracije.

DA*
NE

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Glomerulska filtracija i tubulska reapsorpcija u patogenezi bubrežnih bolesti
2. Patofiziologija glomerulskih bolesti bubrega
3. Patofiziologija tubulointersticijalnih bolesti bubrega
4. Patofiziologija bubrežnih edema
5. Akutna bubrežna insuficijencija definicija i podela
6. Renalna akutna bubrežna insuficijencija
7. Hronična bubrežna insuficijencija
8. Sekundarni hiperparatiroidizam kod hronične bubrežne insuficijencije
9. Patofiziologija i biohemija uremije
10. Poremećaj količine mokraće
11. Poremećaj sastava mokraće
12. Patofiziologija i simptomi donjeg urinarnog trakta
13. Patofiziološka dijagnostika i interpretacija poremećaja urinarnog sistema

PATOFIZIOLOGIJA ENDOKRINOG SISTEMA

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

Za dijagnostiku endokrinog sistema neophodna su merenja koncentracije hormona u perifernoj krvi ili serumu pacijenta. Merenja se vrše sledećim metodama: fotometrija, fluorimetrija, hromatografija, metodom HPLC-a, radioimunološkim i imunohemijskim metodama. Na osnovu dobijenih rezultata razlikujemo: normoskereciju, hiposekreciju ili hipersekreciju žlezda endokrinog sistema. Ovakvo tumačenje rezultata je objektivno ako su razgradnja i izlučivanje hormona u granicama normale, ako ne postoji gubitak hormona i ako koncentracija transportnih proteina u krvi nije izmenjena. Ispravnije je zbog navedenih razloga vršiti merenje koncentracije slobodnih hormona, a ne ukupne koncentracije hormona. Gubitak hormona se javlja kod pacijenata koji se nalaze na dijalizi. Kod insuficijencije jetre postoji smanjena razgradnja hormona. Tokom gravidnosti može se povećati koncentracija transportnih proteina za hormone. Merenje hormona u krvi i merenje koncentracije metabolita hormona putem mokraće (metaboliti kortizola) ili mleka (progesteron kod krava) posebno je pogodno kada je neophodno ispitati funkcionalno stanje žlezde tokom 24 h.

Za sigurnu dijagnozu hipo/hiperfunkciji neophodno je da pozajmimo fiziološki dnevni ritam lučenja hormona kod ispitivane jedinke. Ukoliko sumnjamo na hiperfunkciju žlezde sa povećanim lučenjem hormona, uzorak krvi se ispituje kada je fiziološki produkcija hormona žlezde minimalna. Ukoliko sumnjamo na hipofunkciju, krvni uzorak uzimamo kada očekujemo maksimalno lučenje hormona u diurnalnom ritmu.

Zbog povezanosti endokrinog sistema (hipotalamus-hipofiza-žlezda), često se u cilju ispitivanja funkcionalnog kapaciteta žlezde i viših centara i njihove međusobne veze izvode testovi stimulacije ili supresije. Testovi supresije se najčešće izvode da bi se ustanovilo prekomerno lučenje hormona. Životinji se daje supstanca koja pokreće negativnu povratnu spregu i inhibiciju lučenja hormona. Izostanak supresije ukazuje da lučenje hormona nije pod kontrolom povratne sprege, tj. da je sekrecija autonomna. Ovi testovi se primenjuju kod ispitivanja nedovoljnog lučenja hormona. Pacijentu se daje tropni hormon, koji normalno stimuliše izlučivanje, a zatim se meri reakcija. Normalan odgovor ukazuje da žlezda nije oštećena, dok izostanak reakcije ukazuje da oštećenje žlezde. Kod ovih testova, treba uzorak krvi uzimati posle aplikacije po proceduri proizvođača, da bi se utvrdila dinamika odgovora.

Diferencijalna dijagnoza hipo i hiperfunkcije žlezde na osnovu koncentracije hormona:

HIPOFUNKCIJA						
Koncentracije u krvi	Primarna			Sekundarna		
	Bazalno	Simulacija	Supresija	Bazalno	Simulacija	Supresija
Hormon	Snižena	0	-	Snižena	+	-
Tropni hormon	Povišena	+++	-	Snižena	0	-
HIPERFUNKCIJA						
Koncentracije u krvi	Primarna			Sekundarna		
	Bazalno	Simulacija	Supresija	Bazalno	Simulacija	Supresija
Hormon	Povišena	-	0	Povišena	+	0
Tropni hormon	Snižena	0	-	Povišena	0	0

Modifikovana koncentraciona proba (modified water deprivation test) se koristi za ispitivanje neurohipofize. Pomoću nje se određuje postojanje sekrecija endogenog vazopresina i odgovor bubrega na njegovo prisustvo u krvotoku. Test se izvodi kada postoji polidipsija i poliurija, posebno u uslovima ako je specifična težina urina ispod 1,006. Pre samog izvođenja funkcionalnog ispitivanja mora se precizno izvršiti diferencijalna dijagnoza: hiperglikemija ukazuje na dijabetes melitus, bubrežni profil može da ukaže na poliuričnu fazu insuficijencije, diferencijalna krvna slika može da ukaže na pijelonefritis, piometra na polidipsiju i poliuriju, a pojava kožnih promena u vidu simetrične alopecije može da ukaže na druge endokrine poremećaje. Kada se isključe ostale bolesti modifikovana koncentraciona proba se izvodi kroz 4 faze po sledećoj proceduri:

1 – Priprema-ograničenje unosa voda: 72 sata pre testa ograničava se unos vode na 120 ml/kg/dan u manjim porcijama, 48 sati pre testa ograničava unos vode na oko 90 ml/kg/dan i 24 sata pre testa ograničiti unos vode na 60-80 ml/kg/dan.

2 – Uskraćenje vode: Pre početka testa se uskraćuje voda i hrana, potpuno prazni mokraćna bešika, precizno meri telesna masa, određuje se osmolarnost/specifična težina urina, određuje se osmolarnost krvnog seruma, određuje se BUN, stepen hidratacije i status CNS-a. U toku testa se potpuno prazni mokraćna bešika na svakih 60-120 minuta, precizno meri telesna masu na svakih 60 minuta, određuje se osmolarnost/specifična težina urina na svakih 60 minuta, određuje se stepen hidratacije i status CNS na svakih 60 minuta, proverava se vrednost BUN-a i osmolarnost krvnog seruma. Na kraju druge faze, kada specifična težina urina pređe 1,030, kada je pas klinički dehidrirao ili izgleda bolesno i kada pas gubi više od 3-5% telesne mase treba uzeti uzorak seruma za određivanje vazopresina, isprazniti mokraćnu bešiku, proveriti osmolaritet/specifičnu težinu urina, proveriti BUN i proveriti osmolarnost seruma.

3 – Odgovor na egzogeni vazopresin: treba aplikovati vodeni rastvor vazopresina 2-5 IU im, nastaviti sa uskraćenjem vode i hrane, pratiti pacijenta (prazniti bešiku na svakih 30 minuta tokom 2h, odrediti osmolarnost/specifičnu težinu urina, odrediti osmolarnost krvnog seruma, BUN, stepen hidratacije i status CNS-a).

4 – Kraj testa: Na kraju testa treba životinji dati male količine vode (10-20 ml/kg) svakih 30 minuta tokom 2h, pratiti pojavu povraćanja, stepen hidratacije i stanje CNS-a, te ako se pacijent dobro oseća 2h nakon završetka testa dati mu vodu ad libidum.

Rezultati ove probe pokazuju da kada se aplikuje vazopresin zdravom psu u toku koncentracione probe ne dešavaju značajne reakcije u pogledu promene osmolarnosti i specifične težine mokraće, jer kod ovih životinja već postoji maksimalna stimulacija endogene sekrecije vazopresina. Smatra se da promene osmolarnosti ili specifične težine mokraće u okviru $\pm 10\%$ nemaju dijagnostički značaj. Normalnim vrednostima se smatraju vrednosti osmolariteta urina značajno više od osmolariteta seruma. Kod zdravih pasa i mačaka se nakon dehidratacije postižu vrednosti osmolaliteta urina od preko 1100 mOsm/kg i specifična masa urina raste preko 1,030, pa ako se tokom koncentracionog testa pređu ove granice, ne treba vršiti aplikaciju vazopresin, jer je hipofizna sekrecija vazopresina u fiziološkim granicama.

Test odgovora na dezmpresin je alternativna metoda u odnosu na predhodnu metodu, u kojoj se vrši aplikacija navedenog sintetskog vazopresina. Pre izvođenja testa vlasnik životinje treba da stekne uvid u količinu vode koju životinja pije, 2-3 dana pre testa jednom dnevno sakupiti mokraću i odrediti njenu specifičnu težinu i osmotsku koncentraciju. Nakon navedenog krenuti sa aplikacijom dezmpersina u toku 5-7 dana. U tom periodu svakodnevno treba meriti unos vode, odrediti specifičnu težinu i osmolaritet urina. Dijagnoza centralnog dijabetes insipidusa se potvrđuje značajnim smanjenjem unosa vode i/ili povećanim stepenom koncentrovanja urina (za preko 50%).

Test stimulacije klonidinom se zasniva na njegovoj sposobnosti da stimuliše sekreciju endogenog GNRH, koji dalje stimuliše lučenje hormona rasta. Za vreme testa raste koncentracija STH i glukoze, a opada koncentracija insulina. Najčešće se za test koristi doza od 10 µg/kg klonidina IV, a uzorak krvne plazme se uzima: pre samog testa, 15, 30, 45, 60 i 120 minuta posle aplikacije klonidina. Kod zdravih pasa koncentracija hormona rasta raste brzo nakon aplikacije klonidina i dostiže maksimum posle 15-30 minuta, a potom brzo opada na bazalni nivo. Maksimalni nivo STH kod pasa prelazi 10 ng/ml.

Štitna žlezda se ispituje sledećim testovima: određivanje koncentracije ukupnog tiroksina (TT4), određivanje slobodnog tiroksina (eng. free TT4, fTT4), određivanje ukupne koncentracije trijodtironina (TT3), određivanje koncentracije slobodnog trijodtironina (fTT3), određivanje koncentracije rezervnog T3 (rT3), određivanje koncentracije TSH i funkcionalni test TSH-stim.

Bazalna koncentracija ukupnog tiroksina (TT4) je najbolji test za dijagnozu hipotireoze. Treba znati da mnogi terapijski i dijetetski postupci deluju na tireoidnu žlezdu. Potrebno je ispravno tumačenje nalaza koncentracije T4 ($\mu\text{g}/\text{dl}$) za procenu hipotireoze kod pasa: $>2 \mu\text{g}/\text{dl}$ se tumači kao vrlo malo verovatna šansa da postoji hipotireoza, 1,5-2,0 malo verovatna šansa da postoji, 1,0-1,5 nejasno (ponoviti testiranje kada je vrenost u rasponu 1,2-1,5), 0,5-1,0 verovatno postoji hipotireoza, $<0,5$ vrlo verovatno da postoji hipotireoza. Određivanje fTT4 je značajno, jer su njegove promene znatno manje podložne faktorima koji su van štitne žlezde, ali je to testiranje znatno skuplje i dugotrajnije.

TSH-stim test (test stimulacije tireostimulirajućim hormonom) izvodi se tako što se određivanjem bazične koncentracije TT4 u serumu 6 sati pre i posle aplikacije 0,1 IU/kg TSH i.v.. Ako je pas oboleo od hipotireoze koncentracije TT4 u oba uzorka će biti vrednosti ispod 1,5 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

ACTH-stim test (test stimulacije nadbubrega sa ACTH) je vrlo jednostavan i ekonomičan test. Značajan je za procenu adaptabilnih sposobnosti kod životinja, a u kliničkom smislu je značajan za dijagnostiku Kušingove bolesti. Psi i mačke koje boluju od Kušingove bolesti ili imaju tumor kore nadbubrega koji luči kortizol, imaju povišenu sposobnost da reaguju na stimulaciju, što se manifestuje u povišenom koncentracijom kortizola nakon aplikacije ACTH. Test se izvodi u jutarnjim časovima i krv se uzima 1-2 sata posle stimulacije. Referentne vrednosti za basalnu koncentraciju kortizola su 5 i 6,0 $\mu\text{g}/\text{dL}$, dok je nakon stimulacije nivo kortizola između 6 i 17 $\mu\text{g}/\text{dL}$. Ukoliko je vrednost između 17 i 22 $\mu\text{g}/\text{dL}$ može se posumnjati na hiperadrenokorticizam, a ako koncentracija kortizola pređe 22 može se i postaviti dijagnozu hiperadrenokorticizma. Koncentracija kortizola se meri pre i nakon stimulacije.

Deksametazonski skrining test (Low-dose Dexametason test, LDD test) se koristi za dijagnostiku sekundarnog hiperadrenokorticizma (97% tačnost). Kod zdravih pasa i mačaka nivo kortizola se po aplikaciji deksametazona snižava već posle 2-3 h od aplikacije, a nizak nivo se zadržava duže od 8h (često 24 - 48h). Kod zdravih pasa koncentracija kortizola opada na ispod 1,0 $\mu\text{g}/\text{dL}$. Kod sekundarnog hiperadrenokorticizma nivo kortizola u krvnoj plazmi 8h nakon testa iznosi 1,4 $\mu\text{g}/\text{dL}$ i više. Ukoliko je hiperadrenokorticizam posledica tumora kore nadbubrega koji luči kortizol, tada je endogena sekrecija ACTH snižena, a deksametazonski test ne dovodi do promene nivoa kortizola u krvnoj plazmi. Životinje sa sekundarnim hiperadrenokorticizmom, izazvanim nekontrolisanim lučenjem ACTH, imaju slabiju reakciju na deksametazon.

Supresioni deksametazonski testovi – se koriste za diferencijalnu dijagnostiku primarnog i sekundarnog hiperadrenokorticizma, a razlikujemo: Low-dose dexamethasone suppression test (LDDS) (apl 0,01 mg/kg IV) i High-dose dexamethasone suppression test (HDDS) (apl 0,1 mg/kg IV). Kod oba testa uzorak krvi se uzima pre njegovog izvođenja da bi se odredila bazalna koncentracija kortizola. U toku LDDS testa uzorci se uzimaju 4 i 8h nakon aplikacije. Kod HDDS testa uzorci se uzimaju samo 8h posle aplikacije deksametazona. Kriterijumi za procenu

hiperadrenokorticizma su sledeći: nivo kortizola u krvnoj plazmi 4 h je niži od 1,4 µg/dL, nivo kortizola u 4 h je ispod 50% u odnosu na bazalnu vrednost i nivo kortizola u krvnoj plazmi 8 h od aplikacije je ispod 50% od bazične vrednosti. Ispunjeno jednog od tri navedena kriterijuma ukazuje da životinja vrlo verovatno boluje od sekundarnog hiperadrenokorticizma (Kušingova bolest).

Koncentracija kortizola u krvi nije najpouzdaniji pokazatelj funkcionalnog kapaciteta stresne ose i sposobnosti prilagođavanja na stres. Kvalitetniji pokazatelj kapaciteta kore nadbubrega su rezultati dobijeni inhibicionim i stimulacionim testovima.

Inhibicioni testovi (testovi inhibicije) se izvode kada postoji sumnja na hiperkorticizam. Kod goveda hiperkorticizam najčešće nastaje kao posledica tumora kore nadbubrega. Test se izvodi aplikacijom sintetskog glukokortikoida (deksametazon), posle čega se očekuje značajan pad koncentracije kortizola u organizmu. Kod hiperkorticizma, koncentracija kortizola se nakon aplikacije ne menja, zbog izostanka povratne sprege ili razvoja tumora.

Testovi stimulacije se izvode kada postoji sumnja na hipokorticizam. Kod goveda se hiperkorticizam izuzetno retko javlja, a insuficijencija kore nadbubrega je znatno veći problem kod mlečnih krava. Poznato je da glukokortikoidi značajno ulaze u laktogenezu, a da je visoka proizvodnja mleka stresogen, pa se može predpostaviti da mlečna žlezda troši značajne količine kortizola, koji bi poslužio u kvalitetnom savlađivanju eustresa. Krave sa izraženim hipokorticizmom u peripartalnom periodu pokazuju veću stopu mortaliteta i češće oboljevaju od ketoze.

Jedan od prvih testova koji se koristio za ispitivanje hipokorticizma je Thornov test. Za izvođenje ovog testa intramuskularno treba aplikovati ACTH u dozi 25 IJ / 100 kg telesne mase. Potom treba uzeti krv iz vene jugularis, pre davanja kao i 4 i 8 h nakon davanja ACTH. Nakon venepunkcije treba vršiti diferenciranje elemenata bele krvne loze. Smatra se da je kora nadbubrega stimulisana ako je 10 h posle aplikacije ACTH broj eozinofila smanjen za više od 50%, broj neutrofila povećan za više od 100%, ukupan broj leukocita povećan za više od 10% i glikemija povišena za više od 5%. Da bi se test smatrao pozitivnim potrebno je da budu ispunjena tri od navedenih kriterijuma.

Za dobijanje preciznih rezultata aktivnosti nadbubrega posle stimulacije sa ACTH mora vršiti merenje koncentracije kortizola. Veliki broj rezultata koncentracije kortizola su različiti, jer je odgovor posle stimulacije sa ACTH varirao od 80-350 nmol/l kortizola. U cilju standardizacije stimulacionog testa istraživači su došli do vrednosti prema kome se koncentracija kortizola linearno penje ukoliko se aplikuje do 12 IJ ACTH, a nakon te vrednosti visoka koncentracija kortizola nestaje. Neophodno je primanjivati što manju dozu ACTH, aplikovati intravenski u dozi od 6IJ, test izvoditi u periodu 7-10 h pre podne. Ako se navedena procedura ispoštuje koncentracija kortizola u uzorcima prikupljenim u toku 60-90 minuta daju adekvatnu informaciju o funkcionalnom kapacitetu nadbubrega.

Ispitivanje endokrinog pankreasa – Ispitivanje endokrinog pankreasa je od izuzetnog značaja za dijagnostiku diabetes mellitus-a. Testovi za dijagnostiku dijabetesa su sledeći:

1) Test tolerancije glukoze (IVGTT) –

1. Pacijent se hospitalizuje 24 sata pre testa.
2. Postavi se kruti kateter u v.jugularis ili v.saphenu medialis (ako je za postavljanje katetera potrebna narkoza, omogućiti 24h oporavka).
3. Prekida se nepotrebna terapija 24-48h pre testa.
4. Uskraćuje se hrana 12 sati
5. Prikuplja se bazalni uzorak krvne plazme za određivanje insulina i glukoze.

6. Aplikuje se 0,5 ili 50% dekstroza/kg TM u roku 30 sec (za ovaj postupak se ne koristiti kateter za uzimanje krvi). Uzorci krvi za određivanje glukoze i insulina se sakupljaju 1, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 i 120 min nakon aplikacije glukoze.

Kod životinja obolelih od dijabetesa glikemija je znatno viša od samog početka testa. Maksimalna vrednost glikemije postiže se u 15. minuti testa, a potom naglo opada blizu početne vrednosti.

2) Test tolerancije glukagona (Intravenous glucagon tolerance test) –

Test se izvodi kao predhodni do momenta aplikacije (tačka 5) ista procedura kao i za IVGTT, kada se

6. Aplikuje 0,5 mg (mačka) ili 1 mg (pas) glukagona IV u roku od 30 sec.

7. Uzorci za određivanje glukoze i insulina se prikupljaju 5, 10, 20, 30, 45 i 60 min nakon aplikacije glukagona.

3) Oralni glukoza tolerans test (Oral glucose tolerance test, OGTT) –

Test se izvodi kao predhodni do momenta aplikacije (tačka 5) ista procedura kao i za IVGTT, kada se

6. Aplikuje 50g dekstroze (100ml 50% dekstroze) razbleženo sa vodom, putem gastrične sonde.

7. Uzorci za određivanje glukoze i insulina se prikupljaju 15, 30, 60, 90 i 120 minuta nakon oralne aplikacije glukoze.

Kod mačaka obolelih od spontanog dijabetesa uočava se znatno viša početna koncentracija glukoze u krvi i porast glikemije nakon i.v. aplikacije glukoze, koji po asolutnoj vrednosti odgovara zdravim životinjama. Mačke obolele od insulin-zavisnog dijabetesa imaju znatno sporiji pad glikemije u periodu 5-60 minuta od početka testa. Kod dijabetičnih životinja koncentracija insulina je na bazalom novou, dok se kod zdravih jedinki nivo insulina u krvi se povećava 2-3 puta.

Kod prezivara se za procenu funkcionalne sposobnosti pankreasa u sekreciji insulina, određuje se K vrednost: $K = [(log G_1 - log G_2) \ln 10] / t$

G₁-glikemija (mmol/l) u 30. minuti posle opterećenja glukozom

G₂- u 60. min.

t-60'-30 '= 30

ln10=2,3

Normalna K vrednost se kreće od 1,2 do 2,2, sumnjiva je od 1 do 1,2 i patološka je manja od 1. Kada se ispituju mlečne krave potrebno je obavezno odrediti i koncentraciju insulina, da bi se otklonila mogućnost razvoja insulinske rezistencije.

Aciklija kod ženke – se vrši nakon isključenja graviditeta, a zatim se određuje koncentraciju polnih hormona i eventualno izvršili stimulacione testove za hipofizu. Povišena koncentracija gonadotropnih hormona (posebno FSH), uz smanjenu koncentraciju estradiola, ukazuje da nema funkcije jajnika. Normalna koncentracija gonadotropina uz snižen estradiol upućuje na mogućnost tzv. testikularne feminizacije, te treba odrediti koncentraciju muških polnih hormona i kariogram. Snižena koncentracija estradiola uz sniženu koncentraciju gonadotropnih hormona ukazuje da postoji eventualni problem u hipofizi ili hipotalamusu. Potrebno je izmeriti prolaktin u plazmi. Visoka koncentracija ukazuje na problem u hipotalamusu ili hipofizi. Ako je povišena koncentracija treba ponoviti ispitivanje, da bi odstranili faktor stresa Na osnovu testa otpuštanja gonadotropina možemo zaključiti: normalna reakcija gonadotropina ukazuje da je uzrok verovatno u hipotalamusu, a subnormalna reakcija ukazuje na oštećenje hipofize. Kod mlečnih krava je značajno određivanje progesterona u mleku

za ranu detekciju gravidnosti, dok progesteron u krvi u peripartalnom periodu može ukazati na brzinu reuspostavljanja estrusog ciklusa.

Sterilitet mužjaka se ispituje koncentracijom LH. Povišena koncentracija LH uz sniženu koncentraciju testosterona znači da su zatajile Lajdigove ćelije. Povišen LH uz uz normalan testosteron upozorava na manji stupanj oštećenja testisa i kompenzatori porast izlučivanja LH. Snižen LH uz snižen testosteron ukazuje na oboljenje hipotalamusa ili hipofize, te treba odrediti koncentraciju prolaktina u plazmi. Ukoliko je ona znatno povišena moguće je da postoji tumor hipofize, te treba uraditi stimulacione testove. Bez obzira na vrednost koncentracije testosterona, povišena koncentracija FSH ukazuje na prestanak rada seminifernih tubula, sa malo spermatozoida. Oligospermija (smanjena koncentracija spermatozoida) uz nisku koncentraciju FSH ukazuje na bolest hipofize ili hipotalamusa koju treba dalje dijagnostikovati.

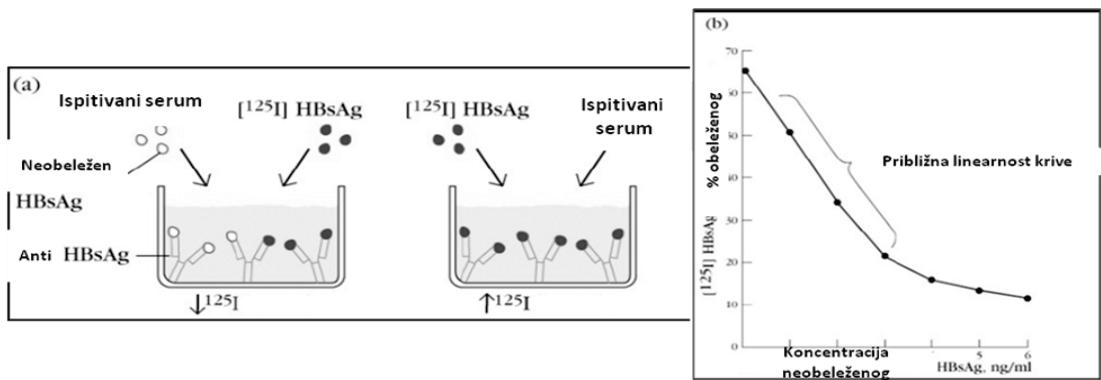
Zadaci za vežbanje

Zadatak 1: Navedite od čega zavisi u kom periodu dana ćemo uzimati uzorke krvi za određivanje koncentracije hormona?

Zadatak 2: Navedite koji parametri pored hormona mogu ukazati na izmenjenu endokrinu aktivnost u organizmu?

Zadatak 3: Nabrojte metode za određivanje koncentracije hormona.

Zadatak 4: Na fotografijisu prikazani tok i kriva koncentracije hormona u RIA metodi. Opišite ria metodu i principe njenog izvođenja.



Zadatak 5: Objasnite stimulativne i supresivne testovi u kliničkoj endokrinologiji i kada se i na koji način oni primenjuju?

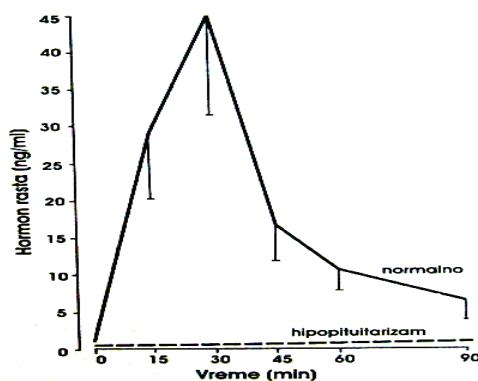
Zadatak 6: U tabelama su prikazni parametri hipo i hiperfunkcije endokrinih žlezda. Napišite u dijagnostičku šemu endokrinih poremećaja moguće promene (povišeno, sniženo, nepromenjeno) koncentracije hormona i tropnih hormona u zavisnosti od poremećaja i testa.

HIPOFUNKCIJA						
Koncentracija u krvi	Primarna			Sekundarna		
	Bazalno	Stimulacija	Supresija	Bazalno	Stimulacija	Supresija
Hormon						
Tropni hormon						

HIPERFUNKCIJA						
Koncentracija u krvi	Primarna			Sekundarna		
	Bazalno	Stimulacija	Supresija	Bazalno	Stimulacija	Supresija
Hormon						
Tropni hormon						

Zadatak 7: Navedite kako se izvodi modifikovana koncentraciona proba za ispitivanje funkcije neurohipofize.

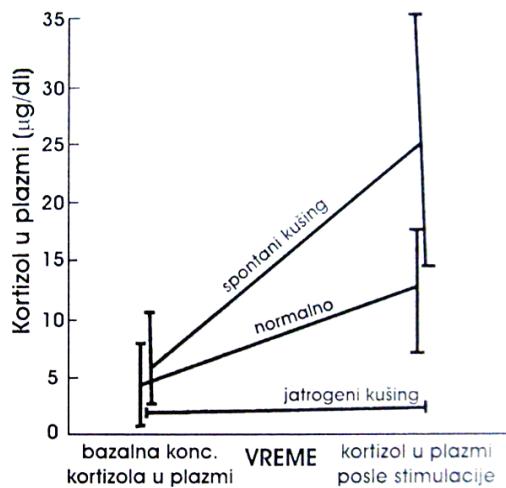
Zadatak 8: Na slici je prikazana kriva testa stimulacije klonidino. Objasni test i dobijeni rezultat.



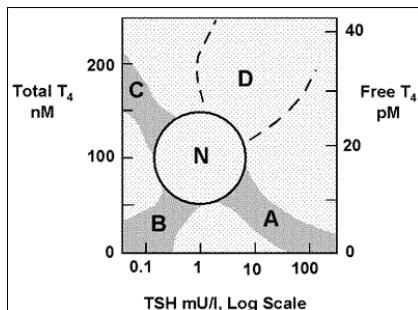
Zadatak 9: U tabeli su date vrste dinamskih ispitivanja, opišite kako se one izvode.

Stimulacija glukokortikoida i androgena	
Supresija lučenja glukokortikoida	
Ispitivanje funkcije mineralokortikoida	
Ispitivanje srži nadbubrega	

Zadatak 10: Na dijagramu je dat rezultat ACTH-stimulacionog testa. Objasnite ovaj test i dobijeni rezultat.



Zadatak 11: Na šemi je prikazan odnos TSH i tireoidnih hormona. Polje N označava fiziološki odnos TSH i tireoidnih hormona. Upišite koji poremećaji bi mogli postojati u vezi prikazanih rezultata A, B, C i D.



Zadatak 12: Objasnite odnos Ca, P i AP u poremećajima funkcije paratireoidee.

Zadatak 13: U tabeli su date vrednosti endokrinoloških nalaza kod ženki. Objasnite patofiziološke uzroke amenoreje i aciklije ženke koji imaju date vrednosti.

Endokrinološki nalaz	Uzrok
Estradiol snižen, FSH povišen	
Estradiol snižen, gonadotropini optimalni	
Estradiol snižen, gonadotropini sniženi	

Zadatak 14: U tabeli su dati poremećaju funkcije muških polnih žlezda. Pored navedenog poremećaja funkcije mužkih polnih žlezda napišite endokrinološki nalaz navedenih poremećaja.

Poremećaj	Mogući endokrinološki nalaz
Zatajivanje Lajdigovih ćelija	
Neznatno oštećenje testisa	
Oštećenje hipofize	
Zatajivanje seminifernih tubula	

Zadatak 15: U tabeli su navedeni poremećaji endokrinih funkcija žlezda. Napišite najčešće hematološke i biohemijske promene kod navedenih poremećaja endokrinih funkcija.

Poremećaj	Promne u krvi
Hipertireoidizam	
Hipotireoidizam	
Hiperadrenokorticizam	
Hipoadrenokorticizam	
Hiperparatiroidizam	
Hipoparatiroidizam	
Diabetes mellitus	
Diabetes insipidus	

Zadatak 16: Opšti principi dijagnostike endokrinih poremećaja

Zadatak 17: Dijagnostička šema endokrinih poremećaja na osnovu koncentracije hormona u krvi i dinamskih testova

Zadatak 18: Supresivni i stimulativni testovi u endokrinologiji

Zadatak 19: Određivanje kortizola u serumu i plazmi

Zadatak 20: Određivanje 17-ketosteroida (17-KS) u urinu

Zadatak 21: Dinamska ispitivanja nadbubrežne žlezde

Zadatak 22: Endokrinološko ispitivanje amenoreje i aciklije ženke

Zadatak 23: Endokrinološko ispitivanje neplodnosti mužjaka

Zadatak 24: Objasni diferencijalnu dijagnozu poremećaja funkcije paratireoidne žlezde pomoću određivanja PTH, Ca i P (u krvi i urinu)

Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj 1:

Dijagnoza: Pituitarni hiperadrenokorticizam psa

Hematology

RBC	6.73	M/mL	(5.50 - 8.50)
HCT	49.0	%	(37.0 - 55.0)
HGB	15.9	g/dL	(12.0 - 18.0)
MCV	72.8	fL	(60 - 77)
MCH	23.6	pg	(19.5 - 26.0)
MCHC	32.4	g/dL	(32 - 36)
WBC	20.60	K/mL	High (5.70 - 16.30)
Neutrophil	18.40	K/mL	High (3.00 - 11.50)
Band	0.0	K/mL	(0.00 - 0.30)
Lymphocyte	0.8	K/mL	Low (1.00 - 4.80)
Monocyte	1.40	K/mL	High (0.15 - 1.35)
Eosinophil	0.0	K/mL	Low (0.10 - 1.25)
Platelets	333	K/mL	(164 - 510)

Chemistry

BUN	10	mg/dL	(7 - 27)			
Creatinine	0.9	mg/dL	(0.4 - 1.8)			
Calcium	9.0	mg/dL	(8.2 - 12.4)			
Sodium	154	mmol/L	(141 - 156)			
Potassium	4.7	mmol/L	(4.0 - 5.6)			
Chloride	112	mmol/L	(105 - 115)			
Total Protein	6.3	g/dL	(5.1 - 7.8)			
Albumin	2.9	g/dL	(2.5 - 3.6)			
Globulin	3.4	g/dL	(2.8 - 4.5)			
ALT	98	U/L	High (5 - 60)			
ALKP	133	U/L	(10 - 150)			
GGT	1	U/L	(0 - 14)			
Total Bilirubin	0.2	mg/dL	(0.0 - 0.4)			
Amylase	1300	U/L	(500 - 1500)			
Lipase	1848	U/L	High (100 - 750)			
Glucose	141	mg/dL	High (60 - 125)			
Total T4	0.7	Low (0.8 - 3.7)				

Urinalysis

Urine SG-1.010

Glucose-Neg

Sediment-unremarkable

Canine Pancreas Specific Lipase Activity

40 µg/L which is in the normal range

Low Dose Dexamethasone Suppression Test:

0 hr 5.3 µg/dL

4 hr 0.6 µg/dL

8 hr 4.1 µg/dL

Free T4 ED: 1.1 ng/dL (0.7 - 2.5)

Tumačenje:

Slučaj 2:

Dijagnoza: Hiperparatiroidizam**Hematology**

RBC	7.00	M/ μ L	(5.50 - 8.50)			
HCT	47.7	%	(37.0 - 55.0)			
HGB	15.6	g/dL	(12.0 - 18.0)			
MCV	68	fL	(60 - 77)			
MCH	22.2	pg	(19.5 - 26.00)			
MCHC	32.7	g/dL	(32.0 - 36.0)			
WBC	7.4	K/ μ L	(5.7 - 16.3)			
Neutrophil	5.70	K/ μ L	(3.00 - 11.50)			
Lymphocyte	0.96	K/ μ L	LOW (1.00 - 4.80)			
Monocyte	0.44	K/ μ L	(0.15 - 1.35)			
Eosinophil	0.30	K/ μ L	(0.10 - 1.25)			
Basophil	0.00	K/ μ L	(0.00 - 0.10)			
Platelets	411	K/ μ L	(164 - 510)			

Chemistry

BUN	16	mg/dL	(7 - 27)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Creatinine	0.9	mg/dL	(0.4 - 1.8)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Phosphorus	4.9	mg/dL	(2.1 - 6.3)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Calcium	12.8	mg/dL	HIGH (8.2 - 12.4)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Sodium	148	mmol/L	(141 - 156)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Potassium	5.1	mmol/L	(4.0 - 5.6)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Chloride	104	mmol/L	LOW (105 - 115)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
TCO ₂	26	mmol/L	HIGH (17 - 24)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Anion Gap	23	mmol/L	(12 - 24)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														

Endocrinology

T ₄	1.1	µg/dL	(1.0 - 4.7)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Free T ₄	0.5	ng/dl	(0.7 - 2.5)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Ionized Ca	1.16	mmol/L	(1.07 - 1.40)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														
Parathormone6	17.2	pmol/L	(3.0 - 17.0)	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td></tr></table>																															<table border="1"><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td style="background-color: black;"></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>																														

Tumačenje:

Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Poremećaj endokrinog sistema može nastati kao posledica:

- a) Poremećaja sinteze i sekrecije hormona
- b) Poremećaja transporta hormona
- c) Poremećaja perifernog iskorišćavanja hormona
- d) Poremećaja katabolizma hormona
- e) Pojava ektopične sekrecije hormona
- f) Jatrogeni poremećaji
- g) Sve navedeno je tačno*

2. Sekundarni poremećaj endokrine žlezde nastaje ako je:

- a) Njen rad poremećen, a rad hipofize normalan
- b) Njen rad normalan a rad hipofize poremećen
- c) Njen rad poremećen uz poremećen rad hipofize*

3. Tercijalni poremećaj nastaje ako je pored poremećaja odnosa hipofiza-endokrina žlezda prisutan poremećaj rada hipotalamo-hipofizne osovine.

DA*

NE

4. Dijabetes tipa 2 nastaje kao posledica:

- a) Poremećaja transporta hormona
- b) Poremećaja perifernog iskorišćavanja hormona*
- c) Poremećaja katabolizma hormona
- d) Pojava ektopične sekrecije hormona

5. Šta je ektopična sekrecija hormona i kada se ona javlja?

6. Povišena sekrecija STH kod odraslih jedinki:

- a) Dovodi do akromegalije*
- b) Dovodi do gigantizma
- c) Dovodi do znakova diabetesa tipa II*
- d) Može nastati kao posledica aplikacije progestagena*
- e) Dovodi do hipotermija
- f) Daje znake inspiratornih poremećaja*

7. Primarni hiperaldosteronizam je posledica:

- a) povećanja lučenja ACTH
- b) hiperfunkcije zone glomeruloze kore nadbubrega*

8. Hiperaldosteronizam karakteriše:

- a) Hipokalemija*
- b) Hiperkalemija
- c) Hiponatremija
- d) Hipernatremija*
- e) Hipertenzija*
- f) Znaci hipotenzije i šoka

9. Kušingova bolest nastaje usled povećanog lučenja ACTH.

DA*

NE

10. Juvenilni oblik hipotireoidizma karakteriše:

- a) spor rast*
- b) kasni pubertet*
- c) diabetes
- d) teška mentalna retardacija
- e) nezatvaranje epifiza*
- f) rano zatvaranje epifiza

g) hiperholesterolemija*

11. Hipertireoidizam se karakteriše:

- a) sniženim nivoom holesterola u krvi
- b) gubitkom na težini
- c) tremorom
- d) tahikardijjom i palpitacijama
- e) nepodnošenjem topote
- f) hiperglikemijom
- g) sve navedeno je tačno*

12. Patofiziološke posledice hipertireoidizma na kardiovaskularni sistem su:

- a) hipertenzija,*
- b) bradikardija
- c) povećanje minutnog volumena srca*
- d) pad minutnog volumena srca
- e) aritmija*

13. Graves-Basedowljevu bolest karakterišu poremećaji:

- a) prisustvo strume*
- b) povišen TSH
- c) autoimunog tipa*
- d) egzoftalmus*

14. Sekundarni hipotireoidizam nastaje zbog:

- a) insuficijencije prednjeg režnja hipofize*
- b) poremećaja biosinteze tireoidnih hormona
- c) aplazije štitaste žlezde
- d) deficitja jodida u ishrani

15. Tireoidna rezerva je smanjena ukoliko je:

- a) odgovor TSH u toku TRH testa povećan, a vrednosti tireoidnih hormona normalna*
- b) odgovor TSH u toku TRH testa smanjen, a vrednosti tireoidnih hormona povećan
- c) odgovor TSH u toku TRH testa povećan, a vrednosti tireoidnih hormona povećana

16. Opstipacija se javlja u hipotireoidozi.

DA*

NE

17. Hipoparatiroidizam dovodi do:

- a) hipofosfatemijom
- b) hiperfosfaturijom
- c) hipokalcemijom*
- d) hipokalciurijom*
- e) pojačane neuromišićna razdražljivost*

18. Sekundarni hipoparatireoidizam može nastati usled nedovoljne apsorpcije vitamina D iz digestivnih organa i kod bubrežne insuficijencije.

DA*

NE

19. Osnovne karakteristike primarnog hiperaldosteronizma su:

- a) edemi,
- b) hipertenzija*
- c) hipokalijemija*
- d) hiponatremija

20. Važni uzroci sekundarnog hiperaldosteronizma su:

- a) ciroza jetre*
- b) tumor zone glomeruloze nadbubrežnih žlezda
- c) srčana insuficijencija*
- d) hipovolemija*

21. Hipokalcemija sa kalciurijom može posotjati kao jedan od znakova Kušingove bolesti.

DA*

NE

22. Endokrina hipertenzija može postojati u:

- a) hipertireoidizmu*
- b) panhipopituitarizmu
- c) povećanom lučenu kateholamina*
- d) hiperkorticizmu*

23. Bilateralna simetrična alopecija se često javlja kod hipotireoidizma, uz posebnu zahvaćenost vrata i repa.

DA*

NE

24. Hronična hipotireoza dovodi do reproduktivnih poremećaja kod domaćih životinja.

DA*

NE

25. Hiperholesterolemija tokom hipotireidoze nastaje kao posledica:

- a) Smanjenog lučenja holesterola preko žući*
- b) Smanjene konverzije lipida u žučne kiseline*
- c) Povećane lipolize
- d) Povećanog apetita

26. Šta je miksedem?

27. Pojava miksedema je vezana za:

- a) Hipertireoiduzu
- b) Hipotireoiduzu*

28. Hipofunkcija tireoide je sa hipertrofijom i hiperplazijom štitnjače nastaje jer:

29. Kod pasa sa hipertireoidizmom uvek ćemo naći povećanu koncentraciju tireoidnih hormona u krvnoj plazmi.

DA

NE*

30. Puerperalna pareza odnosno mlečna groznica krava odlikuje se hipokalcemijom, a bolest se razvija jer postoji:

- a) Nedovoljna funkcije paratireoidnih ćelija
- b) Nemogućnost osteoklasta da odgovore na PTH u potrebnom obimu*

31. Metabolička acidoza utiče pozitivno na na mobilizaciju kalcijuma iz kostiju pod dejstvom PTH.

DA*

NE

32. Kod puerperalne tetanije kuja, osnovni pokretač patološkog procesa je:

- a) Hipokalcemija*
- b) Poremećaj metabolizma PTH

33. Objasniti zašto kod pasa dolazi do tetanije, a kod goveda do pareze tokom hipokalcemije:_____.

34. Generalizovana fibrozna osteodistrofija nastaje kao posledica:

- a) Hipersekrecije parathormona*
- b) Hiposekrecije parathormona

35. Hiperadrenokorticizam kod pasa je praćen:

- a) Polifagijom
- b) Visećim trbuhom
- c) Bilateralnom alopecijom
- d) Hiperpigmentacijom kože
- e) Hepatomegalijom
- f) Atrofijom mišića
- g) Reproduktivnim poremećajima
- h) Sve navedeno je tačno*

36. Šta je feohromocitom i koji su mu znaci?

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Opšti principi poremećaja endokrinog sistema
2. Opšti pregled endokrinih žlezda, njihovi hormona, fizioloških uloga i patofizioloških poremećaja
3. Poremećaj funkcije hipofize
4. Hiperfunkcija adenohipofize
5. Hipofunkcija adenohipofize
6. Poremećaj funkcije neurohipofize
7. Hipofunkcija štitne žlezde
8. Hiperfunkcija štitne žlezde
9. Hipofunkcija paratiroidne žlezde
10. Hiperfunkcija paratiroidne žlezde
11. Puerperalna pareza mlečnih krava
12. Hiperfunkcija kore nadbubregra
13. Hipofunkcija kore nadbubregra
14. Poremećaj funkcije srži nadbubregra
15. Hiperfunkcija endokrinog pankreasa
16. Hipofunkcija endokrinog pankreasa
17. Poremećaj funkcije semenika
18. Poremećaj funkcije jajnika
19. Homeoreza i funkcija endokrinih žlezda kod krava u peripartalnom periodu
20. Patofiziološka dijagnostika i interpretacija poremećaja funkcije endokrinih žlezda

PATOFIZIOLOGIJA CENTRALNOG NERVNOG, NEUROMUSKULARNOG I LOKOMOTORNOG SISTEMA

Patofiziološka dijagnostika i interpretacija

Ispitivanje likvora se vrši sa nekoliko pregleda:

Pritisak likvora se meri spinalnim manometrom nakone punkcije kičmenog stuba. Pritisak likvora zavisi od položaja tela, a kod pasa je fiziološka vrednost između 5 i 12 mm Hg. Kod ljudi vrednosti pritsaka likvora variraju od 0,5-1,5 kPa, dok se vrednosti preko 2 kPa smatraju povišenim. Povišen pritisak likvora nastaje kod povećanje zapremine mozga i njegovih opni, lezija, apsesa, tumora, hematoma i opstrukcije u cirkulaciji krvi ili likvora.

Boja likvora – Likvor je bistra i bezbojna tečnost, koja se zamuti ako ima više od 500 ćelija u μL likvora ili kod povećane koncentracije proteina. Crvena boja likvora uz primese žute boje ukazuje na krvarenje. Ako je krvarenje posledica patološkog procesa likvor će biti iste boje u tri uzete epruvete, a ako je boja arteficijalnog porekla kod tri suksesivno uzete epruvete likvor će biti sve svetlij u svakoj epruveti.

Ćelije u likvoru se ispituju pomoću sledeće metode, za koju je potreban sledeći materijal: melanžer za leukocite, Fuks-Rozentalova komora, reagens za razređenje likvora i mikroskop. Izvođenje brojanja se vršiti odmah nakon uzimanja likvora, najbolje u toku 30 minuta zbog brzog propadanja ćelija. Likvor se može čuvati u frižideru uz dodavanje kapi konzervansa ili u 1/3 10% rastvora goveđeg albumina u 2/3 likvora kada je potrebno duže se pozabaviti ćelijama i kada se vrši centrifugiranje likvora. U melanžer za leukocite se navuče rastvor za likvor do 1, a likvor do oznake 11. Dalji postupak je kao kod brojanja leukocita. Izračunavanje se vrši na sledeći način: (broj cel./3,2) x (11/10) x $10^6/\text{L}$. Ako se koristi Nojbauerova komorica broje se ćelije u 4 spoljašnja kvadranta, a formula za izračunavanje broja ćelija je: $(N/4) \times 11 \times 10^6/\text{L}$.

Tokom brojanja ćelija može se izvršiti orijentaciono diferenciranje između polimorfonukleara i mononukleara, ali je ponekad potrebno (naročito kod jake pleocitoze) detaljnije diferenciranje, koje se vrši u koncentratu likvora. Likvor se predhodno pripremi u Slajkovim komorama za koncentrovanje. Slajkova komora je šuplja cevčica kod koje se na jedan kraj postavi gaza i ispod nje predmetno staklo na kome je ucrtan krug istog prečnika kao i cevčica. U cevčicu se sipa likvor i dok gaza upija tečni deo, na predmetnoj pločici se sedimentiraju ćelije koje se kasnije boje na nekoliko načina i posmatraju pod mikroskopom. Pored navedenog može se vršiti centrifugiranje likvora.

Tumačenje rezultata: U likvoru zdravih pasa i mačaka se nalaze 0-3 ćelije u mikrolitru (0-3000 u ml). Najviše su prisutni mononukleari (limfociti i monociti), a normalno likvor ne sadrži eritrocite. Kod arteficijalnog krvarenja, treba izdvojiti leukocite, koji potiču iz krvi, tako da se na svakih 700 izbrojanih eritrocita oduzme jedan leukocit. Formula:

$$W = WBCF - [(WBCB \times RBCF) / RBCB]$$

W = postojeći ili izračunati broj leukocita u CSF;

WBCF i WBCB = izbrojane ćelije bele loze u CSF i krvi;

RBCF i RBCB je broj eritrocita/ μl u CSF i krvi.

Povećan broj ćelijskih elemenata u likvoru se naziva pleocitoza koja može biti: laka 5-50 ćelija u mikrolitru, srednja 50-200 ćelija (laka do srednja: virusne bolesti CNSa, toksični meningitis, sterilni meningitis, polineuropatije, tumori blizu mozga) i teška preko 200 ćelija (jak gnojni meningitis). Pleocitoza sa predominantnim limfocitima i plazma ćelijama se može zapaziti kod virusnih infekcija, hronični steroidnog responsive meningitis-arteriitisa (SRMA),

granulomatoznom meningoencefalitisa i nekrotičnog encefalitisa. Neutrofilna pleocitoza se javlja kod akutne SRMA i bakterijskih infekcija. Plazma ćelije se zapažaju kod hronične virusne infekcije i apsesa mozga, a eozinofili kod neuroparazitoza (ehinokokoza, cisticerkoza i dr...), kod nekhi autoimuni encefalitisa, FIP-a, nekih tumora i dr. Treba uraditi i imunocitohemiju likvora, zbog subpopulacije limfocita koji ukazuju na imunološke aktivnosti CNS-a.

Glukoza likvora se paralelno određuje sa određivanjem glikemije, jer se parametri međusobno prate, a koristi se glukoza-oskidaza test (GOT). Klinički je značajno ukoliko se javi pad koncentracije glukoze u likvoru, što ukazuje na: bakterijski i gljivični meningitis, difuznu meningealnu neoplaziju i dr. Povećan broj ćelija likvora povećano troši glukozu.

Proteini likvora se određuju Pandijevom reakcijom koja se izvodi na sledeći način: U sahatno staklo treba staviti malu količinu Pandijevog reagensa i dodati 1-2 kapi likvora. Rezultat reakcije se posmatra na tamnoj podlozi uz osvetljenje postavljeno sa strane. Pozitivna reakcija daje zamućenje, a stepen zaućenja se obeležava sa +, ++, +++. Ovi proteini se određuju i None-Apeltovom reakcijom koja se zasniva na mešanju amonijum-sulfata i likvora i nastanka određenog stepena zamućenja koji je srazmeran koncentraciji proteina u likvoru. Reakcija se čita u okviru 3 min., a obeležava se sa +,++ ili +++. Proteini likvora se mogu određivati i elektroforetski izdvajanjem proteina likvora, određivanjem imunoglobulina i određivanjem nervno-specifičnih belančevina (mijelinski bazični protein koji je značajan pokazatelj aktivnog procesa demijelinizacije).

Kod pasa i mačaka je normalna koncentracija proteina u likvoru manja od 25mg/dl (0,25g/l), a može biti viša ukoliko je likvor uzet lumbalnom punkcijom. Povećana koncentracija proteina se javlja u različitim patološkim procesima, a ukoliko se u likvoru nađe krv na svakih 750 eritrocita treba oduzeti oko 0,01g belančevina. U oboljenjima kod kojih postoji poremećaj funkcije krvno-moždane barijere smanjuje se albuminsko/globulinski indeks, formula je: (IgG likvora/IgG seruma)/(ALBlikvora/ALBseruma). Ovakva situacija se klinički javlja kod različitih limfoma mozga i kod različitih inflamacija. Povećan IgA ukazuje na SRMA.

Ostali metaboliti u likvoru – Sniženje koncentracije GABAe dijagnostikuje se kod pasa sa epilepsijom. Promena u nivou laktata i piruvata ukazuje na mitohondrijalnu smrti, a odnos laktat/piruvat ukazuje na redoks potencijal mozga. Glutamat je povišen kod različitih oboljenja mozga, a treba ga analizirati kod kompresivnih lezija (promene intervertebralnih diskova, diskushernija i dr.). Promene u serotoninu, dopaminu i norepinefrinu se mogu zapaziti kod životinja sa bihevioralnim izmenama. Pored navedenih mogu se određivati i drugi metaboliti.

Ispitivanje elektromotorne aktivnosti – Za pravilno izvođenje i tumačenje rezultata potrebno je poznavati osobine elektroda koje se koriste i izvršiti njihovu kalibraciju. Oprema je najčešće podešena u milivoltima i mikrovoltima, a vremenska kalibracija u milisekundama. Pregledi se vrše na sediranoj ili trankviliziranoj životinji da bi se izbegli pokreti. Mere se spontane ili izazvane (evocirane aktivnosti) aktivnosti, a principi merenja talasa slični kao kod EKG-a.

Elektroencefalografija (EEG) je metoda merenja sumarnih bioelektričkih potencijala neurona CNSa. Oni se registruju na površini lobanje, posle uvećanja i grafičkog predstavljanja. Osnovni grafički element je talas, koji se javlja u određenom ritmu. Postoji nekoliko vrsta ritmova u zavisnosti od položaja kapaka očiju i postoji li povišena pažnja pacijenta. Pojava šiljaka i oštreljivih talasa ukazuju na patološke nalaze. EEG se može kombinovati sa svetlosnom stimulacijom, hiperventilacijom i dr.

Elektromiografija (EMG) se zasniva na ispitivanju električne aktivnosti koja nastaje u mišićima u uslovima mišićne aktivnosti. Tehnika rada se zasniva na zabadanju iglenih elektroda

u određene tačke mišića i beleži se aktivnost. U svim 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.

Električna aktivnost u centralnom nervnom sistemu se meri upotrebom sledećih metoda: spontana aktivnost u mozgu i EEG, izazvana (evocirana) aktivnost u kičmenoj moždini, izazvana aktivnost u mozgu (auditorno, somatosenzualno i vizuelno evociranje potencijala) i izazvana aktivnost retine (brzi elektroretinogram ERG).

Izazvana aktivnost u kičmenoj moždini predstavlja registriranje električnih promena u kičmenoj moždini posle draženja perifernog nerva. Meri se perkutano, a talasi su uvek polifazni. Ovaj metod je koristan za beleženje lokalizacije i stepena promena u kičmenoj moždini, posebno kod hijatus hernije pasa.

Auditivno izazvana aktivnost se ispituje kod gerijatrijskih pacijenata i mladih kučića kod kojih zbog inbreedinga često nastaju problemi sa sluhom, što umanjuje vrednost životinje.

Somatosenzorna izazvana aktivnost se javlja kada se senzorni receptori stimulišu negde iz tela (soma). Za dijagnostiku je korisno aktivnost izazvana u kičmenoj moždini.

Elektroretinogram je izuzetno koristan za procenu bolesti očiju, glaukom, dijabetična retinopatija i sl.

Električna aktivnost u muskulaturi se meri: elektromiografijom, kao spontana ili izazvana mišićna aktivnost.

Pored navedenog bolesti mišića se procenjuju analizom značajnih enzima i metaboličkog profila mišića, što je posebno indikованo kod trkačih konja. Kod akutne mišićne povrede, prvo dolazi do povećanja CK, a 24h kasnije do povećanja AST. Kao indikator mišićne povrede u serumu se može meriti i koncentracija: mlečne kiseline, troponina, mioglobina i ugljene anhidraze III. Akutna mišićna povreda može se ustanoviti i scintigrafijom, posle aplikacije radioaktivnog tehnicijuma.

U proceni lokomotornog sistema značajno je ispitati i zglobove tj. sinovijalnu tečnost. Zglobna tečnost se dobija postupkom artrocentoze. Normalna sinovijalna tečnost: svetla, bledožučasta, bez fibrinskih vlakana, koncentracija proteina 0,5-1,9 g/100ml, odnos alb/glob je 1,1-2,9, broj ćelija sa jedrom (leu) je manji od $0,5 \times 10^9/L$, konc.hijaluronske kiseline 45-56 mg/100ml. Kod sinovijalitisa povećan je volumen sinovijalne tečnosti, dok je volumen smanjen kod hroničnih degenerativnih bolesti zglobova. Krvarenje ukazuje na intraartikularnu frakturu. Pojava fibrinogena ukazuje na promenu permeabiliteta sinovijalne membrane. Tamnožuta boja sinovijalne tečnosti može ukazivati na hroničnu traumu ili na septični artritis. Koncentracija ukupnih proteina veća od 3g/L ukazuje na jaku septičnu upalu zgloba. Tokom upale raste frakcija α_2 i gama globulina, AP, AST i LDH. Broj ćelijskih elemenata raste preko $5 \times 10^9/L$. Za degeneraciju hijaline hrskavice određuje se koncentracija kolagenskih fragmenata tipa I i II i osteokalcin. Danas se za dijagnostiku bolesti zglobova vrši merenje koncentracije prostaglandina E2 u sinovijalnoj tečnosti.

Zadaci za vežbanje

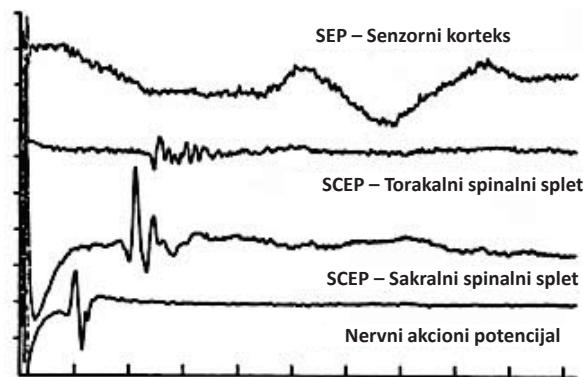
Zadatak 1: Navedite način određivanja i tumačenje pleocitoze.

Zadatak 2: Navedite postupak određivanja pritiska cerebrospinalne tečnosti i njen dijagnostički značaj.

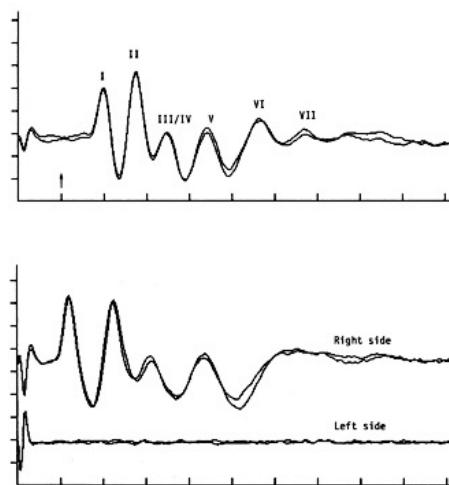
Zadatak 3: Navedite način određivanja i dijagnostički značaj biohemijskih materija u likvoru.

Zadatak 4: Navedite kako se meti električna aktivnost u centralnom nervnom sistemu i mišićima i njen dijagnostički značaj.

Zadatak 5: Na dijagramu su prikazani rezultati merenja izazvane električne aktivnosti u kičmenoj moždini. Navedite način izvođenja i objašnjenje rezultata merenja.



Zadatak 6: Na dijagramima su prikazani rezultati auditivne aktivnosti. Protumači rezultate auditivne aktivnosti u mozgu kod dva prikazana slučaja.



Zadatak 7: Navedite koje su osobine normalne sinovijalne tečnosti i koje promene se dešavaju tokom artritisa?

Zadatak 8: Ispitivanje cerebrospinalne tečnosti – fizičko-hemijska svojstva

Zadatak 9: Ispitivanje cerebrospinalne tečnosti – citološka svojstva

Zadatak 10: Ispitivanje neuro-mišićne aktivnosti

Zadatak 11: Definicija i principi EEG dijagnostike

Zadatak 12: Napravite tabelu diferencijalne dijagnostike bakterijskog, virusnog i gljivičnog meningitisa na osnovu karakteristika cerebrospinalne tečnosti

Slučajevi i eksperimentalni modeli za vežbanje

Slučaj 1:

Kod psa sa nervnim simptomima postavljena je indikacija na meningitis.

Analizom likvora dobijeni su sledeći rezultati:

zamućen i slabo proziran likvor,

ukupan broj ćelija u likvoru bio je $3100/\mu\text{L}$,

u diferencijalnoj krvnoj slici dominiraju granulociti (93,5%),

TPROT 4,12 g/L,

GLU je 1,9 mmol/L,

LAKTAT bila 3,85 mmol/L.

Ovakav nalaz ukazuje na gnojni meningitis, najverovatnije bakterijske etiologije.

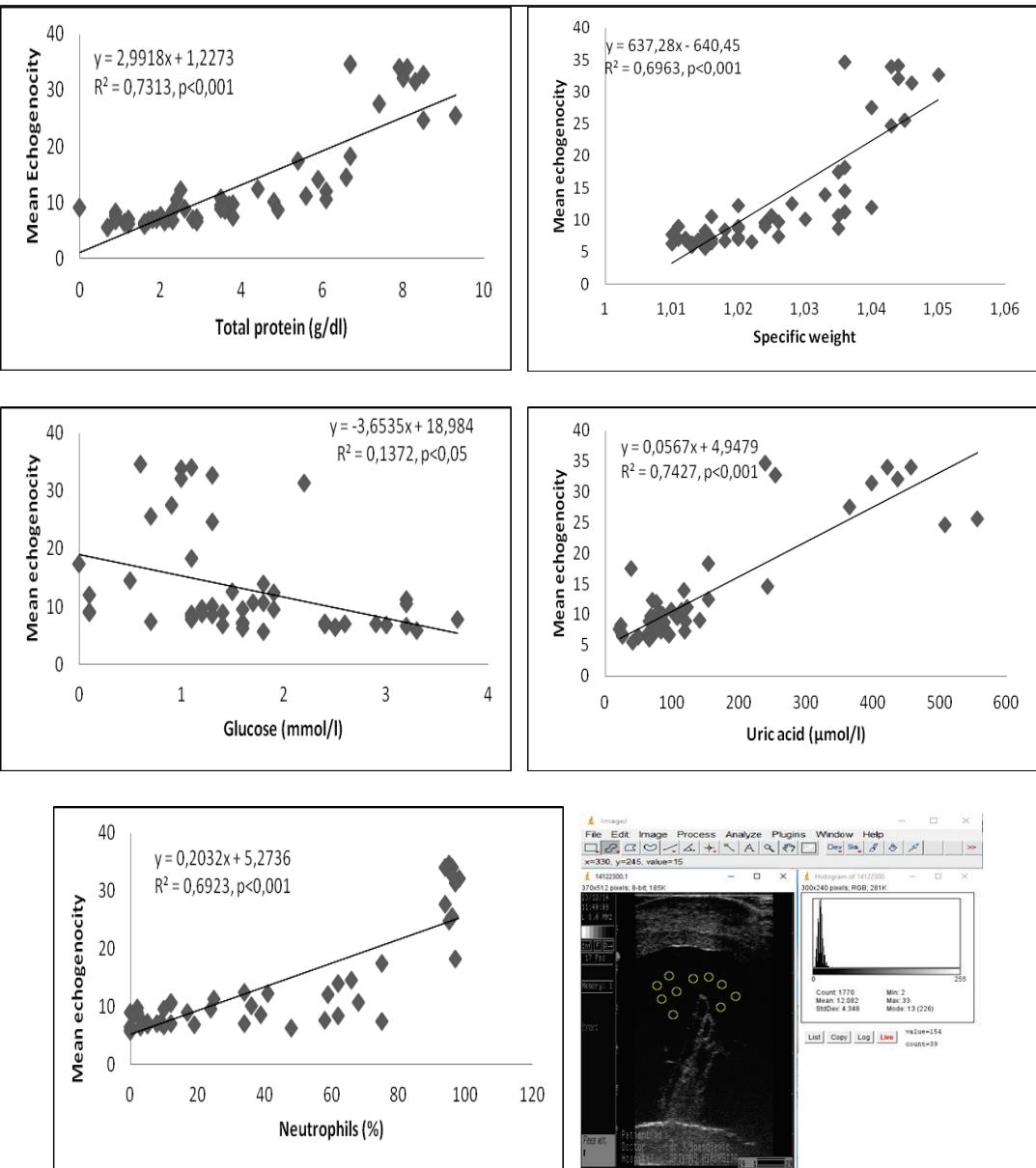
Ananlizom su dokazane gram pozitivne koke, što pobuđuje sumnju na Listeriozni meningitis.

Tumačenje:

Slučaj 2:

Eksudativna oboljenja lokomotornog sistema goveda

Cilj jednog istraživanja (DOI: 10.9775/kvfd.2018.19531) je uspostaviti vezu između parametara dobijenih pomoću softverske obrade ultrazvučne slike i rezultata laboratorijske (biohemijske, citološke i mikrobiološke) analize punkcijom sadržaja (eksodata) iz eksudativnih oboljenja lokomotornog sistema goveda. Opštim kliničkim i ortopedskim pregledom kod 50 krava sa prisutnim površinskim otocima na ekstremitetima dijagnostikovana su sledeće eksudativna oboljenja: karpalni higrom (35), tarzalni higrom (9), apsces (4), flegmona (1) i artritis (1). Ultrazvučnim pregledom evaluirani su ehogenost i fenomen pretakanja prisutnog eksodata i određena je srednja ehogenost slike (ME). Dobijene visoke vrednosti koeficijenata determinacije R^2 (koncentracija mokraćne kiseline – 74,27%, koncentracija TP – 73,13%, specifična težina – 69,63% i procenat Ne – 69,23%) i postojanje linerane korelacije između navedenih laboratorijskih parametara i ME vrednosti, govore o činjenici da je ME vrednost u visokim procentima objašnjena pojedinačnim uticajem svakog od navedenih laboratorijskih parametara ukoliko su ostali parametri isključeni iz analize. Regresioni koeficijenti u regresionim modelima koncentracije mokraćne kiseline, koncentracije TP, specifične težine i procenta Ne imaju pozitivne predznake, što znači da povećanjem vrednosti navedenih laboratorijskih parametara raste i ME vrednost ultrazvučnih nalaza.



Tumačenje:

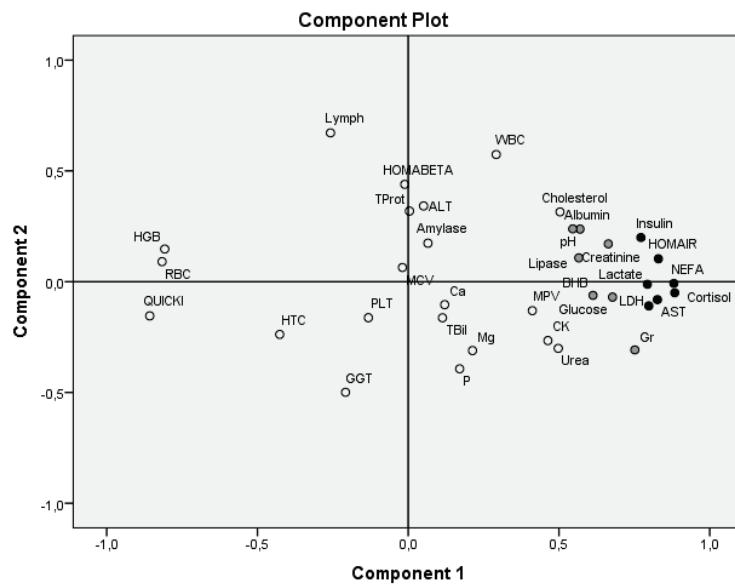
Sistemski odgovor na aplikaciju virusa besnila

Rabies virus (RABV) dovodi do vrlo intenzivnih i letalnih infekcija centralnog nervnog sistema (CNS) kod ljudi i životinja. Metabolička ispitivanja su vršena na cerebrospinal fluid (CSF) i nađeno je tokom infekcije sa RABV postoje brojne metaboličke promene i da se može razlikovati ekspresija metabolita u funkciji faze infekcije i preživljavljenja. Iako se radi o neurotropnom virusu, postoje rezultati kod miševa i pacova koji ukazuju da su i ekstraneurala tkiva, kao što su pluća, srce, bubrezi i jetra uključena u patogenezu besnila, a osim retkih kliničkih slučaja reprota nisu opisane sistemske promene i njihova međusobna veza tokom infekcije RABV. Cilj ovog rada je da se utvrdi da li postoji razlika u vrednostima metaboličkih, endokrinoloških i hematoloških parametara i kakva je njihova veza u krvi miševa koji su preživeli i koji nisu preživeli prilikom aplikacije rabies challenge virus standard 27 strain (CVS-27).

Za potrebe ovog ogleda odabrano je 30 preživelih i 30 uginulih miševa tokom redovne procedure sprovođenja NIH testa u Pasterovom zavodu u Novom Sadu. Testom se određuje nivo zaštite koju pruža (indukuje) inaktivisana vakcina protiv besnila. Test se izvodi tako što se vakcinišu dve grupe miševa, u razmaku od 7 (sedam) dana, sa različitim razređenjima standard vakcine i vakcine čija se potentnost ispituje. Sedam dana nakon poslednje vakcinacije imunizovanim životinjama i kontrolnoj grupi miševa se inokuliše (inficiraju se) test virusom (Challenge Virus Standard, soj CVS-27). Krv je uzimana punkcijom srca, i stavljana u odgovarajuće tube (BD Vacutainer, USA) uz primenu anesteziološkog protokola. Razlika u vrednosti hematoloških i biohemijskih parametara ispitana je pomoću t-testa. Due to high number of blood parameters we performed the joint analysis of multiple dependent variables. Kod uginulih miševa nađena je viša vrednost pH, glukoze, holesterola, LDH, CK, albumina, uree, kreatinina, laktata, amilaze, Mg, NEFA i BHB. Hematološki parametri kod uginulih miševa imali su sledeće karakteristike: povišeni granulociti i MPV, a sniženi limfociti, eritrociti, hemoglobin, hematokrit i broj trombocita. Endokrinološke promene kod uginulih miševa u odnosu na zdrave uključuju povišenu vrednost insulina, kortizola i HOMA-IR indeksa, dok je vrednost QUICKI indeksa bila snižena. Principal component analysis (PCA) pokazuje da komponenta 1 i komponenta 2 objašnjavaju 38,7% varijanse i ove dve komponente su dovoljne za pravilnu diskriminaciju uginulih i preživelih miševa. Nađeno je da kortisol, insulin, HOMAIR, NEFA, AST, laktat, LDH i granulociti mogu objasniti varijaciju prve komponente, dok nešto manji ali i dalje visok značaj imaju pH, glukoza, kreatinin, albumin i BHB. Ovi metabolički parametri pokazuju međusobno pozitivnu korelaciju.

U zaključku, uginuli miševi tokom NIH testa posle aplikacije CVS-27 su pod većim stresom (viša koncentracija kortizola), pokazuju prestrojavanja u energetskom metabolizmu (veći katabolizam masti i insulinska rezistencija), promene u metabolizmu proteina zbog opterećenosti muskulature (urea, kreatinin, AST i LDH) i uz opšte promene acidobaznog statusa (pH vrednost) i dehidraciju (visok albumin). Vrednosti hematoloških parametara manje doprinose ukupnoj varijabilnosti i manje koreliraju sa metaboličkim promenama. Promene u vrednosti krvnih parametara pokazuju analogiju sa dosadašnjim metaboličkim istraživanjima CNS. Dobijeni parametri mogu biti od koristi u kliničko-patološkoj analizi rezultata kod infekcije sa RABV.

Parametri	Survived		Died		Sig.
	Mean	SD	Mean	SD	
pH	7,36	0,08	7,47	0,08	p<0,01
Glukosa	8,82	1,38	11,30	2,27	p<0,01
Holesterol	2,69	0,27	2,99	0,27	p<0,01
LDH	542,50	87,90	782,59	108,31	p<0,01
AST	89,23	15,74	163,33	34,49	p<0,01
CK	89,23	15,76	106,19	18,76	p<0,01
Urea	7,48	0,66	8,30	0,67	p<0,01
Kreatinin	27,15	2,54	31,50	2,94	p<0,01
Laktat	4,50	0,39	5,49	0,48	p<0,01
NEFA	0,13	0,04	0,35	0,08	p<0,01
BHB	0,28	0,10	0,45	0,10	p<0,01
Albumin	26,40	2,84	29,66	2,66	p<0,01
TProt	47,91	3,92	47,91	5,55	NS
Ca	2,51	0,20	2,54	0,21	NS
P	3,09	0,25	3,20	0,22	NS
Mg	0,55	0,06	0,58	0,06	p<0,05
ALT	35,27	3,50	35,70	3,89	NS
GGT	5,28	0,45	5,07	0,51	NS
TBil	3,89	0,68	4,04	0,71	NS
Amilaza	917,33	99,19	922,07	103,96	NS
Lipaza	83,39	9,02	93,90	8,34	p<0,01
Leukociti	15,45	1,10	16,25	2,12	NS
Granulociti	2,10	0,18	4,18	1,29	p<0,01
Limfociti	13,35	1,04	12,07	2,67	p<0,05
Eritrociti	12,41	1,47	8,81	1,04	p<0,01
Hemoglobin	165,37	7,97	145,52	7,02	p<0,01
MPV	4,71	0,57	5,24	0,64	p<0,01
Hematokrit	43,55	1,35	41,98	2,27	p<0,01
MCV	45,08	0,97	45,08	0,97	NS
Trombociti	764,17	70,86	758,10	68,37	NS
Kortizol (ng/mL)	7,68	1,52	16,47	2,77	p<0,01
Insulin	0,53	0,13	0,84	0,17	p<0,01
HOMAbeta	2,18	0,98	2,19	0,75	NS
HOMAIR	0,21	0,06	0,42	0,14	p<0,01
QUICKI	0,53	0,03	0,45	0,03	p<0,01



Pitanja za pismenu proveru znanja

1. Pri redosledu stupanja u dejstvo kontrolnih mehanizama prvo reaguje nervni, a potom endokrini sistem.

DA*

NE

2. Epileptički napadi su po pravilu:

- a) ireverzibilni
- b) reverzibilni*

3. Sniženje koncentracije kalcijumovih jona u vanćelijskoj tečnosti:

- a) često predhodi početku epileptiformne aktivnosti*
- b) ne predhodi početku epileptiformne aktivnosti
- c) javlja se nakon epileptičnog napada

4. Cerebrospinalna tečnost (likvor) se u najvećem delu luči plexus chorioideus.

DA*

NE

5. Sekrecija likvora kod zapaljivih procesa:

- a) raste*
- b) smanjuje se
- c) ne menja se

6. Glikemija utiče na koncentraciju glukoze u likvoru.

DA*

NE

7. Autoregulacija moždanog krvotoka zavisi od:

- a) CO₂ preko pH pericelularne tečnosti
- b) snižavanja pH i porasta K⁺ u međućelijskoj tečnosti
- c) reakcije na različite izmene mikrosredine, a najjača je na nivou malih krvnih sudova
- d) pada krvnog pritiska, a reakcija krvnog suda je jača što je krvni sud veći
- e) sve navedeno je tačno*

8. U slučaju prekida cirkulacije u jednom segmentu mozga dešavaju se sledeće promene:

- a) prekid krvotoka dovodi do poremećaja metabolizma nervne ćelije, a manifestuje se već nakon nekoliko sekundi*
- b) u okolnim ishemičnim zonama autoregulacioni mehanizmi prestaju da važe, a protok krvi zavisi isključivo od sistemskog krvotoka*
- c) neuroni mogu preživeti ishemiju dužu od 10 minuta
- d) u samom žarištu ishemije raste perfuzioni pritisak

9. 4-5 minuta nakon prestanka cirkulacije nastupa smrt kortikalnih neurona

DA*

NE

10. Kodspazma moždanih krvnih sudova bitan patogenski mehanizam je dodir krvi sa adventicijom krvnog suda izaziva snažan spazam suda npr. kod subarahnoidalnih krvarenja.

DA*

NE

11. Ukoliko arterijski pritisak naraste krvni sudovi mozga se skupljaju, a ukoliko pritisak opada venski krvni sudovi se šire i na taj način protok krvi kroz CNS ostaje isti.

DA*

NE

12. Arterijski pCO₂ na krvne sudove mozga ima:

- a) Snažan vazodilatatorni efekat*
- b) Snažan vazokonstrikski efekat
- c) Nema efekta ne kontraktilnost krvnih sudova mozga

13. Hipoksija izaziva vazokonstrikciju krvnih sudova mozga.

DA

NE*

14. Aktivnost neurona se može kompenzatorno održati dok protok krvi ne bude smanjen na nivo od:

- a) 90%
- b) 78%
- c) 50%
- d) 18%*

15. Kritični događaj u procesu uznapredovale ishemije je:

- a) Prodiranje Ca-jona u ćeliju*
- b) Prodiranje Na-jona u ćeliju
- c) Proditanje H-jona u ćeliju

16. Edem moždanog tkiva u ishemiji može biti citotoksični i vazogeni.

DA*

NE

17. CNS je izdvojen od direktnog nadzora imunološkog sistema.

DA*

NE

18. Stanja koja dovode do poremećaja krvno moždane barijere su:

- a) Epileptični napadi
- b) Diabetes melitus
- c) Inflamatorni medijatori
- d) Ishemijska stanja
- e) Encefaliti autoimunog tipa
- f) Sve navedeno je tačno*

19. Pad nivoa glukoze u likvoru povezan je sa bakterijskim i gljivičnim infekcijama.

DA*

NE

20. Pojava žućkaste boje likvora (ksantohromija) bez hiperbilirubinemije ukazuje na subarahnoidalno krvarenje.

DA*

NE

Pitanja za usmenu proveru znanja

1. Reakcija neurona na oštećenje
2. Poremećaj motornih i senzornih funkcija
3. Bol
4. Epilepsija
5. Klinički značaj likvora
6. Edem mozga i povećan intrakranijalni pritisak
7. Patofiziologija metaboličkih miopatija
8. Poremećaj funkcije zglobova
9. Patofiziologija laminitisa

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 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 akademske 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 veterinarskemedicine u Novom Sadu.

Dr Branislava M. Belić je redovni profesor na 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 15disertacija 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.

Izvod iz recenzije

Praktikum iz Specijalne 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. 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: 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.....Praktikum je napisan prema planu i program za predmet Specijalna patološka fiziologija i zbog toga predlažemo da se usvoji kao pomoćni udžbenik na istoimenom predmetu.

Prof.dr Zdenko Kanački

Praktikum iz specijalne patološke fiziologije napisan je za potrebe obaveznog istoimenog predmeta na trećoj godini integrisanih studija veterinarske medicine. Praktikum je napisan na 180 strana i sadrži sledeća poglavlja: patofiziologije crvene krvne loze, patofiziologije bele krvne loze, patofiziologije trombocita i hemostaze, patofiziologije kardiovaskularnog sistema, patofiziologije respiratornog sistema, patofiziologije gastrointestinalnog sistema, patofiziologije urinarnog sistema, patofiziologije endokrinog sistema i patofiziologije centralnog nervnog, neuromuskularnog i lokomotornog sistema.Praktikum je u potpunosti napisan prema planu i programu za navedeni predmet kao i u skladu sa navedenim ciljevima predmeta. Zbog toga predlažem da se odobri izdavanje praktikuma kao pomoćnog udžbenika na predmetu Specijalna patološka fiziologija.

Prof.dr Nikolina Novakov