

Marina Hemar

Prilog povijesti medicinske biokemije

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2013.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Uvod u studij medicinske biokemije, Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za medicinsku biokemiju i hematologiju pod stručnim vodstvom izv.prof.dr.sc. Nade Vrkić, specijalist medicinske biokemije.

Zahvaljujem mentorici izv.prof.dr.sc. Nadi Vrkić na stručnoj pomoći, strpljenju i susretljivosti tijekom izrade diplomskog rada.

Također zahvaljujem svojoj obitelji, prijateljima i kolegama na bezuvjetnoj podršci, ljubavi i razumijevanju kojim su me pratili tijekom studija.

SADRŽAJ:

1. UVOD	6
1.1. Medicinska biokemija u svijetu	4
2. OBRAZLOŽENJE TEME	5
3. MATERIJALI I METODE	7
4. REZULTATI I DISKUSIJA	9
4.1. ANTIČKI KORIJENI.....	10
4.1.1. Starogrčka medicina	10
4.1.1.1. Hipokrat	11
4.1.1.2. Aristotel.....	13
4.1.2. Rimska medicina	14
4.1.3. Povijest flebotomije.....	15
4.2. POČETCI UROSKOPIJE.....	17
4.3. SREDNJI VIJEK (500. - 1500.)	18
4.3.1. Alkemija	23
4.4. RENESANSA (1450. – 1600.)	25
4.4.1. Šarlatani i uromancija.....	26
4.4.2. Uroskopija i umjetnost	27
4.4.3. Borba za reformu praktične medicine - Paracelsus	27
4.5. SEDAMNAESTO STOLJEĆE	30
4.5.1. Otac kemije	31
4.5.2. Počeci mikroskopije	32
4.5.3. Ijatrokemija	34
4.5.3.1. Johan Baptista van Helmont, posljednji ijatrokemičar - prvi biokemičar	35
4.5.3.2. Frans de le Boë Sylvius	35
4.6. OSAMNAESTO STOLJEĆE.....	36

4.7.	DEVETNAESTO STOLJEĆE	38
4.7.1.	Anatomski koncept bolesti	38
4.7.2.	Kemija životinja i vitalizam	39
4.7.3.	Mehanicistička teorija	41
4.7.4.	Sinteza ureje - prekretnica u razvoju organske kemije	42
4.7.5.	Kemijske analize tjelesnih tekućina	43
4.7.5.1.	Dijagnostički znakovi	45
4.7.6.	Progresija u Ameriku	45
4.8.	DVADESETO STOLJEĆE	47
4.8.1.	Dijagnostička enzimologija.....	48
4.8.2.	Začetnici moderne medicinske biokemije: Otto Folin i Donald Dexter Van Slyke	48
4.9.	ZLATNO DOBA KLINIČKE KEMIJE 1948. – 1960.....	52
4.9.1.	Osnivanje bio-znanstvenih laboratorija.....	53
4.9.2.	Američko društvo kliničkih kemičara	54
4.9.3.	Inozemna društva i Međunarodna federacija (savez).....	55
4.9.4.	Provjera stručnosti.....	56
4.10.	Laboratorijska oprema u kliničkoj biokemiji: povijesni pregled	57
4.10.1.	Test trake	59
4.10.2.	Hipodermalne igle - Vacutainer epruvete.....	60
4.10.3.	Spektroanaliza	60
4.10.4.	Centrifuga	61
4.10.5.	Bunsenov plamenik	62
4.10.6.	pH krvi.....	62
4.10.7.	Elektroforeza - pomicanje granica.....	62
4.10.8.	Kromatografija.....	63
4.10.9.	Automatizacija i kompjutorizacija u laboratoriju	63

4.10.10. Molekularna dijagnostika	66
4.11. TRADICIJA MEDICINSKE BIOKEMIJE U HRVATSKOJ	68
4.11.1. Zaklada „Prof. Marijana Fišer Herman“	69
5. ZAKLJUČCI	70
6. LITERATURA	73
7. SAŽETAK/SUMMARY	79
8. PRILOZI	82
8.1. Prilog 1: Glavna tehnološka otkrića	82
8.2. Prilog 2: Medicinsko biokemijski laboratorij na početku 20. i 21. stoljeća	83
9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD	85

1. UVOD

„Za razumijevanje znanosti, neophodno je znati njezinu povijest.“

Auguste Comte, *Positive Philosophy*, 1853. g.

Medicinska biokemija je grana biokemije koja proučava kemijski sastav organizma i tijekom fizioloških i patoloških procesa u ljudskom organizmu, a primjenom kemijskih i fizikalno-kemijskih metoda pridonosi postavljanju dijagnoze, praćenju učinka terapije te tijekom i prognoze bolesti (Štraus, 2009). Iako se smatra mladom znanstvenom disciplinom, njezini počeci zapisani su u dubokoj povijesti. Od kušanja urina do mikroskopije i molekularne dijagnostike, usavršavanje do današnjih dijagnostičkih tehnika prešlo je dug put i nastavlja se razvijati vratlomnom brzinom. Povijest laboratorija je priča o medicinskoj evoluciji od empirijskih do eksperimentalnih tehnika i dokazuje da je klinički laboratorij pravi izvor medicinske ovlasti (Berger, 1999).

U svom razvoju medicinska biokemija je prošla različite faze. Bila je podložna mnogom utjecajima socijalne, političke, kulturne i vjerske naravi, koji su joj davali poticaj, ali često i kočili njezin napredak. Kako se medicinska biokemija razvila iz medicine, logično je pitati se kada je nastala medicina? Na to pitanje teško je dati odgovor, jer otkako postoji čovjek, postoji i svjesna borba protiv bolesti i smrti, koja je odgovarala stupnju njegove kulture. To je posljedica nagona za samoodržavanje pa se početak medicine može promatrati kroz medicinu najstarijih kultura.

Počeci ljudske kulture nastali su u zemljama oko Sredozemnog mora, u područjima velikih rijeka, u Babiloniji, Feniciji, Palestini, Egiptu i Grčkoj. Odande se kultura proširila u Perziju i Indiju, a kasnije i u ostale zemlje. Druga žarišta kulture nastala su u Kini i u zemljama Srednje i Južne Amerike (Meksiko, Peru). U početku je medicina svih starih kulturnih naroda bila uglavnom jednaka i gotovo isključivo u rukama svećenika (Glesinger, 1978). U to najranije doba, čovjek je tjelesne bolesti svodio na nadnaravne uzroke. Posebno je to činio kod duševnih bolesti, čiji je postanak bilo još teže protumačiti na prirodan način. Primitivni čovjek vjerovao je u magično porijeklo bolesti i u utjecaj demona na čovjeka. Bolesti su bile posljedice zlih duhova, a liječenje se sastojalo u primjeni sredstava za ublaženje ili uništenje tih zlih utjecaja: čaranje, egzorcizmi i drugi magični procesi (Fatović-Ferenčić, Pećina, 2012). Do 18. stoljeća, liječnici nisu imali laboratorija, pa je jedina metoda ispitivanja bila korištenje osobnih osjetila: vid, miris i okus. Smatra se da je ideja o tome da se razlike u kemijskom

sastavu tjelesnih tekućina mogu koristiti u dijagnostici potekla od Roberta Boylea (1627. - 1691.) oko 1680. godine. Bilo je potrebno daljnjih 150 godina za uvođenje kemijskih analiza, zahvaljujući istraživanjima Jönsa Jakoba Berzeliusa i Justusa von Liebiga. Tijekom 19. stoljeća kemija je postala područje od središnje važnosti za medicinu. U to doba, liječnici su se školovali na različitim europskim sveučilištima i bolnicama gdje je bilo poznato da je bolest rezultat abnormalnih fizioloških, biokemijskih i anatomskih procesa i da će primjena kemijskih analitičkih metoda biti od velike važnosti u dijagnostici i za razumijevanje patofiziologije. Po povratku, svoja saznanja eksperimentalno su primjenjivali u laboratorijima. Kemija i kemijska analiza postale su česte teme liječničkih inauguralnih disertacija. Razvoj kemije usmjerio je liječnike na novi pogled na ljudski organizam, na kemijske procese u organizmu i nove dijagnostičke mogućnosti. Međutim, za izvođenje eksperimenata bila je potrebna specifična oprema i poseban prostor, pa se u skrovitim pozadinskim prostorijama rađaju prvi laboratoriji (White, 1991).

Pri kraju 19. stoljeća uvođenje kolorimetrijskih i fotometrijskih metoda bilo je presudno za razvoj kliničko-kemijske laboratorijske dijagnostike na kojima se i danas se bazira većina metoda. Tijekom prvih dekada 20. stoljeća, objavljene se metode za određivanje različitih komponenti kao što su: urea, kreatinin, proteini, urati, kolesterol, glukoza, kisik i ugljični dioksid u punoj krvi i u plazmi. Imena poput Folin, Ciocalteu, Liebermann-Burchard, van den Bergh i Van Slyke i danas su dobro poznata kliničkim kemičarima.

Utemeljiteljem moderne medicinske biokemije smatra se Donald Dexter Van Slyke (1883. - 1971.), koji je 1932. godine objavio knjigu *Quantitative Clinical Chemistry* (engl.). Ta knjiga ubrzava uvođenje kemijskih metoda u bolnice i vodi uspostavljanju medicinske biokemije kao specijalnosti unutar bolnica (Georges, 1983).

Zlatnim dobom medicinske biokemije smatra se razdoblje pedesetih i šezdesetih godina prošlog stoljeća. Tada su u bolničke laboratorije uvedene plamena fotometrija, potenciometrijske tehnike za mjerenje plinova, acido-baznog statusa i elektrolita, kromatografske, elektroforetske i imunokemijske tehnike. Njihovo uvođenje rezultiralo je kontinuiranim povećanjem broja analiza, što je posljedično zahtjevalo unutarnju organizaciju laboratorija i standardizaciju analitičkih procesa, uvođenje automatizacije i upotrebu kompjutera.

Današnji medicinsko-biokemijski laboratoriji nude liječnicima vrlo široku paletu analitičkih pretraga iz različitih tjelesnih tekućina, a zahvaljujući raznolikim kemijskim metodama i modernoj tehničkoj opremi medicinski biokemičari imaju veliku moć (Astrup, 1975).

U proučavanju povijesti medicinske biokemije osim znanstvenih članaka, poslužili su udžbenici iz povijesti medicine. Povijest medicine na našem području prvi je izučavao i objavio Lujo Thaller (1891. – 1949.) koji je svoj interes za to stekao tijekom studija u Beču. Ondje je taj kolegij predavao osnivač Instituta za povijest medicine Sveučilišta u Beču, neurolog Max Neuburger (1868. – 1955.) koji je ostavio najsnažniji pečat na povijest medicine u ovim krajevima. Njegovim predavanjem o temi *Značenje povijesti medicine*, 1927. godine na zagrebačkom medicinskom fakultetu je utemeljena povijest medicine kao kolegij (Fatović-Ferenčić, Pećina, 2007).

Osnivanje kliničko kemijskih laboratorija u Hrvatskoj započinje 1930.-ih godina, prvo u okviru vojnih institucija, a potom i unutar civilnih bolnica i klinika. Budući da prije Drugog svjetskog rata nije postojala mogućnost formalnog obrazovanja laboratorijskih stručnjaka potrebnog profila, laboratorije su osnivali i u prvo vrijeme vodili liječnici, uglavnom internisti. Tako je i dr. Thaller, predstojnik Internog odjela, 1938. godine preuredio i dogradio tadašnji Interni odjel. Jedan dio prostorija namjenio je laboratoriju pa su dvije prostorije u ukupnoj površini od 30 m² postale su kemijski, a dvije nešto manje prostorije, hematološki laboratorij. To je bila osnovna jezgra iz koje je izrastao današnji Klinički zavod za kemiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice (Topić i sur, 2006).

1.1. Medicinska biokemija u svijetu

Osim termina medicinska biokemija kod nas, u svijetu se primjenjuju brojni nazivi: patološka fiziologija, klinička biologija, klinička patologija, kemijska patologija, klinička biokemija, klinička kemija i laboratorijska medicina. Međunarodno je prihvaćen naziv klinička kemija, koji je 1912. godine primijenio Johan Scherer (1814. – 1869.) označivši svoj laboratorij kao kliničko kemijski laboratorij (*Klinisch Chemische Laboratorium*, njem.) u bolnici Julius u Wurzburgu u Njemačkoj (Majkić-Singh, 2005).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Povijest je učiteljica života.

Medicinska biokemija u Hrvatskoj mala je i usko specijalizirana struka, dok je u većini drugih zemalja pod okriljem medicine. Mali broj studenata medicinske biokemije zasjenjuje višestruki broj farmaceuta pa je u akademskom obrazovanju povijest ljekarništva ovdje ostavila gotovo nimalo mjesta medicinskoj biokemiji. Na prijedlog mentorice izv.prof.dr.sc. Nade Vrkić odlučila sam se za ovu temu. Cilj je prikazati razvoj medicinske biokemije u svijetu i u Hrvatskoj od njezinih najranijih početaka. Povijest je pregled prošlosti i putovanje do razumijevanja onoga što imamo danas. Ono što volim iz povijesti gotovo je neograničeni materijal za učenje i proučavanje. Nažalost, ne postoji ni jedna knjiga iz povijesti medicinske biokemije na hrvatskom jeziku. Koristila sam udžbenike iz povijesti medicine i članke koje sam pokušala sažeti i objediniti u ovaj rad. Puno je ljudi i događaja koji su pridonijeli razvoju medicinske biokemije te je nemoguće sve uvrstiti u ovaj rad. Zato sam se trudila izdvojiti najbitnije ličnosti i događaje. Je li povijest bitna u životu? Držim da, osim što obogaćujemo opću kulturu, upoznavajući povijest upoznajemo sami sebe, gradimo svoj identitet i jačamo svoja stajališta.

3. MATERIJALI I METODE

U ovom diplomskom radu proučavana je stručna i znanstvena literatura vezana uz povijest i razvoj medicinske biokemije. Budući da je medicinska biokemija mlada znanstvena disciplina, za istraživanje dublje povijesti korišteni su udžbenici iz povijesti medicine. Pri izradi rada također su korišteni znanstveni časopisi od kojih najznačajniji *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. To je službeni časopis *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) i *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (EFLM) te ove godine slavi 50. godišnjicu. Također je i službeni časopis devet nacionalnih društava kliničke kemije i laboratorijske medicine (Beastall i Watson, 2013). Prema tome, časopis zauzima jedinstveno mjesto objavljivanja članaka iz medicinske biokemije i laboratorijske medicine.

Za pretraživanje po bazama ScienceDirect i PubMed baze korištene su ključne riječi: clinical chemistry, history, development, laboratory medicine, diagnosis, prognosis, urin analysis, uroscopy, laboratory instrumentation.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. ANTIČKI KORIJENI

Pojam antika prvenstveno podrazumijeva kulturu Grčke i Rima te svih zemalja koje su bile pod utjecajem grčke i rimske kulture. U tom razdoblju leže korijeni razvoja zapadnog svijeta. Antika je u uobičajenoj podjeli povijesti dio Starog vijeka koji započinje pojavom prvih civilizacija u Mezopotamiji i Egiptu oko 3500. g. pr. n. e., a završava padom Zapadnog Rimskog Carstva. Ponekad se i izjednačava s pojmom Stari vijek

(<http://hr.wikipedia.org/wiki/Antika>).

Najraniji liječnici iz ovog doba svoje su dijagnoze temeljili prvenstveno na promatranju kliničkih simptoma, a najstarija poznata analiza biološkog materijala je analiza urina.

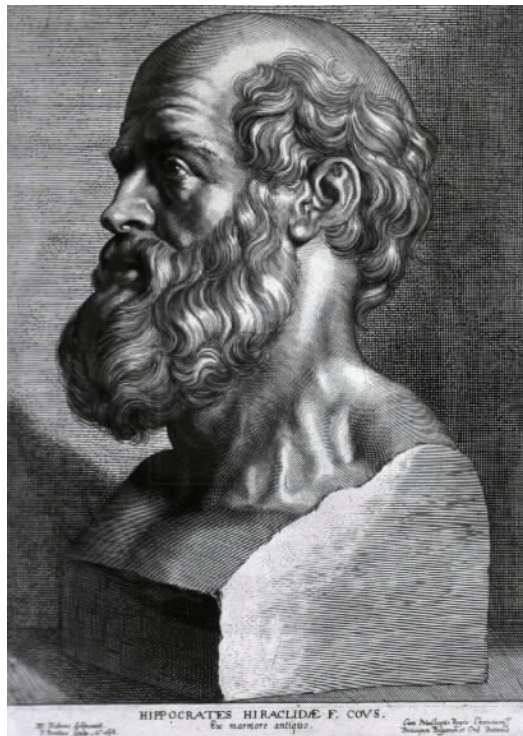
4.1.1. Starogrčka medicina

Grčka civilizacija označila je bitne vrijednosti koje su i danas intelektualni i etički instrument za Europljane. U njoj je u središtu svih nauka čovjek i njegova misao. Utemeljili su filozofiju, matematiku, fiziku, povijest, gramatiku te stvorili pjesnička, kiparska i arhitektonska djela neprolazne vrijednosti. Također, stvorili su temelj medicine. U tome, najvažniji faktori bili su sloboda mišljenja i sloboda istraživanja, odvojena od autoriteta države i religije. Svaki grad je bio država za sebe i u takvoj sredini nije bilo mjesta za mistiku, praznovjerje te religijski dogmatizam koji su prevladavali do ovog doba. Promatrali su prirodu i čovjeka, te njihov međusobni odnos.

Često se grčka medicina dijeli na onu prije Hipokrata, za vrijeme njegova djelovanja i poslije. Danas je teško odrediti kada je počela. Prvi tragovi potječu iz 3. tisućljeća pr. n. e. i pokazuju jasan utjecaj Egipta i Babilonije. Stari Grci vjerovali su da su bolesti prouzrokovane voljom bogova. Bolesti su bile određene kao kazne bogova, a ukoliko se bogovima pridonese određena žrtva oni bi tada podarili ljudima ozdravljenje. Drevna grčka medicina prolazi kroz sve faze kao i medicine drugih naroda, ali na kraju prelazi u naučnu. Prvi liječnici opisani su u Homerovim epovima *Ilijada* i *Odiseja* (Glesinger, 1978).

4.1.1.1. Hipokrat

Današnja medicina je izravni potomak medicine koja je nastala u Grčkoj u 5. stoljeću prije nove ere. Njezin osnivač, Hipokrat, rođen je 460. g. pr. n. e. na otoku Kosu u istoimenom gradu. Smatra se autorom velikog broja spisa koji su u 3. st. pr. n. e. objedinjeni u jedno djelo pod imenom *Corpus Hippocraticum*. U toj velikoj zbirci medicinskih spisa osjeća se njegov duh i sva veličina Hipokratove škole. Njegova je najveća zasluga odvajanje medicine od magije i religije te stvaranje znanstvene medicine. Hipokrat je Grk, a Grk je opažatelj, stoga on promatra dijelove u cjelini individua i cjelinu individua sastavljenu od dijelova. Hipokrat je jedan od najvećih liječnika svih vremena (Slika 1.). Promicao je korištenje uma i osjetila kao dijagnostičkih alata, principa zbog kojeg je i nazvan "otac medicine" (Glesinger, 1978).



Slika 1. Hipokrat¹

Da bi dobili jasnu sliku o bolesti, Hipokrat se zalagao za dijagnostički protokol koji uključuje degustacije pacijentova urina, slušanje pluća te promatranje boje i izgleda kože. Osim toga, liječnik je bio da "razumije pacijenta kao pojedinca". Tvorac je humoralne medicine (lat.

¹ Izvor: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Hippocrates_rubens.jpg

humor - tekućina, vlaga, sok) prema kojoj se ljudski organizam sastoji od sokova od kojih su najvažnija četiri: krv, sluz, crna i žuta žuč. Sokovi imaju svoja svojstva. Za normalno odvijanje životnih procesa bitan je omjer tih sokova pa razlikujemo eukraziju i diskraziju. Eukrazija označava ispravno pomiješane sokove, dok diskrazija označava poremećeni međusobni omjer sokova koji dovodi do bolesti. Tjelesni sokovi nastaju od pojedene hrane djelovanjem prirodene topline koja hranu pretvara ne samo u tjelesne sokove, već i u čvrste dijelove tijela. Njihov međusobni odnos u tijelu regulira posebna sila koju Hipokrat zove fizis. Na tjelesne sokove svode se i temperamenta, pa se ljudi razlikuju ovisno o pretezanju sokova u zdravom organizmu. Osoba kod koje preteže krv naziva se sangvinik, kod pretezanja sluzi flegmatik, kod pretezanja crne sluzi koja se stvara u slezeni melankolik, a kod pretezanja žute sluzi iz jetara kolerik (Slika 2.).



Slika 2. Četiri tjelesne tekućine²

Diskraziju proučava humoralna patologija. Kod pojedinih bolesti, kada otrov uđe u čovjeka, sokovi se poremete pa npr. žuč navre u krv i dovodi do bolesti. Učenje o tjelesnim sokovima prvi je pokušaj da se teorijski objasne sva zamršena zbivanja u zdravom i bolesnom organizmu. Sve do 18. stoljeća bilo je temelj medicinske znanosti (Fatović-Ferenčić i Pećina, 2007).

² Izvor: http://geriatrics.stanford.edu/ethnomed/asian_indian/fund/

Jedna od najvažnijih karakteristika hipokratizma jest individualiziranje. On pregledava bolesnikove izlučevine: urin, krv, slinu, stolicu i ispljuvak. Poznaje razne sedimente u urinu i zna da dolaze kod vrućice i da se kod upale bubrega urin pjenu. U hipokratskim spisima opisani su cistitis, pijelitis, bubrežni apscesi i mokraćni kamenci, tj. bolesti mokraćnih kanala i spolnih hormona. Veliku važnost ima uroskopija pomoću koje se na osnovi boje, izgleda i zamućenja mokraće stvaraju dijagnostički i prognostički zaključci. Poznaje hiperaciditet ispljuvka. Pregledava slinu i mjeri joj specifičnu težinu. Ukoliko je teška i pada na dno u morskoj vodi, uzrok je opasne bolesti.

Hipokrat primjenjuje empirijsku terapiju. Sva sredstva koja upotrebljava u skladu su sa njegovim humoralnopatološkim shvaćanjima. Pomoću njih nastoji regulirati omjer sokova u organizmu, poboljšati njihov sastav, te izlučiti škodljive sokove.

Utjecaj Hipokrata i njegove škole bio je najjači utjecaj u povijesti na razvoj medicinske znanosti. On započinje za njegova života, a traje dobrim dijelom i danas. Položio je temelje etike, stvorio znanstvenu terminologiju i oslobodio se praznovjerja. Njegova djela i danas imaju svoju vrijednost i to toliko da u suvremenoj medicini postoji geslo „Natrag Hipokratu!“. Najviše zbog toga što je on živi organizam smatrao jedinstvenom cjelinom, a pojedine dijelove međusobno ovisnima, pa se govori o bolesnom čovjeku i terapijskom liječenju cijelog organizma (Glesinger, 1978; Thaller, 1938).

4.1.1.2. Aristotel

Naša medicina je hipokratskog podrijetla. Međutim, na daljnji razvoj medicine velik utjecaj imao je Aristotel (384. - 322. g. pr. n. e.). Smatra se prvim sistematskim učenjakom i čovjekom koji je stvorio pojam znanosti. Bio je odličan biolog. Prvi je shvatio razliku između organa i tkiva. Znao je da su tkiva jednolična, a da se organi, primjerice ruke sastoje iz raznih tkiva. U svojim anatomskim i fiziološkim istraživanjima postavio je srce kao središte duše i središte krvotoka. Prema njemu, krv nastaje od hrane koja isparava, te odlazi u srce, a odande kroz vene na periferiju, opskrbljujući sve organe tzv. prirodnom toplinom. U arterijama nije krv nego pneuma i ondje nastaje puls (Glesinger, 1978).

Aristotel je bio najsvestraniji um starog vijeka. Njegovo stvaranje sistemske biologije, znanosti o životu, postavljanje teoretskih fundamenata za proučavanje biologije, koja traži studij filozofije, fizike i kemije, dala je poticaj za razvoj tih znanosti (Thaller, 1938).

4.1.2. Rimska medicina

Svoju samostalnost Grčka gubi 146. g. pr. n. e. i pada pod vlast Rima. U političkom pogledu postaje rimska provincija. Međutim, kulturni život razvija se i dalje samostalno. Ipak, čini se da Rimsko Carstvo označuje promaknuće Europe. Ono je na Sredozemlju, obuhvaća velike dijelove Afrike i Azije, no središte mu je Italija, prije svega europska zemlja. Rimljani preuzimaju Grčku medicinu, koja nastavlja Hipokratov put. S vremenom Rim je postao centar medicine, a najvažnija ličnost tog razdoblja bio je Galen.

Galen je rođen 129. g. u Pergammu u Maloj Aziji. Bio je Hipokratov pristaša i od njega preuzima učenje o četiri tjelesna soka. Njegova patologija također je humoralna te bolesti svodi na krvarenje ili disproporciju tjelesnih sokova. Bio je aktivni promatrač prirode. Stoga uvodi eksperiment u medicinu i pomoću njega proučava fiziološke i patofiziološke procese. Na području anatomije i fiziologije napravio je bezbroj eksperimenata i svojim opažanjima ih učinio znanstvenom osnovom medicine. Većina njegovih pokusa je dosta racionalna, ali zbog svog isključivo teološkog opredjeljenja prema kojemu tijelo postoji samo zato da bi služilo duši, nije shvatio pravu funkciju (Glesinger, 1978).

Opširno je opisao funkciju srca i krvnih žila. Njegovo tumačenje održano je sve do otkrića optoka krvi u 17. st.. Prema Galenu: iz tankog crijeva rastanjena hrana ide kroz portalnu venu u jetru, gdje se pod utjecajem spiritusa naturalisa pretvara u krv. Slezena čuva krv od onečišćenja. Iz jetre krv ide kroz venae hepaticae u venu cavu i dalje u desno srce gdje izlučuje tzv. čađu koja izlazi kroz plućnu arteriju (Glesinger, 1978).

Galen je stvorio sustav patologije koji kombinira Hipokratovu humoralnu teoriju sa Pitagorinom teorijom. Smatrao je da su četiri elementa (zemlja, zrak, vatra i voda) odgovorni za različite kombinacije fizioloških svojstava suho, hladno, vruće i vlažno. Ove kombinacije fizioloških karakteristika odgovaraju tjelesnim tekućinama: vruće i vlažno jest krv, vruće i toplo daje žutu žuč, hladno i vlažno sluz, a hladno i suho crnu žuč. Galen je bio poznat po tome što je sve objašnjavao u svjetlu svoje teorije i što je imao objašnjenje za sve. Također je opisao dijabetes kao "proljeva urina" i istaknuo normalan odnos između unosa tekućine i volumena urina. Nepokolebljivo je vjerovao u vlastitu nepogrešivost. Taj dogmatizam zaustavio je inovacije i otkrića u europskoj medicini. Stanje mirovanja trajalo je gotovo 14 stoljeća. Sve vezano za anatomiju, fiziologiju i bolesti jednostavno se vraćalo Galenu kao konačnom autoritetu. Nema nijednog područja medicine koje nije obradio u svojim djelima. O čemu god je pisao, uvijek se ispoljavalo njegovo golemo znanje i veliki autoritet (Berger, 1999).

4.1.3. Povijest flebotomije

Flebotomija je nauka o otvaranju vene urezivanjem ili punkcijom kako bi se odstranila krv za terapijski tretman ili dijagnozu. Izvorno nazvana „puštanje krvi“, oko 2000. g.p.n.e. bila je korištena više za terapijske nego dijagnostičke svrhe. Danas je analiza krvi ključni postupak koji se primjenjuje u cijelom svijetu kako bi se osigurala odgovarajuća dijagnostika i liječenje. Točan datum kada je krv prvi puta korištena ostaje nepoznat, ali prvi koji je prepoznao važnost vena i arterija oko 2650. g. p.n.e. bio je kineski car Hwang-Ti.

Puštanje krvi je bilo i najčešća praksa za gotovo dvije tisuće godina. Gubitak krvi smatrao se korisnim za zdravlje, jer je to bio način da se uravnoteže sokovi. Smatralo se da su sva četiri klasična elementa: vatra, zemlja, voda i zrak prisutni u krvi, pa će puštanje krvi vratiti pacijenta u opće dobro.

Puštanje krvi spominje i Galen. Prema njemu groznica, apopleksija i glavobolja rezultat su viška krvi, pa bi kirurg trebao vezati ruke pacijenta kako bi vene nabubrile i postale izraženije, za puštanje određene količine krvi (Glesinger, 1978).

Kako krv prolazi iz arterija u vene ostao je misterij sve do 1660. Kada je Marcello Malpighi, vodeći mikroskopist tog vremena, pokazao kapilarnu cirkulaciju i detalje vezane za srce. Godine 1908. James C. Todd, profesor kliničke patologije na Sveučilištu u Coloradu objavio je prvi priručnik za kliničku dijagnozu u kojem opisuje opće tehnike i anatomske točke za puštanje krvi (Slika 3.)

Instrumenti koji su se koristili u početku zamijenila je, naravno, naprednija oprema, ali princip je ostao isti. Prekretnicu u instrumentaciji i konceptu sakupljanja krvi označava pojava vacutainera 1943. godine kada se javlja i novi interes flebotomičara (Slika 4.).

(<http://www.northcoastmedicalacademy.com/learning-center/history-of-phlebotomy.php>)



Slika 3. Anatomske točke za puštanje krvi³



Slika 4. Prva epruveta „vacutainer“ za sakupljenje krvi

³ Izvor: <http://www.northcoastmedicalacademy.com/learning-center/history-of-phlebotomy.php#history>

4.2. POČETCI UROSKOPIJE

Najstarija nam poznata dijagnostička metoda jest analiza urina, izvorno nazvana uroskopija. S umijećem uroskopije započeli su babilonski i egipatski liječnici koji su govorili o urinu kao o „božanskoj tekućini“ ili prozoru u tijelo. *Uroskopia* u prijevodu znači znanstveni pregled urina, a riječ je izvedena iz grčkih riječi „ouron“ što znači urin i „skopeo“ što znači pregledati, razmatrati, ispitivati. Svoje ime zadržala je sve do 17. st. otkad se naziva analiza urina. Uroskopija podrazumijeva predviđanje bolesti promatranjem urina što je vrlo važan dio dijagnostike, a ponekad i jedini izvor informacija. Bila je ogledalo medicine tisućama godina (Armstrong, 2007).

Najranija analiza opisana u literaturi koja se može smatrati specifičnim dijagnostičkim testom, jest test za trudnoću. Takve testove priređivali su Egipatski svećenici 1000. g. pr. n. e. koji su uz to mogli odrediti i spol djeteta. Test su izvodili tako da su izlili urin na sjemenke žitarica. Ako bi došlo do germinacije, onda je test bio pozitivan (Bolodeoku i Donaldson, 1996).

Titula izvornog, prvog uroskopičara dodijeljena je Hipokratu. Međutim, vjeruje se da ona postoji i u vremenima prije njega. Sumerski i babilonski liječnici 4000. g. pr. n. e. zabilježavali su svoju procjenu svojstava urina na glinenim pločicama. Drevni Sumerani, među prvim civilizacijama prepoznali su da se svojstva urina mijenjaju u različitim bolestima. Jedan od najranijih izvora koji pripadaju dijagnostičkoj važnosti urina nađena je u literaturi na sanskritu koji opisuje 20 različitih tipova urina iz 100. g. pr. n. e. (Armstrong, 2007).

Hindu kulture zapazili su da je okus i miris urina nekih ljudi sladak i da privlači mrave i ostale insekte. To se nazivalo medenom mokraćom, a odgovara značakama danas poznate bolesti diabetes mellitus (Bolodeoku i Donaldson, 1996).

Dominantna teorija uzroka bolesti do 16. st bila je u sastavu četiri tjelesna soka. Još u 4. st. pr. n. e., Hipokrat je pretpostavio da je urin filtrat tekućina koje dolaze iz krvi i filtriraju se bubrezima prilično točnim opisom. U svojim *Aforizmima* opisuje mjehuriće koji se nalaze na površini svježeg urina kao pokazatelj dugoročne bolesti bubrega. Mjehurići na površini urina ustvari su posljedica proteinurije i mogu indicirati bolest bubrega ili infekcije urinarnog trakta. Hipokrat povezuje sediment urina s groznicom te napominje da se sediment povećava s pogoršanim stanjem (White, 1991).

Od Hipokrata, nauka o urinu nije se mijenjala do novih znanstvenih otkrića Galena koji je rafinirao njegove ideje. Urin predstavlja, a ne filtrira četiri tjelesne tekućine i cjelokupno

stanje organizma. Galen je želio učiniti analizu urina mnogo specifičnijom. On se koristi izrazom „proljevanje urina“ kako bi opisao prekomjerno mokrenje i objasnio da je to atipičan simptom. Danas se koristi izraz poliurija koji je simptom dijabetesa i drugih stanja. Držao je da je će kod zdravih osoba ista količina ući i izaći iz organizma (Armstrong, 2007).

Povjesničari medicine izražavaju sumnju u točnost uloge uroskopije u antici i srednjem vijeku. Točnost samih tekstova antičkih vremena koji su preživjeli kroz translacije i transkripcije vrlo je upitna. Liječnici su obično imali površna znanja o anatomiji, a gotovo nikakva o uzročnicima bolesti (White, 1991).

4.3. SREDNJI VIJEK (500. - 1500.)

Mnogi povjesničari srednji vijek smatraju najtužnijim razdobljem u povijesti ljudske kulture. Kako ljudske kulture, tako i povijesti medicine. Često se zove mračni i sterilni. Klasična grčko-rimska medicina opstaje u Bizantskom Carstvu i u samostanima na zapadu zahvaljujući prepisivačima koji su prepisivali stare medicinske rukopise te Arapima koji su ih prevodili i čuvali. U medicinskoj struci vlada sterilnost te nastaje zastoj koji traje sve do 16. stoljeća. Ipak, to je razdoblje koje je trajalo gotovo tisuću godina, a najveća zasluga tog vijeka je u povezivanju istoka i zapada. Međutim, ne treba zaboraviti, to mračno razdoblje završava renesansom.

U Salernu, malom gradu na obali južne Italije, u 12. st je osnovana znamenita medicinska škola. Zbog dobrog zemljopisnog položaja, ta je škola bila žarište latinske, grčke, arapske i istočnjačkih kultura. Sakupljena su medicinska znanja iz svih tih kultura, pri čemu se posebna važnost pridaje arapskoj medicini. Jedan od najpoznatijih magistara Salernske škole bio je arapski Constantinus Africanus (11. st) koji je preveo na latinski jezik tekstove najvećeg liječnika islama, Isaaca Ebreusa (880-940). On je u svojoj knjizi *Guida Medicorum* (Vodič za liječnike) naglasio dijagnostičku važnost urina i uveo pravila uroskopije. Na taj način je uroskopija postala temeljno važna u odnosu na rimsku i grčku medicinu gdje je glavna dijagnostička metoda bila ispitivanje pulsa. Mnogi salernski magistri su napisali knjige o uroskopiji: Magister Maurus, Magister Ursus i Giller de Corbeil bili su najvažniji (Dal Canton i Castellano, 1988).

U Srednjem vijeku Europljani su malo znali o ostatku svijeta. Geografske karte bile su nepouzdana: Azija je bila ucrtana vrlo neodređeno na istoku, na zapadu nije bilo ničega, a Afrika je bila tajanstvena zemlja nastanjena čudovištima i opasnim narodima. Čak i u samoj Europi, zbog nepreciznih zemljovida, plovidba morem bila je toliko nepouzdana da su se brodovi držali obale kako se ne bi izgubili. Godine 1522. brod Ferdinanda Magellana oplovio je svijet. Od tada više nije bilo sumnje - Zemlja je okrugla.

U srednjovjekovnoj Europi kršćani su vjerovali da je bolest bila kazna za grijeh ili rezultat čarobnjaštva. Dijagnostika je bila suvišna. Osnovna terapija bila je molitva, pokajanje i zazivanje svetaca. Medicina je bazirala dijagnozu na simptomima, ispitivanjima pulsa, palpaciji, perkuziji i ispitivanju izlučevina. Liječnici srednjeg vijeka, osim liječenja medikamentima, primjenjivali su i druge metode među kojima jedno od najvažnijih mjesta zauzima venesekcija.

Pod utjecajem kršćanstva osnovane su prve bolnice u današnjem smislu i prva sveučilišta. Najstarije sveučilište osnovano je u Bologni čiji se početci mogu slijediti do 1088. godine. U 12. stoljeću osnovana su još sveučilišta u Reimsu, Oxfordu i Parizu. Medicinska nastava sastojala se od čitanja i komentiranja klasičnih tekstova. Medicina se učila iz povijesti.

Gutenberg oko 1440. godine pronalazi tehniku tiskanja, a Kolumbo 1492. otkriva Ameriku što također utječe na razvoj medicinske struke. Knjiga postaje moćno sredstvo za širenje novih spoznaja.

U svom dijagnostičkom programu, srednjovjekovna medicina također uključuje tumačenje snova. Tako su primjerice ponovljeni snovi poplava značili višak tjelesnih tekućina koji zahtjeva evakuaciju, a letenje pak prekomjerno isparavanje tjelesnih tekućina (Berger, 1999.). Prakticira se uroskopija, a urin postaje simbol srednjovjekovne medicine. U 7. st. Theophilus Protospatharius napisao je *De Urinis*, prvu publikaciju isključivo na temu urina. Knjiga opisuje raspon boja urina i njegova obilježja. *De Urinis* ostavlja značajan utjecaj u srednjem vijeku. Dodatno objašnjenje Protospathariusova pisanja objavio je hebrejski liječnik i filozof Isaac Judaeus (855. – 955.), pri čemu urin zauzima poziciju nenadmašnog dijagnostičkog alata (Garcia-Webb, 1991). Protospatharius je izumio prvu dokumentiranu laboratorijsku tehniku: zagrijavanje urina. Toplina će precipitirati proteine koja će se manifestirati kao zamućenje. Stotinama godina poslije, u 16. st., Paracelsus koristi ocat kako bi precipitirao proteine. Ova laboratorijska otkrića liječnik Fredrik Dekkers sto godina poslije pripisuje proteinuriji, koja ostaje značajan dijagnostički pokazatelj do danas (Herren i Wiedlders, 2007.).

Tehnika prikupljanja urina smatrala se važnom za točno tumačenje. Ismail al Jurjani, liječnik iz 11. st. predlaže skupljanje 24 satnog urina u velike čiste posude i čuvanje na mjestu bez sunca i topline. Posude su bile oblika mjehura, zbog uvjerenja kako će točnija dijagnoza nastati iz posude koja je slična stanju u ljudskom tijelu. Ismail je također vjerovao da hrana i starenje mijenjaju urin. Prema njemu, potrebno se dobro naspavati i prije skupljanja urina biti na tašte. Pisao je knjige kako bi podučavao druge o prikupljanju i ispitivanju urina. To učenje iz Perzije širilo se po cijelom svijetu. (Armstrong, 2007)

Gilles de Corbeil (1165. – 1213.), liječnik francuskog kralja Philippe-Augusta, doradio je Protospathariusa i Judaeusova pisanja. Njegovo učenje opisuje 20 različitih tipova urina. Ovisno o uvjetima u organizmu, zabilježava razlike u sedimentu i boji. De Corbeil uvodi u praksu matulu (naziva se i jorden), staklenu posudu u kojoj liječnici pregledavaju urin te procjenjuju boju, konzistenciju i bistrinu. Zaobljenog dna i oblika mjehura, matula je napravljena od čistog, tankog stakla za adekvatnu analizu. Liječnik bi uzeo u ruku matulu s bolesnikovom mokraćom, okrenuo je prema svjetlu i gledao što će u njoj naći (Slika 5.).



Slika 5. Liječnici analiziraju urin u matulama⁴

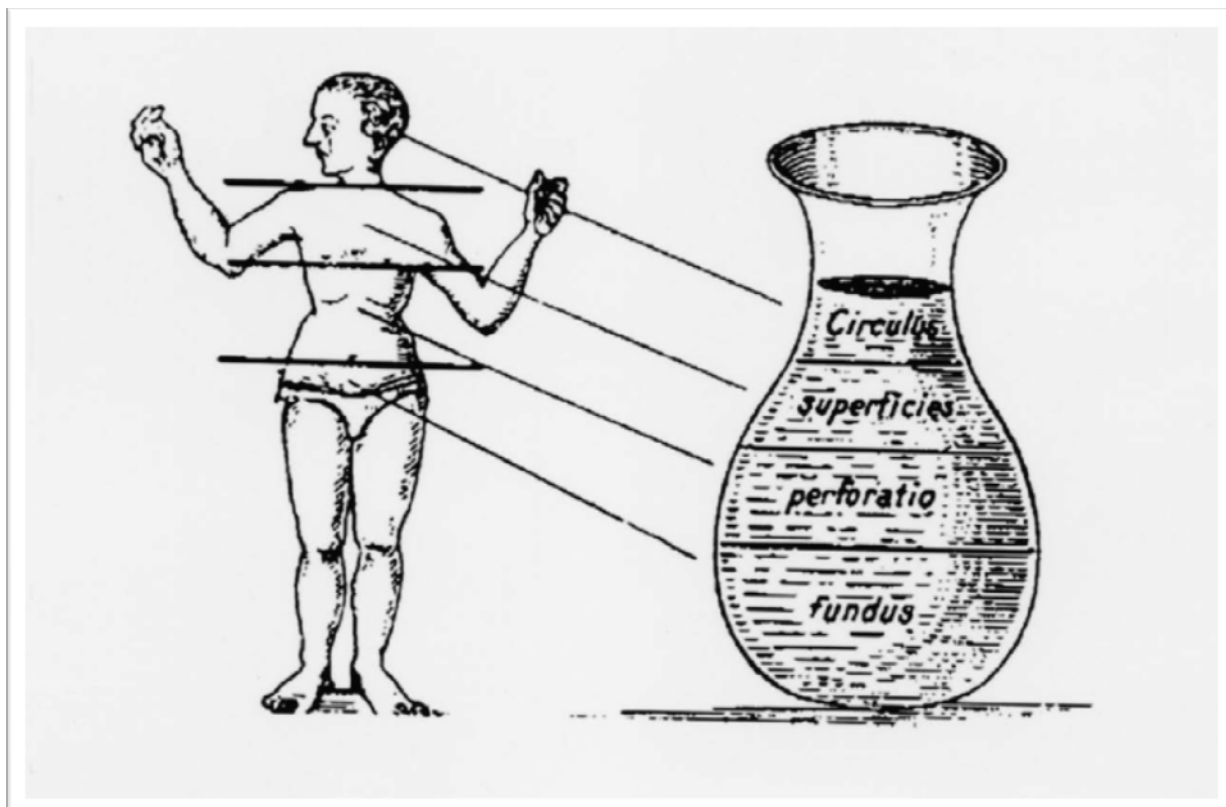
⁴ Izvor: Armstrong, 2007.

smanjeni volumen urina, težina bubrega i bol u kralježnici, te da trbuh nabubri nakon nekog vremena (White, 1991).

Analiza urina postala je nevjerojatno popularna. Pacijenti i liječnici smatrali su kako je to racionalan i bezbolan način da razlikuju i mjere čovjekovu neravnotežu, budući da je to neinvazivna metoda. Potentnost matule kao simbola medicinske moći, također je rasla. Liječnici bi odjenuli duge haljine i izvodili ritual držanja i okretanja matule na svijetlu prije nego što suvereno otkriju pacijentovu sudbinu. Ovo je impresioniralo pacijente i ugradilo uvjerenje u liječnikovu inteligenciju. Tako je matula bila ne samo sredstvo i znak časti, nego i simbol uglednih liječnika, jednako kao bijela kuta i stetoskop danas.

Neki liječnici počeli su prakticirati izricanje dijagnoze bez susreta s pacijentom. Nedostatak kontakta bio je kontroverzan unutar medicinske zajednice. Neki su liječnici, uključujući Joannes Actuarius (1275. – 1328.) iz Konstantinopola, upozoravali na upitnost dijagnoze temeljene samo na analizi urina. Actuarius, koji je postao glavnim liječnikom Carstava napisao je *On Urine*, raspravu podijeljenu u sedam knjiga. Napredniji od prethodnih učenjaka, Actuarius je nastojao objasniti metabolizam ispitivanjem otpadnih tvari iz urina. Kategorizirao je urin u različite vrste, dijagnostičke vrijednosti, abnormalnosti, bolesti i prognostiku. Vjerovao je u fiziologiju temeljenu na četiri tjelesne tekućine, ali je modificirao teoriju klasificiranjem organizama u četiri tipa digestije, temeljeno na temperaturi. Četiri fundamentalne temperature bile su sangvinik, kolerik, flagmatik i melankolik (Armstrong, 2007).

Žuti urin smatrao se zdravim. Tamni urin bio je povezan s povećanim otpadnim tvarima, a svijetli sa tjelesnom slabošću. Actuarius je usredotočen i na sediment pretpostavljajući da se odvajanje tjelesnih elemenata temelji na njihovoj gustoći. Svijetli elementi - vatra i zrak, zadržavaju se na vrhu, a teži elementi - zemlja i voda idu prema dnu. Stoga, liječnici mogu detektirati dio tijela u kojemu se nalazi neravnoteža prema dijelu matule. Mjehurići na površini predstavljaju nesklad na glavi, a teži sediment, padajući na dno ukazuje na probleme u nogama. Actuarius je promijenio oblik matule s ciljem veće dijagnostičke preciznosti (Slika 7.). (Armstrong, 2007; Raos, 2012)



Slika 7. Glavni dijelovi tijela, odgovaraju određenim dijelovima u matuli⁶

4.3.1. Alkemija

Jedno od učenja koje je preneseno iz Egipta u Bizant bila je alkemija. Cilj je bilo stvaranje kamena mudraca, pretvaranje neplemenitih kovina u plemenite i pripremanje eliksira mladosti (Slika 8.). Ovo mistično učenje potječe iz drevnog egipatskog teksta Tabula Smaragdina. Alkemičari su vjerovali da ga je napisao Hermes Trismegistos (Hermes tri puta najveći), što je grčki naziv za egipatskog boga Thotha, boga pisma i mudrosti. Tabula Smaragdina je tekst magijskog karaktera koji opisuje postupak pripreme supstance „Kamen mudraca“. Ovaj tekst su tijekom mnogo stoljeća alkemičari pokušavali dešifrirati i odgonetnuti njegovu tajnu. Iz tog učenja kasnije se razvila kemija. Međutim, u srednjem vijeku ona je uz astrologiju služila isključivo praznovjernim svrhama.

⁶ Izvor: Heeren i Wiolders, 2007

Neobičan talent za kemiju pokazali su Arapi. Osvojivši Egipat naišli su na prve početke alkemije, koju su razvili do zavidnih visina. Najveći dio njihovog uspjeha ostao je do danas zapisan u kemijskim nazivima. Riječ kemija arapskog je podrijetla, dolazi od riječi *al-kimia*, a znači umjetnost preobrazbe. Također imena elemenata (primjerice kalij), spojeva (primjerice alkohol, aldehid), te cijeli niz kemijskih procesa (poput destilacije i sublimacije), potječu iz alkemijskog riječnika (<http://www.alchemywebsite.com>).



Slika 8. Pripremanje kamena mudraca⁷

⁷ Izvor: <http://io9.com/incredible-historic-pictures-of-early-science-labs-485796493>

4.4. RENESANSA (1450. – 1600.)

Sredinom 15. stoljeća započinje novo razdoblje - renesanse ili reforme, čija je karakteristika oslobađanje od tradicija i rušenje autoriteta te postepeno uvođenje znanstvenih prirodoslovnih metoda.

Tijekom renesanse uroskopija je ušla u kućanstva preko najprodavanije knjige *Fasiculus Medicinae*, koju objavljuje Johannes de Ketham iz Njemačke 1491. godine. U knjizi je objasnio teoriju i uključio mogućnost samodijagnostike, što je donijelo iznimnu popularnost knjizi. Tijekom ovog razdoblja liječnici su počeli primjenjivati agresivne terapije, tako da su mnoge bolesti liječili prolijevanjem krvi i njezinim pročišćavanjem (Slika 9.). Neki pacijenti su se okrenuli od liječnika, oslanjajući na kućnu dijagnostiku (Armstrong, 2007).



Slika 9. Puštanje krvi iz ženske ruke, ulje na platnu (1750.)⁸

⁸ Izvor: <http://www.sciencemuseum.org.uk/broughttolife/techniques/bloodletting.aspx>

Hipokrat je vjerovao da se tijekom terapije ne bi smjela nanijeti nikakva šteta pacijentu i da se treba pristupiti prema cjelokupnom organizmu. Do 15. st. analiza urina se odvijala dinamikom liječnik - pacijent. Sukladno tome autor Voswinckel opisao je situaciju: „Vjera u napredak i precjenjivanje instrumenta i eksperimenta dovelo je do duboke promjene, kako u razumijevanju bolesti, tako i u odnosu između liječnika i pacijenta“ (Armstrong, 2007).

4.4.1. Šarlatani i uromancija

Prijevodni znanstvenih i medicinskih rukopisa koji su prije toga bili dostupni samo na latinskom jeziku, uroskopiju su napravili dostupnom većem broju ljudi. Kako su tekstovi kružili među većim brojem neobrazovanih ljudi, nastali su *šarlatani* koji su samozvano preuzeli ulogu iscjelitelja. Termin se upotrebljavao za sve medicinske praktičare koji nisu bili liječnici.

Postojale su jasne edukativne, socijalne, profesionalne i ekonomske razlike između liječnika i šarlatana. Liječnici su imali najmanje stupanj prvostupnika medicine, iako je većina posjedovala titulu doktora. S druge strane, šarlatani nisu imali formalne naobrazbe. Oni su se koncentrirali na praksu i interakciju s pacijentima. Liječnici su se koncentrirali na filozofiju bolesti. Šarlatani nisu imali prestiž ni bogatstvo kao liječnici. No neki su pacijenti preferirali iskustvo šarlatana više, negoli uzvišeno znanje liječnika. Općenito, siromašnija populacija ih je češće posjećivala. Njihova dijagnostika temeljila se samo na boji urina. Ljudi su se znali poigravati lažima i varati šarlatane kombiniranjem urina sa životinjskim ili urinom drugih ljudi u namjeri za željenom dijagnozom, kao što i danas suvremeni pacijent na testiranju droga podmeće prijateljevu mokraću. Priča koja se često ponavlja u literaturi je primjer o ženi koja je u želji da izbjegne dijagnozu trudnoće, pomiješala svoj urin sa urinom krave. Nažalost, šarlatani su objavili da su obje, i žena i krava trudne (Armstrong, 2007).

Do 17. st. uroskopija se udaljila od medicine do neslućenih razmjra. Liječnici i šarlatani počeli su gatati iz urina, poznato pod nazivom *uromancija*, a lovci vještica miješali su urin s noktima kako bi razlikovali vještice od ne-vještica (Bolodeoku i Donaldson, 1996).

Aktivist Thomas Brian vodio je medicinsku pobunu protiv svih zlouporaba uroskopije tijekom stoljeća. Brian je 1637. godine objavio *Pisse Prophet*, knjigu koja je uništila uroskopiju. Liječnici koji su viđeni sa matulom postali su predmet ismijavanja i nazivalo ih se pogrdnim imenima (Armstrong, 2007).

4.4.2. Uroskopija i umjetnost

Zanimljivo je da je uroskopija prikazana i u različitim oblicima likovne umjetnosti. Osim mnoštva slika liječnika uroskopičara i pacijenata, uroskopija je prikazana i u drugim oblicima, poput reljefa. Nađena je u Italiji na zidu bolnice u Toskani, na zvoniku Santa Maria del Fiore u Florenci i u Francuskoj na katedrali Notre Dame u Rouenu. U Njemačkoj, dva liječnika, sveti Kuzma i Damjan (Slika 10.) prikazani su na vitraju crkvenog prozora u Pippingu, blizu Münchena. Kuzma drži matulu koja predstavlja dijagnostičku stranu medicine, a Damjan mužar i tučak koji predstavljaju terapijsku i ljekarničku stranu (White, 1991).



Slika 10. Sveti Kuzma i Damjan

4.4.3. Borba za reformu praktične medicine - Paracelsus

Napredak na području anatomije morao je odvesti do napretka praktične medicine koja je bila još pod utjecajem Galena te besmislenih metoda liječenja punih praznovjerja. Za početak reforme praktične medicine zaslužan je Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus

Paracelsus von Hohenheim (Slika 11.). Rođen u Švicarskoj, od oca liječnika, u djetinjstvu je naučio osnovne medicinske pojmove, a priroda je zarana u njemu probudila prirodoslovni interes i želju da upozna tajanstvene prirodne sile. Nadimak Paracelsus („veći i od Celsa“, slavnoga rimskog liječnika iz 1. stoljeća) nadjenuo je sam sebi. U svojoj devetoj godini preselio se u Villach gdje se upoznaje s metalurgijom, kemijom i botanikom, a to znanje bilo je veoma važno za njegov kasniji rad. Na sveučilištu u Ferrari završio je medicinu, potom otišao na putovanja diljem Europe. Na putovanjima nastojao je upoznati narodnu medicinu priprostih ljudi i steći praktično iskustvo. U Baselu dobio je 1527. godine mjesto gradskog liječnika, pa je smio držati predavanja koja su pobudila veliku pažnju i privukla veliki broj slušača. Međutim, ubrzo se posvađao s bazelskim liječnicima te javno spalio Aviceninina djela u znak prezira prema arapskoj medicini.



Slika 11. Paracelsus⁹

Napisao je velik broj radova u području medicine, alkemije, astrologije, filozofije i teologije. Ta djela obiluju nerazumljivim riječima, a sadrže temelje njegovog novog učenja koje se

⁹ Izvor: <http://www.fampeople.com/cat-paracelsus>

bitno razlikuje od dotadašnjeg. On odbacuje teoriju o četiri tjelesna soka i životne funkcije svodi na kemijske procese koji su jednaki u ljudskom organizmu i anorganskoj prirodi. Prema njemu, ljudski se organizam sastoji od sumpora, žive i soli. Dok god traje život, te supstance se troše i opet obnavljaju, a svim tim procesima upravlja tajanstvena sila koju on zove *archaeus*, a koja je jednako važna za održanje fizioloških funkcija, kao i za postanak i tok bolesti. Bolesti su prema njemu posljedica kemijskih promjena u organizmu, stoga svojim prirodoslovnim tumačenjem sila koje upravljaju normalnim i patološkim procesima, postaje preteča biokemije. Dosljedno tome uvodi pojam tartaričkih bolesti: arteriosklerozu, artritis i razne vrste kamenaca čiji postanak uspoređuje sa stvaranjem sriješa (*tartarus*) u vinskim bačvama.

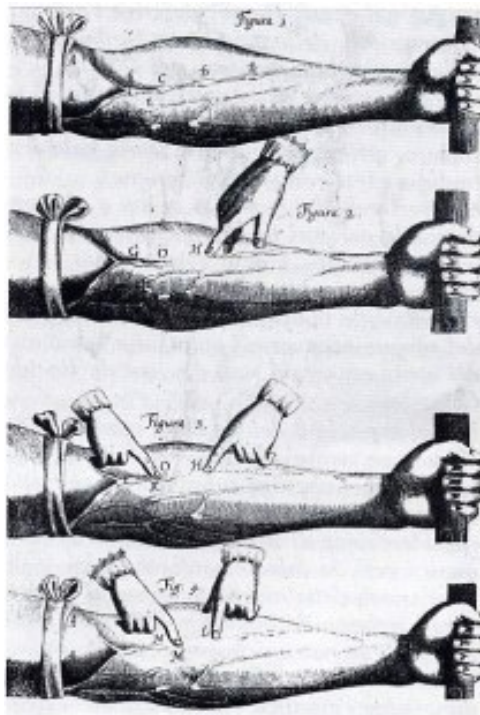
Međutim, uz racionalizam u njegovim djelima nailazi se i na idealizam. U djelu *Paragranum* govori da su četiri stupa medicine - filozofija, astrologija, alkemija i teologija. Teoretske osnove Paracelsusovih učenja nisu razumljive ako se ne poznaje njegova filozofija. Čak i učenje o kemijskim procesima u organizmu objašnjava filozofski: živa, sol i sumpor samo su simboli onih sila koje u tijelu djeluju međusobno i izazivaju u njemu promjene. Zbog svega toga, smatra se i pretečom vitalističkih shvaćanja.

Jedan je od prvih koji je u terapiju uveo kemijske lijekove. Služio se živom, bakrom, olovom, željezom, srebrom, zlatom, kositrom, antimonom i sumporom. Također, služio se i lijekovima koji nisu kemijskog porijekla, osobito ljekovitim biljem.

Kao osoba dao je izniman poticaj prirodoslovno-medicinskom istraživanju jer je propagirao princip *experientia ac ratio* (iskustvo i razum) gdje je isticao kako teorija mora proizaći iz prakse. U svoje doba, Paracelsus nije bio shvaćen. Njegovi kolege proglašavali su ga šarlatanom, dugo vremena. Pravo razumijevanje njegovog rada dogodilo se tek potkraj 19. stoljeća kada se javio novi interes za Paracelsusa (Glesinger, 1978).

4.5. SEDAMNAESTO STOLJEĆE

Medicinski napredak u 17. stoljeću sastojao se uglavnom od opisa tjelesne građe i funkcije koji je postavio temelje za dijagnostička i terapijska otkrića koja su uslijedila. Status medicine poduprla su znanstvena društva u Italiji i pojava povremene literature. Najveći događaj u medicini poslije Galenovog vremena, bilo je otkriće optoka krvi Williama Harveya (1578. – 1657. ; Berger, 1999). Proučavao je hladnokrvne životinje, jer im je krvni optok sporiji nego u toplokrvnih. Uzimao je za to morske i riječne račiće. Zbog prozirnog oklopa, mogao je promatrati srčani rad na živim bićima. Opisao je kako krv u tijelu kola: otkrivši da su srce, pluća i krvne žile u njemu povezani u jedinstveni sustav (Slika 12.).



Slika 12. Harvejeve ilustracije cirkulacije¹⁰

Nakon objave ovih otkrića, bolesnici su odbili da ih liječi „čovjek ludih teorija“. Izrugivao mu se i kolega: Anatomija je isto toliko potrebna kirurgu koliko i znanje o sastavu drveta nekome stolaru“ (Getaldić - Švarc, 2004).

¹⁰ Izvor: <http://physiologyonline.physiology.org/content/17/5/175/F3.expansion>

Engleski znanstvenici kasnije su dokazali da srce djeluje kao mišićna pumpa koja pumpa krv kroz tijelo u kontinuiranim ciklusima. To je označilo početak razdoblja mehaničkih objašnjenja za različite funkcije i procese, uključujući digestiju, metabolizam, respiraciju i trudnoću

Izum mikroskopa otvorio je vrata u dotad nevidljivi svijet. Najraniji mikroskopist bio je isusovac Athanasius Kircher (1602. – 1680.) iz Fulde (Njemačka) koji je bio vjerojatno prvi koji je koristio mikroskop kako bi istražio uzroke bolesti. Jedan od najvećih doprinosa medicini dao je talijanski mikroskopist Marcello Malpighi (1628. – 1694.). Njemu se pripisuje titula osnivača histologije. Bio je liječnik pape Inocenta XII., a poznat po istraživanju embriologije pilića i histologije i fiziologije žlijezda i utrobe (Berger, 1999).

Gravimetrijsku analizu urina uveo je Belgijanac Jean Baptiste van Helmont (1577-1644). Vagao je brojne 24-satne uzorke, ali nije mogao izvući nikakve značajne zaključke iz svojih mjerenja. Na kraju 17. stoljeća Frederik Dekkers iz Leidena u Nizozemskoj, 1694. godine zapazio je kako se urin koji sadržava proteine precipitira kad se kuha s octenom kiselinom. Tada je analiza urina postala mnogo značajnija i vrijednija. Najbolje kvalitativne analize urina toga vremena razvio je Thomas Willis (1621. – 1675.), engleski liječnik i zagovornik kemije. On je bio prvi koji je pripisao slatkoću urina dijabetičarima, što je utemeljilo pristup za diferencijalnu dijagnozu dijabetes mellitusa i dijabetes insipidusa (Bolodeoku i Donaldson, 1996).

U toku su bili i eksperimenti s transfuzijom krvi. Engleski fiziolog Richard Lower (1631. – 1691.) prvi je obavio direktnu transfuziju s jedne životinje na drugu. Ostale medicinske inovacije uključuju intravensko liječenje, transfuziju krvi i pokušaje korištenja pulsa i temperature kao indikatora zdravstvenog statusa (Berger, 1999).

4.5.1. Otac kemije

Robert Boyle (1627. – 1691.) bio je engleski kemičar i fizičar. Nosi titulu oca kemije, a najveći doprinos ostvario je svojom knjigom *The Sceptical Chemist* objavljenom 1661. godine. Kako je već poznato, sve do 17.st. filozofi su smatrali da se sve stvari sastoje od četiri tvari ili elementa: zemlje, vode, zraka i vatre. U knjizi, Boyle je pobio Aristotelove i Paracelsusove teorije. U to doba alkemičari su zagrijavali i mješali tvari kako bi vidjeli da se one mjenjaju i pretvaraju iz jedne u drugu. Tragali su za kamenom mudraca, tvari koja bi mogla običnu kovinu pretvoriti u zlato. Boyle je prvi uočio razliku između elemenata i

spojeva. Pretpostavio je da se sve sastoji od temeljnih tvari ili elemenata, a svaki od njih se pak sastoji od sićušne čestice nazvane "elementarno tjelešce".

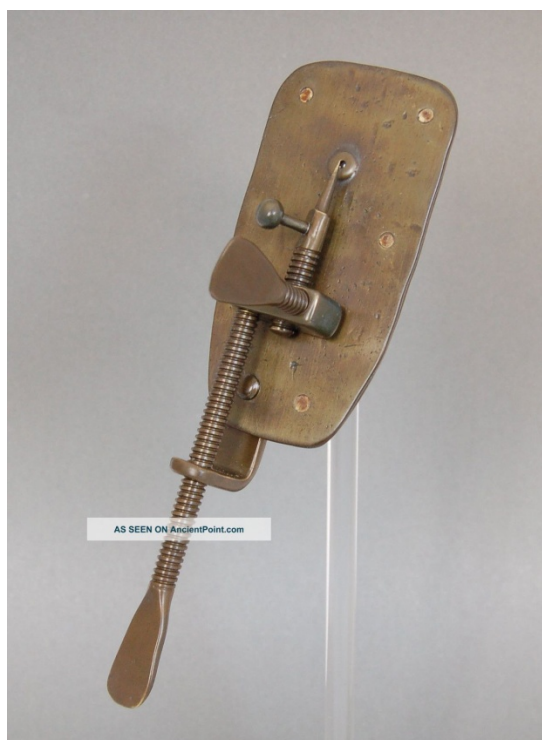
No ako je Boyle svojom teorijom elemenata bio u pravu, onda su alkemičari bili u krivu. Obje teorije se međusobno isključuju pa je to postao teren polemike tijekom čitavog 18. stoljeća - mogu li se tvari međusobno samo miješati ili se mogu i kemijski mijenjati? Odgovor na to pitanje dao je francuski kemičar Antonie Lavoisier svojim pokusom kojim je potvrdio Boyleovu teoriju elemenata i dao joj zasluženno mjesto na polju kemije.

Također je i postavio zakon o ovisnosti obujma plina o tlaku. Smatra se da je ideja o korištenju razlika u kemijskom sastavu tjelesnih tekućina u dijagnostici potekla upravo od Boylea oko 1680. godine (http://understandingscience.ucc.ie/pages/sci_robertboyle.htm).

4.5.2. Počeci mikroskopije

Jedan od najvažnijih događaja u povijesti medicinskih struka nesumnjivo je otkriće mikroskopa. Ono je omogućilo neslućeni razvoj laboratorijske struke u 19. stoljeću. Smatra se da su prvi mikroskop konstruirali nizozemski brusač naočala Hans Janssen i njegov sin Zacharias Janssen 1600. godine. Popularizaciji mikroskopa mnogo je pridonio njihov prijatelj fizičar i mehaničar, Cornelis Drebbel. Međutim, najvažnija ličnost u povijesti mikroskopa svakako je Antony van Leeuwenhoek (1632. – 1723.). Zanimljivo je kako on nije bio ni liječnik ni prirodoslovac, niti je bio školovan. U slobodno vrijeme bavio se brušenjem leća i sastavljanjem mikroskopa (Slika 13.).

Njegov mikroskop sastojao se od dvije konveksne leće pričvršćene između dvije metalne ploče koje su u sredini imale otvor. Predmet bi pričvrstio na iglu pomičnog nosača, što mu je omogućilo da ga polagano pokreće. Ta su povećanja bila 40 do 160 puta. Konstruirao je i mikroskope s većim povećanjem (do 270 puta). Ukupno je konstruirao 419 jednostavnih mikroskopa.



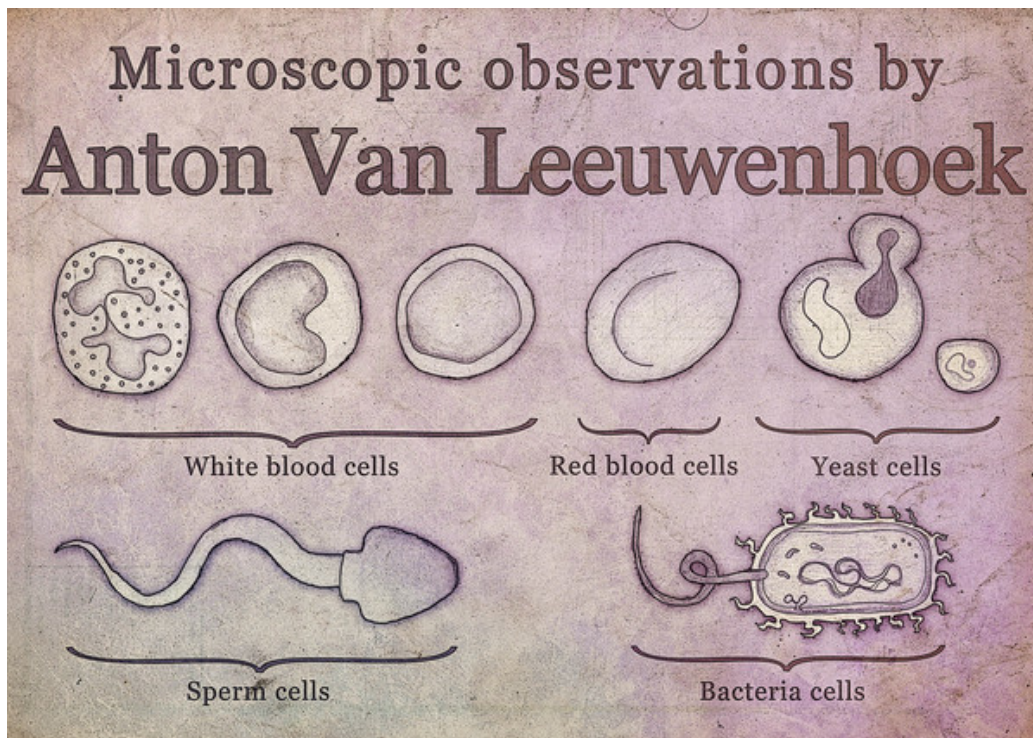
Slika 13. Leeuwenhoekov mikroskop¹¹

Oko 1670. godine počeo se baviti i mikroskopskim istraživanjima. Istraživao je sve što mu je došlo pod ruku (Slika 14.). Položio je temelje mikrobiologije. Promatrao je stanice u krvi, a prvi točan opis crvenih krvnih stanica objavljen je 1674. godine.

Ipak, mikroskop nije čvrsto uspostavljen u kliničkim analizama do 1820. Tada je Joseph Lister (1786. – 1869.) dizajnirao akromatski objektiv koji je unaprijedio mikroskopiju u kliničkoj kemiji (Caraway, 1973).

Sredinom 17. st. talijanski liječnik Marcello Malpighi (1628. – 1694.) počeo je upotrebljavati mikroskop za proučavanje ljudskog tijela. Pronašao je mnoge sićušne tvorbe, kao što su okusni pupoljci na jeziku. No on se nije ograničio samo na proučavanje ljudi, već je detaljno proučavao i biljke i životinje. Također je otkrio kapilare, sitne krvne žile koje su predstavljale „kariku koja nedostaje“ Harvey-evu krvotoku. Na taj način su se malo-pomalo polagali temelji našeg današnjeg znanja o ljudskom tijelu (Copeland, 2007.).

¹¹ Izvor: http://ancientpoint.com/inf/34178-leeuwenhoek_antique_microscope_replica.html



Slika 14. Mikroskopska promatranja Antony van Leeuwenhoek¹²

4.5.3. Ijatrokemija

Veliki napredak i preokret u medicini 16. i 17. stoljeća doveo je do polaganog napuštanja Galenovog tumačenja fizioloških i patofizioloških procesa u ljudskom organizmu. Liječnici su upoznali građu organizma otkrićem optoka krvi i uvođenjem mikroskopa. Međutim, trebalo je Galenovo učenje o tjelesnim sokovima nadomjestiti novim učenjem koje će biti u skladu s tim otkrićima. Tada su liječnici morali uzeti u obzir fiziku i kemiju koje su u to vrijeme osobito napredovale. Polazna točka nove medicinske tvrdnje, ijatrokemije, Paracelsusova je spoznaja da se u ljudskom organizmu zbivaju različiti kemijski procesi, jednako kao i u anorganskoj prirodi. Ijatrokemija je nastojala da sve fiziološke i patofiziološke procese svede na zakone kemije. Međutim, u isto vrijeme napredak fizike privlačio je pažnju liječnika. Nametala su se pitanja o uzroku životnih procesa, o njihovom tumačenju pomoću zakona fizike, odnosno mehanike. Tako su nastale dvije medicinske struke, ijatrokemija i ijatrofizika, koje su imale veliko značenje u 17. stoljeću. U njihovom učenju ima i grešaka i zabluda, ali za ono vrijeme,

¹² Izvor: http://ancientpoint.com/inf/34178-leeuwenhoek_antique_microscope_replica.html

obje struke znače veliki napredak, jer odbacuju sve mistične i natprirodne sile, a život i životne funkcije tumače prirodnim zakonima (Glesinger, 1978).

4.5.3.1. Johan Baptista van Helmont, posljednji ijatrokemičar - prvi biokemičar

Jedan od glavnih predstavnika ijatrokemije bio je Johan Baptista van Helmont (1577. – 1644.). Sukob i proturječnost tog vremena sadržani su u ovoj ličnosti. Razočaran tadašnjim stanjem medicine, počeo je proučavati Paracelsusova djela i postao njegovim najvećim pristašom. Bio je vrlo obrazovan: liječnik, kemičar, filozof i mistik. Njegovu neobičnu karijeru opisuje skepticizam i vjera, mistika i istinsko znanstveno istraživanje. Nije se mogao potpuno obraniti od praznovjerja onog vremena pa je u jednom svojem spisu negirao da je religija kadra izliječiti bolesti. Zbog toga je bio optužen radi hereze te je zatvoren, a djela su mu bila konfiscirana. Nakon dvije godine pušten je na slobodu, no tek nakon smrti oslobođen je optužbe (Rosenfeld, 1985).

Helmont je kemiju životnih procesa postavio na znanstvene temelje. Zbog toga se smatra prvim biokemičarem. Prvi je shvatio ulogu fermentata koje je pronašao u krvi, mokraći, žuči, crijevu i drugdje. Dokazao je da u želudcu na proces probave djeluju kiselina i ferment. Tjelesnu toplinu smatra posljedicom različitih procesa vrenja koje izazivaju fermenti. Kemijskoj analizi podvrgao je krv i mokraću. U krvi je pronašao sol, a u mokraći sol i amonijak. Otkrio je i dokazao ugljičnu kiselinu i njezinu prisutnost u mineralnim vodama te se zalagao za terapijsku uporabu ljekovitih vrela. U kemiju je uveo analitičku vagu. Bio je veliki protivnik venesekcije i napisao opsežne upute za upotrebu kemijskih lijekova u medicini. Međutim, zbog svojih mistično-spekulativnih teorija nije naišao na pravo priznanje, pa time nije stekao mnogo pristaša (Rosenfeld, 1985).

4.5.3.2. Frans de le Boë Sylvius

Mного veći značaj ima drugi predstavnik ijatrokemije, Frans de le Boë Sylvius (1614. – 1672.), profesor praktične medicine u Leidenu, te jedan od najistaknutijih liječnika 17. stoljeća. Bio je sjajan kliničar, a temelj njegovog učenja je činjenica da se praktična medicina može razvijati samo na temelju anatomije i kliničkog iskustva. Za razliku od Helmonta od kojeg je preuzeo pojam fermentacije, on se oslobađa mističnih i vitalističkih teorija. Razlikuje

kiselu i alkalnu fermentaciju čiji poremećaj uzrokuje bolesti. Pretpostavlja da u tome velik utjecaj imaju žlijezde, stoga istražuje njihovu građu i funkciju. Pritom otkriva važnost sline za probavu. Njegov učenik Graaf 1664. godine otkriva sok pankreasa, a Sylvius shvaća važnost tog soka u probavnom procesu. Donio je i važna kemijska otkrića. Otkrio je da djelovanjem kiselina na lužine nastaju soli. U terapiju uvodi kemijske lijekove i takozvane alterancije za uklanjanje suvišnog aciditeta ili alkaliteta koji dovode do oštine krvi i do bolesti. Sylvius je imao mnogo pristaša, a njegov je veliki autoritet mnogo pridonio širenju i jatrokemije.

Najznačajniji njegov sljedbenik bio je Englez Thomas Willis (1621. – 1675.). Bio je izvrstan anatom, ali i istaknut kliničar kojemu zahvaljujemo klasične opise mnogih bolesti. Prvi je primjetio da je mokraća dijabetičara slatka (1673.) te razliku između dijabetes melitusa i dijabetes insipidusa (Glesinger, 1978).

4.6. OSAMNAESTO STOLJEĆE

Napredak medicine, u ovom stoljeću obilježen je više teoretskim nego praktičnim. Novi udžbenici opisali su velik broj bolesti, a otkriveni su i mnogi lijekovi poput digitalisa i opijuma. Značajan događaj koji je preteča prakse modernih laboratorija u mjerenju protrombinskog vremena i drugih koagulacijskih testova, jest otkriće mehanizma koagulacije. Fiziolog William Hewson (1739. – 1774.) iz Hexama u Engleskoj pokazao je da se kod odgode koagulacije krvi, koagubilna plazma može odvojiti od stanica. Hewson je otkrio da plazma sadrži netopljive tvari koje se mogu precipitirati i ukloniti iz plazme na temperaturi nešto većoj od 50 °C. Zaključio je da je koagulacija formiranje u plazmi tvari koju je zvao „koagulabilna limfa“, danas poznati fibrinogen. Kasnije otkriće da je fibrinogen protein plazme i da se pretvara u fibrin u procesu koagulacije potvrđuje važnost Hewsonovog rada (Copeland, 2007).

Kroz 18. stoljeće većina liječnika mislila je da bolesti nastaju isključivo u organima i tkivima i čvrstim dijelovima tijela. Smatralo se da tjelesne tekućine nisu u stanju izazvati bolesti pa je njihovo uključivanje u patologiji u velikoj mjeri zanemareno. Bilo kakve promjene u njima koje su se mogle uočiti doživljavale su se kao simptomi, a ne uzročnici bolesti. Krv,

održavatelj života, postala je najvažnija od svih tjelesnih tekućina. Ona je bila drugačija od ostalih tekućina (Berger, 1999).



Slika 15. Kemijski laboratorij u 18. Stoljeću¹³

¹³ Izvor: http://en.wikipedia.org/wiki/Timeline_of_chemistry

4.7. DEVETNAESTO STOLJEĆE

Devetnaesto i dvadeseto stoljeće svjedoče rastu i razvoju kliničke kemije. Mnogi pojedinci i njihov doprinos iz tog doba nisu dobro poznati, pogotovo mlađim članovima struke. Tijekom sredine 19. stoljeća, razvijeni su testovi za mnoge analite u urinu. Volumetrijske metode zamijenile su laboratorijske gravimetrijske tehnike i postale glavnim alatom istraživanja u razvoju biokemije (Rosenfeld, 2002).

U obuci profesionalnih kemičara Engleska je pratila Njemačku i Francusku. Tijekom prve polovice 19. stoljeća razvoj britanske kemije je slab. Naglasak na Sveučilištima u Oxfordu i Cambridgu bio je više na amatersku, nego na profesionalnu edukaciju. Klinički laboratoriji nastaju oko 1880. godine. Osim privatnih laboratorija u domovima nekih liječnika, nisu postojali klinički laboratoriji nigdje u Engleskoj, čak ni u sveučilišnim bolnicama, a neke od najvećih bolnica nisu pružale nikakve mogućnosti za medicinsku biokemiju. Unatoč individualnim postignućima, Engleska je zaostajala za kontinentom u laboratorijskom istraživanju bolesti. Jedan od glavnih razloga je taj što se smatralo neprikladnim trošiti novac za laboratorijska istraživanja pa se on koristio za dobrotvorne svrhe u liječenju bolesne sirotinje.

U Njemačkoj, akademsko zvanje uživalo je omiljen status u 19. stoljeću. Nijemci su se više oslanjali na znanstvene metode za unaprjeđenje tehnologije te je kemija zahvaljujući tomu našla povoljnije okruženje za razvoj.

Uoči Prvog svjetskog rata, kemija krvi u Engleskoj bila je na počecima, a pregledi urina nisu napredovali tijekom proteklih 50 godina. Nakon početnog interesa za laboratorijsku dijagnostiku, laboratorijski posao se povjerava pomoćnom osoblju tehničara. (Rosenfeld, 2004).

4.7.1. Anatomski koncept bolesti

Suvremeno shvaćanje bolesti započinje pojavom i radom Giovannia Battiste Morgagnia (1682. – 1771.) koji uvodi anatomski koncept organa kao sjedišta bolesti. Po prvi puta rezultati detaljne post-mortem analize povezuju se s kliničkim simptomima i s takvim istim prijašnjih slučajeva. Anatomski je pristup tako u 19. stoljeću zamijenio stoljećima star interes za tjelesne tekućine. Kemijska revolucija, predvođena radom Antoine Laurent Lavoisiera

(1743. – 1794.) postavlja temelj moderne kemije s novim načinom analiza. Kemijske promjene u prirodi, kao i one proizvedene umjetno, sagledavale su se s razumijevanjem (Rosenfeld, 2002).

Theodore Schwann (1810. – 1882.) otkrio je stanice u svim ljudskim tkivima. Sredinom 19. st. Rudolph Virchow (1821. – 1902.) razvio je koncept stanične patologije, prema kojoj se dijagnoza bolesti mogla postaviti ispitivanjem stanica (Race i sur, 2004).

U ovom razdoblju, točnije 1859. godine, engleski znanstvenik i prirodoslovac Charles Robert Darwin (1809. – 1882.) izdao je knjigu *The Origin of Species* koja je šokirala svijet. Knjiga se prodala u potpunosti već prvi dan te je naknadno tiskano još šest izdanja. Darwin ju je pripremao pune 22 godine. U njoj iznosi teoriju o evoluciji živih bića pomoću koncepta razvijanja svih životnih oblika procesom prirodnog odabira. Ta je teorija po njemu dobila i nazvana darvinizmom (Wilkinson, 1998).

U Njemačkoj, kliničari su prepoznali važnost kemije te su laboratoriji za kliničku kemiju počeli nicati sredinom 19. stoljeća (Coley, 2004). Istraživanja specifičnih bolesti bila su važna, ali je još nedostajalo šire razumijevanje fiziološke kemije za napredak znanstvene medicine.

Do kraja 19. stoljeća u kliničkoj biokemiji bilo je moguće prirediti kulturu patogenih mikroorganizama, sadržaj hemoglobina, brojiti crvene i bijele krvne stanice, mikroskopski identificirati neke patogene, mjeriti vrijeme zgrušavanja u poremećajima koagulacije, ispitivati ispljuvke na tuberkulozu, raditi jednostavne imunološke testove te dokazivati aminoaciduriju u bolestima jetre (Berger, 1999).

4.7.2. Kemija životinja i vitalizam

Antoine François de Fourcroy (1755. – 1809.), kemičar i liječnik, smatra se prvim koji je osmislio plan za uspostavu kliničkih laboratorija u bolnicama. Njegov glavni interes bila je primjena kemije u medicini, a u skladu sa sveopćim reformama Francuske revolucije. On je predložio da se klinički laboratoriji nalaze blizu odjela gdje će se kemijske analize urina i ostalih ekskreta moći provoditi. Fourcroy je vjerovao da takva analiziranja predstavljaju novi način istraživanja i studiranja bolesti. Međutim, praktična implementacija nije uspjela u ranom stadiju zato što primjerene kemijske metode još nisu bile dostupne.

Jöns Jakob Berzelius (1779. – 1848.) napustio je medicinsku praksu da bi se koncentrirao na znanstvena istraživanja. Postao je vodeći kemičar u Europi tijekom prve polovice 19. stoljeća. Objavio je *Föreläsningar i Djurkemien* na švedskom jeziku - predavanja o kemiji životinja, 1806. i 1808. godine, koja su temeljena na kemijskom znanju tog vremena o životinjskim tkivima i tekućinama, a uključivale su protokole za ispitivanje tjelesnih tekućina. Iako nikad prevedena na engleski jezik, knjiga je usmjerila interes fiziologa i kemičara u kemijski sastav i procese koji se događaju u životinjskom tijelu. Berzelius je definirao organsku kemiju kao dio fiziologije koja opisuje kemijski sastav i procese u živom organizmu.

U urinu je identificirao laktat, kloride i fosfate, kao i mokraćnu kiselinu. Također je opazio i malu količnu kalcijevog fluorida. Godine 1806. predstavio je protokol ispitivanja tjelesnih tekućina, a 1840.g. izdao *Lehrbuch der Chemie* i rekao - Očekuje se dug put u kojem će kemijska ispitivanja moći razlikovati krv zdravih od oboljelih s obzirom na varijacije koje se javljaju kod zdravih pojedinaca. Njegova analiza postala je standard sve do kraja 1840-ih godina (Rosenfeld, 2002).

Daljnja eksperimentalna istraživanja na životinjskim tekućinama bile su omogućene novim analitičkim tehnikama koje su predstavili J. J. Berzelius u Švedskoj i Justus von Liebig u Njemačkoj. Ove metode usavršio je William Prout, londonski liječnik i animalni kemičar koji je najpoznatiji po hipotezi da su atomske težine svih atoma umnošci atomske težine vodika. Rad Justusa von Liebiga (1803. – 1873.) bio je klica „njemačkog monopola“ u kemiji u 19. stoljeća jer je njegova škola kemije privlačila studente iz cijelog svijeta. U djelu *Animal Chemistry* on objašnjava fiziološke procese kemijskim reakcijama koje podliježu zakonima kemije i fizike. Knjiga je bila značajna za razvoj kliničke kemije jer uvodi kvantitativnu metodu u fiziologiju. Iako nikad nije proveo pokus na živim životinjama, Liebig pruža jednu od prvih sveobuhvatnih slika kemijskih promjena u životnim procesima. *Animal Chemistry* ima najznačajniji utjecaj na budući tijek fizioloških postavki i istraživanja (Coley, 2004; Rosenfeld, 2002).

Konceptualni jaz između *in vivo* procesa i *in vitro* analiza, između života i epruvete nije premošten sve do 1828. godine, kada je Wöhler sintetizirao ureju u odsutnosti živog organizma. Vitalisti u 19. stoljeću, vodeći fiziolozi uključujući Marie François Xavier Bichat (1771. – 1802.), Johannes Müllera (1801. – 1858.) i Justus Baron von Liebiga, vjerovali su da su procesi unutar živog organizma jedinstveni i da se ne mogu oponašati u laboratoriju.

Posljedično tome, *in vitro* sinteza organskih molekula činila se nemogućom u skladu sa svjetonazorom da živi organizmu posjeduju vitalnu silu koja je bit života. Dogma o vitalnoj sili prožimala je i umjetnost i znanost. Držali su da nijedna supstanca proizvedena u živom organizmu ne može biti sintetizirana kombinacijom kemikalija u laboratorijskim uvjetima bez živog organizma. Vjerovali su da se život sam po sebi ne može razumjeti u terminima *kemijski* ili *fizički* te da postoji skrivena sinergija unutar svih živih bića koja premašuje sumu njihovih materijalnih dijelova (Wilkinson, 1998).

4.7.3. Mehanicistička teorija

Jedna od prvih osoba koja je nasuprot svima imala drugačije mišljenje bio je René Descartes (1596. – 1650.) koji je pretpostavio da životinje nisu ništa više nego strojevi. Descartes i drugi mehanicisti vjerovali su da se život može potpuno objasniti kemijskim i fizičkim principima i značajkama. Zastupali su mišljenje da organizam nije ništa drugo nego stroj, kao navijena ura koja ide dok je spirala napeta. Dakle, gibanje organizma jest čisto mehaničko. Descartesove ideje snažno su utjecale na razvoj empirijske znanosti o živom svijetu, iako je on posebno mjesto u funkcioniranju mozga pripisivao duši. Ali, kad je riječ o tjelesnom aspektu, Descartes je smatrao da su živi organizmi po prirodi materijalni i da se mogu proučavati kao što se mogu proučavati i nežive tvari. Pristaše mehanicističke teorije u 19. stoljeću uključuju značajne fiziologe kao što su Heman von Helmholtz (1821. – 1894.), Carl Ludwig (1816. – 1895.), Ernst Brucke (1819. – 1892.) i Emil Du Bois-Reymond (1818. – 1896.). (Wilkinson, 1998)

Claude Bernard (1813. – 1878.) također nije vjerovao u vitalizam, ali se nije potpuno slagao ni sa mehanicistima. On je smatrao da se živa bića mogu proučavati redukcionističkom strategijom. Pri objašnjavanju svoga stajališta često se koristio analogijom proučavanja parnoga stroja. Govorio je da bi za neobrazovanog promatrača parna lokomotiva mogla izgledati kao da je upravljana misterioznom unutarnjom silom koja joj dopušta kretanje. U nedostatku mogućnosti proučavanja dijelova te lokomotive, a pogotovo proučavanja toga kako ona upotrebljava energiju da bi proizvela paru te kako se prtvvara pritisak pare u mehaničku silu koja pokreće kotače, olako bi zaključili da takvim strojem upravlja misteriozna unutarnja sila koja omogućuje njegovo pokretanje. Međutim, sredinom 19. stoljeća svakom je bilo posve jasno da parni stroj pokreću mehaničke sile. Bernard je mislio

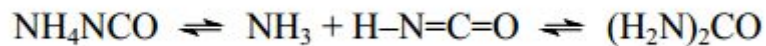
da se mehanički determinizam vezan uz funkcioniranje parnog stroja u principu ne razlikuje od onoga koji objašnjava ponašanje živih bića. Da bi potkrijepio svoje stajalište, Bernard navodi načine preživljavanja vrlo jednostavnih organizama. On pokazuje kako su jednostanični organizmi ovisni o uvjetima okoliša u kojem žive. Oni se mogu održati samo ako u njihovu okolišu prevladavaju prikladni vanjski faktori kao što su vlaga, toplina, dovoljna količina kisika u zraku i hranjive tvari. Takva bića nisu sposobna održati se nezavisno od svoga okoliša. Funkcije jednostavnih organizama jasno proizlaze iz kemijskih i fizikalnih interakcija s okolnim uvjetima pa su oni vrlo osjetljivi na svaku promjenu vanjskih okolnosti.

Dakle, uzročni faktori povezani s održanjem života jednostavnih organizama vrlo su očiti pa se deterministički mehanizmi kojima se održava život mogu lako prepoznati. Za razliku od toga, mnogi visoko razvijeni organizmi posjeduju viši stupanj autonomije u odnosu na svoju okolinu. Sisavci su npr. sposobni regulirati temperaturu, opskrbu stanicama kisikom, zalihe hranidbene tvari itd., mijenjajući ih s obzirom na promjenjivost vanjskih uvjeta. Zbog toga, primjećuje Bernard, ovi složeni organizmi promatraču mogu djelovati autonomnima pa se može činiti kao da iza njih stoji skrivena životna sila, što je zapravo iluzija. Ustvari, složeni organizmi nisu nimalo manje determinirani uvjetima okoline. Na staničnoj razini oni su vrlo osjetljivi na bilo kakvu promjenu u uvjetima unutarnje okoline. Stoga Bernard smatra da su funkcije složenih organizama određene i vanjskom i unutarnjom okolinom te da je održanje života izrazito ovisno o održavanju konstantnosti unutarnje okoline s obzirom na promjene u vanjskoj okolini. Njegova je ključna ideja da fizikalni izazovi integritetu organizma izazivaju odgovore koji nastoje uspostaviti stanje ravnoteže (Wilkinson, 1998).

4.7.4. Sinteza ureje - prekretnica u razvoju organske kemije

Friedrich Wöhler (1800. – 1882.) otkriva 1828. godine *in vitro* sintezu organske supstance ureje bez vitalnih sila ili živih organizama. On je otkrio da ureja nastaje isparavanjem izomernične otopine amonijevog cijanata (Slika 16). To je bila prva organska sinteza, prekretnica u kliničkoj kemiji, most između organskog i neorganskog svijeta, između živog organizma i laboratorija, prvi dokaz da kompleksni procesi koji se događaju u čovjekovu organizmu mogu biti razumljivi *in vitro*. Ureju je prvi puta izolirao Antoine François, Comte de Fourcroy 1799. godine iz urina. Riječ ureja dolazi od francuske riječi *urée* što je trebalo

označiti esencijalnu sol u urinu, a također je grčkog porijekla, grč ouron - urin, mokraćna (Wilkinson, 1998).



Slika 16. Sinteza ureje

4.7.5. Kemijske analize tjelesnih tekućina

U ranim godinama 19. stoljeća zbog otkrića novih supstanci u zdravom i bolesnom organizmu javlja se potraga za kemijskim objašnjenjem fizioloških fenomena kao vodičem za medicinsku dijagnozu i kontrolu terapije. William Prout (1785. – 1850.), i sam vitalist, bio je rani i dosljedni zagovornik prednosti koje donosi kemija u medicini u liječenju bolesti. Njegovo djelo *An Inquiry Into the Nature and Treatment of Diabetes, Calculus, and Other Affections of The Urinary Organs* (1825.) postavlja ga na mjesto jednog od najuspješnijih britanskih fizioloških kemičara. Bio je vrlo skeptičan prema kemijskim lijekovima zbog mogućih nuspojava, ali je predložio terapiju jodom kod gušavosti. Tvrdio je da odgovarajuća prehrana treba sadržavati ugljikohidrate, masti, proteine i vodu. Već 1824. godine je ustvrđuje da je kiselina želučanog soka kloridna kiselina. Prout je u fiziologiji primjenio kemijske metode i interpretaciju. Suvremenici su ga kritizirali zbog stajališta da se tjelesna vitalna funkcija može objasniti kemijom. Zagovarao je da fiziolozi postanu kemičari. Međutim, povijest će ga pamtiti po najpoznatijoj hipotezi da su atomske težine svih atoma umnošci atomske težine vodika (Rosenfeld, 2003).

Jedan od Proutovih obožavatelja bio je Henry Bence Jones (1813. – 1873.), također jedan od predvodnika kliničke kemije koji je vjerovao da vitalna sila igra sporednu ulogu u životnom procesu, a da se gotovo sav, ako ne i sav život može razumjeti zakonima kemije i fizike. Zaslužan je za otkriće prvog tumorskog biljega 1847. g. u urinu bolesnika. Radi se o proteinu veoma male molekularne težine koji lako prolazi kroz bubrežnu barijeru (koja inače normalno zadržava proteine). Ovaj protein nekontrolirano sintetiziraju maligno promijenjene plazma stanice u krvi. Metoda opisana te godine primjenjuje se i danas. Za određivanje postojanja proteina prozvanog po Bens Jonesu, potrebno je skupljati mokraću 24 sata te je koncentrirati, a potom separirati elektroforetskom tehnikom. Postojanje ovog proteina (koji

se može određivati i u krvi), ukazuje najčešće na postojanje multiplog mijeloma, maligne krvne bolesti (Rosenfeld, 1987).

Richard Bright 1827. g. jasno uspostavlja povezanost edema, albumina u mokraći i bolesti bubrega koji je promatrao nakon smrti bolesnika. Opisao je i oslikao bolest bubrega (kronični nefritis) koja i danas nosi njegovo ime (Brightova bolest). Pošto nije imao odgovarajuće znanje kemije, Bright ostavlja analize urina Johnu Bostocku (1773. – 1846.) iz Edinburgha, diplomiranom doktoru medicine koji je naslijedio Alexandera Marceta (1770. – 1822.) kao predavač kemije na Guy's Hospital Medical School. Bostock je predložio da prisutnost albumina u urinu možda nije nužno indikacija bolesti, no ipak se to smatra događajem gdje je kemija sa prvim pravim, korisnim dijagnostičkim laboratorijskim testom napravila prvi veliki utjecaj na kliničku medicinu. To se smatra ishodištem moderne kliničke patologije. Međutim, sredinom 19. stoljeća, unatoč neoborivojkorelaciji koju je pronašao Bright, većina medicinara još uvijek smatraju bolest primarno općim fenomenom i ne misle da je potrebno tražiti poveznicu između simptoma u živih i strukturalnoj patologiji mrtvih (Caraway, 1978).

Iako je rad kemije u medicini postupno dobivao priznanja, medicinska profesija bila je još uvijek ravnodušna, čak i neprijateljski nastrojena prema ideji da istraživački rad kemije na životinjama može usavršiti dijagnostičke metode, prevencije i liječenja bolesti. Raširena vitalistička teza da se procesi u tijelu nikad neće razumjeti nije se dugo dala otjerati i bila je podržana teorijom tog vremena.

Thomas Hodgkin (1798. – 1866.) patolog i Brightov kolega na Guy's Hospital, smatrao je da su kemijska istraživanja potrebna kliničkoj medicini te osporava tradiciju vitalizma. Budući da se promjene kontinuirano događaju između čvrstih dijelova tijela i krvi, tvrdi da se za mnoge značajne promjene vezane uz bolesti treba gledati krv. Prema njemu, bolest će jednog dana biti objašnjena u terminima „molekularnih kretanja“, više kemijski nego mehanički.

U vremenu kada je opis bolesti bio često samo katalog simptoma, postojalo je nekoliko medicinara koji su cijenili svrhovitost kemije u objašnjavanju i postupku liječenja. Iako su 1820. i 1830. Bright, Bostock, Rees, Prout, Bence Jones i Marcet, istraživali kemijski aspekt bolesti, prodor u rutinsku dijagnostiku nije bio raširen (Rosenfeld, 2002).

4.7.5.1. Dijagnostički znakovi

Otkrivanje novih supstanci u zdravlju i bolesti pokrenuo je interes za kliničku kemiju u kasnim 1830. i 1840. Uslijedilo je sustavno traganje za patološkim promjenama u kemijskim procesima tjelesnih tekućina kao vodičima za medicinsku dijagnozu i kontrolu terapije. Mjesto istraživanja bio je Würzburg gdje je Johann Joseph Scherer (1814. – 1869.) prvi upotrijebio izraz „kliničko kemijski laboratorij“ (klinisch-chemischen Laboratorium) u predgovoru svoje monografije *Chemische und Mikroskopische Untersuchungen zur Pathologie* (1843.).

Tijekom tog razdoblja razvili su se testovi za mnoge sastojke u urinu. Volumetrijske (titrimetrijske) metode zamijenile su laboratorijske gravimetrijske tehnike. Objavljene su specifične kemijske reakcije za proteine, žučne kiseline, šećer i ureju. Proteinurija i glikozurija, kao i glukoza i žučni pigmenti u krvi, postali su poznati kao dijagnostički znakovi. Iščekivanje otkrivanja drugih znakova pojačalo je interes kemije u rješavanju medicinskih problema. Međutim, iako je postojalo mnogo pojedinačnih kemijskih informacija o analizama krvi i urina u zdravlju i u bolesti, nisu se povezivale. Istraživači nisu shvaćali koliko malo znaju o osnovnoj fiziologiji i patologiji kad su se požurili u napad na najteže probleme u patologiji. Analitička kemija urina ostala je po strani do kraja 19 st.. Dakle, koncept „dijagnostičkog znaka“ bio je preuranjen.

Praksa i interes za jednostavna kemijska ispitivanja krvi, posebno urina slabio je jer više nije bilo značajnih dobiti za kliničara. Oživljavanje kliničke kemije ponovno se javilo u Austriji i Njemačkoj kada su kliničari postali i kemičari te počeli koristiti kemiju u svojim pokusnim istraživanjima. Preferirani izraz tada je bio „patološka kemija“, a predmet u školi medicine zvao se kemijsko-mikroskopska ispitivanja. Sličan razvoj pratile su Engleska i Amerika s vremenskim odmakom od otprilike 20 godina (Rosenfeld, 2002).

4.7.6. Progresija u Americu

U Sjedinjenim Američkim Državama, do 1870-ih godina, prosječni medicinski student i liječnik pokazivao je površno znanje iz kemije, a u uporabi nije bio ni mikroskop. Klinička patologija nije bila ništa više od jednostavnog ispitivanja urina (King, 1983). Najraniji početci kliničkog laboratorija u Americi dogodili su se u Bostonu 1847. godine. Tada je

povjerenstvo *Massachusetts General Hospital* prepoznalo snažan utjecaj znanosti na medicinu te je osiguralo kupnju mikroskopa po cijeni do 50 dolara. (Washburn, 1939)

Prva nacionalna sveučilišna bolnica *The Hospital of the University of Pennsylvania*, 4. prosinca 1895. otvorila je William Pepper Laboratory of Clinical Medicine (Slika 17.). To je bio prvi laboratorij opremljen za rutinski rad i istraživanje u SAD-u u vlastitoj zgradi na četiri kata. Dijagnostički postupci bili su uglavnom kvalitativni (Rosenfeld, 2002).



Slika 17. William Pepper Laboratory - prvi laboratorij u SAD-u ¹⁴

Otto Folin 1908. godine predlaže da američke bolnice zaposle kliničke kemičare kako bi unaprijedili razlikovanje između fiziološkog i patološkog. On je upozorio da bolnice trebaju biti uključene u biokemijska istraživanja, ali da kliničari ne bi trebali direktno raditi posao

¹⁴ Izvor: http://dla.library.upenn.edu/dla/archives/detail.html?id=ARCHIVES_20040812004

kemičara. Ističe da sistemska biokemijska istraživanja zahtijevaju spretnost, snalažljivost i kritički sud obrazovanog kemičara (Rosenfeld, 2002).

4.8. DVADESETO STOLJEĆE

Dvadeseto stoljeće obilježava početak velikih promjena u bolnicama. Promjene su započele s liječnicima i zdravstvenim djelatnicima. Počele su se cijeliti vještine koje bi medicinski biokemičar mogao donijeti u laboratorij pa su početkom stoljeća mnoge bolnice reorganizirale svoje laboratorije tako da im je na čelu bio biokemičar. Nastale su i profesionalne organizacije koje su pomogle osigurati znanja i vještine laboratorijskih stručnjaka.

S početkom 20. st., klinička kemija zauzima vlastiti prostor na mozaiku medicinske prakse. Do tada Europa je prednjačila, a Amerika nije imala nikakvu ulogu u razvoju struke. Nakon toga preuzima vodstvo koje traje i danas. *American College of Surgeons* 1918. godine provodi prvu inspekciju bolnica. Inicijalna inspekcija bila je bazirana na standardima koji su se nalazili na jednoj stranici, a uključivali su zahtjev za adekvatno osoblje i opremu laboratorija. Iste godine donesen je i prvi poziv za certifikaciju tehnologa na nacionalnoj razini. John Kolmer je objavio *The Demand for and Training of Laboratory Technicians* koji je uključivao opis prvog službenog tečaja u medicinskoj tehnologiji. Također u toj godini, *Pennsylvania State Parliament* donio je zakon u kojem zahtijeva da sve bolnice i ustanove, pogotovo one koji primaju državne potpore, odgovarajuće opreme laboratorij, te da zapošljavaju laboratorijske tehničare na puno radno vrijeme (Berger, 1999b).

Nova otkrića o biokemijskoj prirodi krvi omogućila su transfuziju krvi između ljudi što je uvelike poboljšalo uspješnost operacija. Bečki patolog Karl Landsteiner (1868. – 1943.) otkrio je 1900. g. koncept ljudskih krvnih grupa, a sljedeće godine opisao danas dobro poznati ABO sustav. (Berger, 1999b)

Laboratorij nije oduvijek uživao važnost koju zaslužuje. Sljedeći opisi iz 1918. godine tipični su dokaz dugotrajnog pogrešnog shvaćanja uloge laboratorija: „Obično izvan bolnice, određeni prostor neprikladan za bilo koje druge svrhe dodjeljuje se laboratoriju. To je ono što se nalazi često u podrumima, u zabitim kutovima, u gospodarskim zgradama ili na krovu

građevina izgrađenih kao zakašnjela misao. Laboratorij je tmuran, neprikladne ventilacije, a opći uvjeti za rad znanstvenika kao da su u duhu depresije....“

U 20. stoljeću bolnički svijet osjetio je potrebu za laboratorijem. Improvizirane „dva sa dva“ sobe za urin, mračne, neventilirane prostorije morale su zamjeniti dobro konstruirani, dovoljno osvijetljeni, znanstveno opremljeni prostori. Bolnica je definirana kao hotel sa sobom za operacije kojoj je priključen laboratorij. U skladu s tim, nakon 1950. g. uz pomoć državnih fondova u SAD-u građevinski planovi predviđaju primjeren prostor i opremu potrebnu za rutinske službe i istraživački laboratorij (Rosenfeld, 2002).

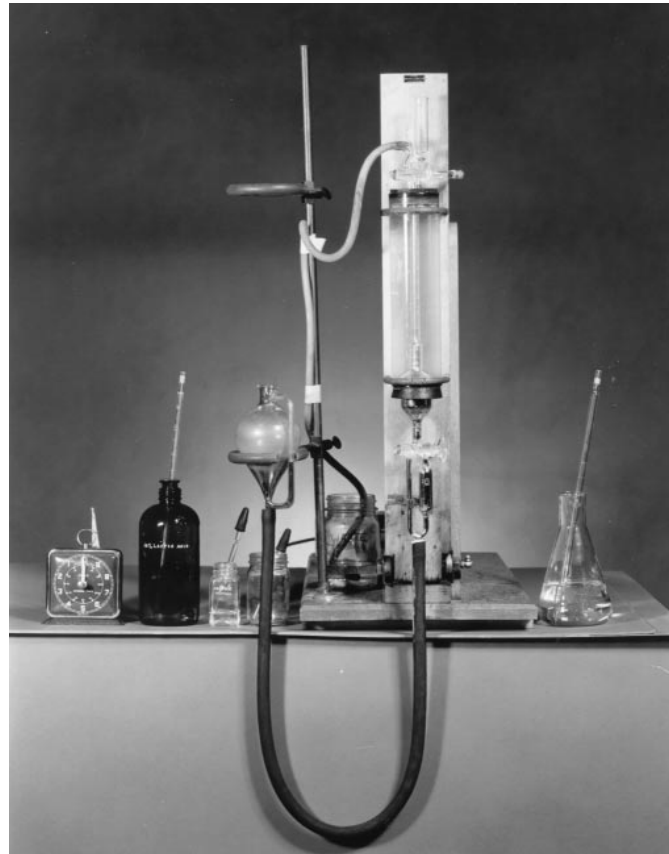
4.8.1. Dijagnostička enzimologija

Dijagnostički značaj medicinske biokemije porastao je poslije saznanja da mjerenje aktivnosti enzima u tjelesnim tekućinama doprinosi dijagnostici različitih oboljenja. Nakon mjerenja alfa-amilaze u urinu pacijenata s akutnim pankreatitisom, Wohlgemuth je 1908.g. prvi zaključio da se enzimi koji izlaze iz stanica mogu koristiti kao osjetljivi indikatori koji ukazuju na oštećenja stanica ili organa. Sljedećih 50 godina enzimi nisu šire primjenjivani u dijagnostičke svrhe s obzirom na to da nisu postojale osjetljive i pogodne metode za mjerenje aktivnosti enzima. Sve do 1950. godine osim alfa-amilaze određene su još samo aktivnosti kisele i alkalne fosfataze i lipaze. Unapređenju metodologije za određivanje aktivnosti enzima ili njihovih supstrata pridonio je tzv. „optički test“ koji je 1936. godine opisao Otto Warburg. Razvoj kliničke enzimologije unaprijedila je spoznaja da stanični enzimi uzlaze u krv uslijed oštećenih stanica. Ovakav nalaz prvi puta su 1954. godine potvrdili La Due, Wroblewski i Karmen na primjeru laktat-dehidrogenaze i Bruns na aldolazi. Saznanja o izoenzimima, organospecifičnosti enzima i serumskom enzimskom profilu omogućile su razvoj nove grane u medicinskoj biokemiji, dijagnostičke enzimologije (Majkić-Singh, 2006).

4.8.2. Začetnici moderne medicinske biokemije: Otto Folin i Donald Dexter Van Slyke

U ovom vremenskom razdoblju dominiraju dva imena: Otto Knut Folin (1867. – 1934.) i Donald Dexter van Slyke (1883. – 1971.). Njihova sustavna istraživanja o krvi i urinu postavljaju parametre u kliničkoj kemiji i razvijaju metode za analize. Uvode novi pristup metodologiji, analiziraju male volumene bioloških tekućina te određuju referentne inetrvale,

postavljaju korelacije u patološkim stanjima i prikazuju metaboličke putove u zdravih i u bolesnih osoba. Pokazali su kako biokemija i klinička kemija daju veliki doprinos u postavljanju liječničke dijagnoze i liječenju bolesti. Razvoj medicine i njezinu ovisnost o kliničkoj kemiji naglašava Van Slykeov volumetrijski uređaj za mjerenje plina napravljenog za određivanje koncentracije ugljičnog dioksida 1917. godine. To je bio prvi instrument dizajniran posebno za kliničko kemijski laboratorij (Slika 18.).



Slika 18. Van Slykov volumetrijski uređaj ¹⁵

Otto Folin (Slika 19.) je bio švedski profesor biološke kemije na Harwardu. Njegova istraživanja obuhvaćaju širok raspon tema o prehrani, osobito o metabolizmu proteina. U vremenskom razdoblju između 1904. i 1922. g. razvio je kvantitativne analitičke metode za nekoliko analita u urinu, uključujući ureju, amonijak, kreatinin, mokraćnu kiselinu, ukupni dušik, fosfor, kloride, ukupne sulfate i kiselost. Metode O. Folina omogućile su znatno

¹⁵ Izvor: Rosenfeld, 2002.

smanjenje volumena uzoraka za analizu. Prvi je primijenio fosfomolibdat za detekciju fenolskih spojeva i fosfovolframata za kvantitativno određivanje mokraćne kiseline. Ovakav pristup omogućio je primjenu molibdata za određivanje fosfora kao fosfomolibdata, a fosfovolframove kiseline za taloženje proteina. U to vrijeme fosfomolibdat je postao ključni reagens za određivanje šećera u krvi. Folin je također primijenio odbačenu Jaffé-ovu reakciju za određivanje kreatinina s alkalnim pikratom. Po njemu se u medicinskoj biokemiji prepoznaju Nesslerov reagens, Lloydov reagens te konzervansi za standarde kao što su benzojeva kiselina i formaldehid. Također je pokušao mjeriti amonijak u krvi i uveo metodu. Pokazao je učinak urikozuričnih lijekova u krvi i koncentraciju mokraćne kiseline kod gihta, predstavio kolorimetrijsku metodu za mjerenje epinefrina i objavio prve „referentne“ vrijednosti za mokraćnu kiselinu, neproteinske spojeve s dušikom te proteine u krvi. Uspostavio je odnos između mokraćne kiseline, neproteinskih dušikovih spojeva i ureje u krvi u renalnoj funkciji. Folinov Cicalteau reagens i danas se koristi za određivanje proteina (Berger, 1999; Rosenfeld, 1999).



Slika 19. Otto Folin u kemijskom laboratoriju McLean bolnice, Waverley MA, 1901¹⁶

¹⁶ Izvor: Meites, 1983

Istovremeno se u Europi radilo na razvijanju novih tehnika, tzv. mikrokemijske analize. Presudan doprinos u medicinskoj biokemiji imao je i Ivar Christian Bang (1869. – 1900.) koji je razvio mikroanalizu sastojaka krvi. Naime, analiziranje sastojaka krvi primjerice glukoze do tad je zahtjevalo 20 do 30 mL krvi. Godine 1913. Bang je objavio potpuno novi postupak za mikroanalizu komponenata krvi koji je omogućio kvantitativno određivanje klorida, glukoze, ukupnih dušikovih spojeva, neproteinskih dušikovih spojeva, hemoglobina, albumina i globulina. Za analiziranje svake od navedenih komponentni bilo je potrebno 100 do 150 mikrolitara krvi uzete iz jagodice prsta.

Donald D. Van Slyke (Slika 20.) rođen je u gradu Pikeu u državi New York. Po završetku doktorata, 1907. g. prihvatio je mjesto na *Rockefeller Institute for Medical Research* u New York Cityu. Tijekom sljedećih sedam godina razvio je interes za primjenu kemije u fiziologiji i medicini. To ga je dovelo do pozicije glavnog kemičara Instituta, na kojem je ostao do odlaska u mirovinu 1948. godine. Tada se preselio u Brookhaven National Laboratories gdje je nastavio s radom na radioizotopima i daljnje studije o aminokiselinama i metabolizmu.



Slika 20. Donald D. Van Slyke ¹⁷

¹⁷ Izvor: Rosenfeld, 2002

Van Slyke-ova znanstvena dostignuća obuhvaćaju velika područja istraživanja - proteini, aminokiseline, enzimi, kvantitativne kliničke metode, acidoze i acido-bazni status, plinske i elektrolitne ravnoteže, funkcija bubrega i nefritis. Gotovo 400 radova, knjiga i monografija te rekord od preko 100 radnika koje je obučavao i s kojima je radio, potvrđuju njegovu eminentnost. Van Slayke je zaslužan za izvrsnost i praktičnost medicini korisne metodologije. Van Slykov aparat blizak je većini radnika kliničkih laboratorija. Do nedavno, uređaj se koristio primarno za određivanje ukupnog ugljikovog dioksida u serumu, ali je također i dobro prilagođen za mjerenje kisika ili ugljikovog monoksida u punoj krvi. Ranija volumetrijska aparatura iz 1917. g., zamijenjena je točnijim manometrijskim modelom iz 1924. Zajedno s kolegama razvio je brojne plinske metode (Rosenfeld, 1999; Caraway, 1973).

4.9. ZLATNO DOBA KLINIČKE KEMIJE 1948. – 1960.

„Došlo je žalosno vrijeme kada se dijagnoze ne postavljaju na bolesničkim krevetima već na laboratorijskim stolovima – prodor biokemije u medicinu“ (Fatović-Ferenčić, Pećina, 2012)

Ovom dijelu povijesti pripadaju najvažnija tehnološka otkrića. Dvanaest godina (1948. – 1960.) bile su značajne po proizvodnji Vacutainer-epruveta, elektroforezi, radioimuno analizama i AutoAnalizatoru. Također se tokom ovog perioda pojavljuju nove organizacije, časopisi, programi i službe koje su postavile čvrste temelje za punopravni profesionalni status medicinske biokemije kao struke i znanstvene grane. Može se reći da je to bilo zlatno razdoblje.

Osim poi fotoelektričnim kolorimetrima, medicinsko biokemijski laboratoriji u 1948. g., nisu se puno razlikovali od onih iz 1925. Osnovna tehnologija i oprema u suštini su ostali nepromijenjeni. Bilo je puno staklene opreme: pipete, birete, epruvete; drveni stalci, filter papiri, cilindri, čaše i boce, kao i centrifuge, vodene kupelji, nape za odsisavanje organskih otapala nakon ekstrakcija, mikroskopi za analiziranje sedimenta urina, analitičke vage za vaganje reagensa i standardnih kemikalija, a ponegdje i pH metar. Najsloženiji aparat bio je volumetrijski uređaj za plin koji je konstruirao Van Slyke, s ručnim upravljanjem. Naglasak je bio na klasičnim kemijskim i biološkim tehnikama koje nisu zahtijevale instrumente.

Nakon Drugog svjetskog razvoja rata, često uz pomoć državnog financiranja za biomedicinska istraživanja, započela su opsežna istraživanja i zamjetan razvoj. Ljudsko zdravlje postalo je glavni nacionalni cilj, a klinička kemija tu je imala velik značaj. Razdoblje od 1948. do 1960. g. bilo je posebno važno zbog inovativne tehnologije koja stvara bolje metode za istraživanje mnogih bolesti koje u mnogo slučajeva vode boljem liječenju (Rosenfeld, 2000).

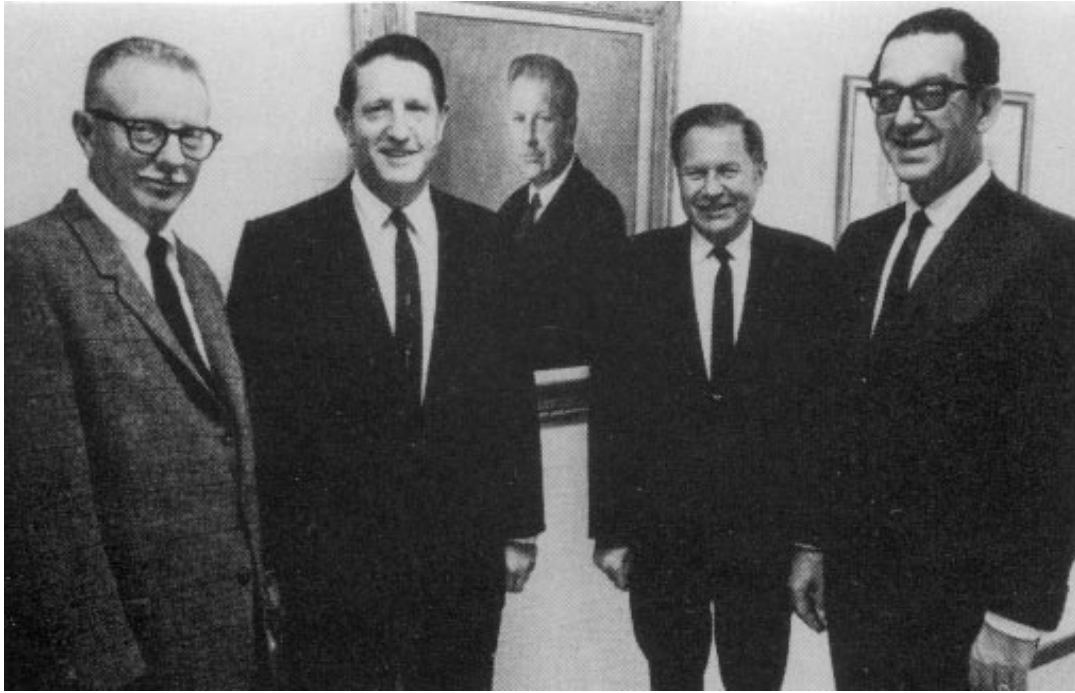
4.9.1. Osnivanje bio-znanstvenih laboratorija

Komercijalni laboratoriji za analizu bioloških uzoraka sredinom 20. stoljeća nisu bili rijetkost. Njihov broj se povećao nakon Prvog svjetskog rata, kao odgovor na sve veći broj analitičkih metoda. Pojavila se nova vrsta specijaliziranih referentnih laboratorija te je dodano novo ime u kliničko-kemijski vokabular.

Bio-znanstvene laboratorije (BSL) osnovali su tri vojna oficira i jedan mornarički koji su se upoznali nakon Drugog svjetskog rata na Kampu Detrick u Marylandu, dok su čekali vojni otpust i povratak u civilni život. Jedan je bio liječnik, ostala trojica su imali doktorate iz područja bakteriologije. Pomoću svoga znanja i financija odlučili su osnovati laboratorij. To su bili Richard Henry, Sam Berkman, Orville Golub i Milton Segalove (Slika 21.). Posao su započeli u veljači 1948. godine.

Prijelom koji je uveo takav laboratorij u medicinsku zajednicu jest ponovljiva metoda za kemijsko mjerenje protein-vezujućeg joda (PBI) u serumu i serumske koncentracije tiroksina za procjenu statusa štitne žlijezde. Jedina druga dotadašnja metoda bila je mjerenje bazalnog metabolizma, što je bio nespecifičan i visoko varijabilan postupak. PBI metodu razvio je Albert Chaney na Los Angeles County Hospital. Bio je to složen posao koji je zahtijevao posebnu opremu i precizne tehnike. Smanjenje žute boje reakcijske otopine bila je mjera koncentracije joda. Iako zahtjevna, metoda mjerenja PBI bila je pouzdana. Jednom kad je test postao dostupan medicinskoj zajednici Los Angelesa, proces se znatno ubrzao. Kada su Berker i sur. 1951. godine objavili metodu s alkalnim reagensom u prahu, BSL je ubrzo pokrenuo veliku proizvodnju.

Počeli su se javljati zahtjevi za ostale složene analize, nazvane referentnim ili specijaliziranim procedurama. Uskoro, BSL se upušta u proizvodnju svestranih specijalnih testova u kemiji, toksikologiji, mikrobiologiji i imunologiji te postaju dostupni u medicinskim krugovima diljem zemlje. BSL-ov doprinos praksi laboratorijske medicine pravo je otkriće, odnosno otvaranje mjesta u ekonomiji nacionalnog tržišta za specijalizirane testove (Rosenfeld, 2000).



Slika 21. Osnivači bio-znanstvenih laboratorija¹⁸

4.9.2. Američko društvo kliničkih kemičara

Tijekom prva dva desetljeća 20. stoljeća, poticaj za razvoj medicinske biokemije dale su nove metode temeljene na kolorimetriji i malim volumenima uzoraka. Profesionalni ugled biokemičara, kao i broj metoda u medicinsko biokemijskim laboratorijima, bio je u porastu. One su postale dovoljno složene da budu supstrat za novu vrstu specijalizacije - klinički kemičar ili doktor znanosti. Kasnih 1940-ih klinički kemičari povezani profesionalnim identitetom i nezasluženo slabim ugledom i statusom u medicinskoj zajednici, a iz poštovanja prema akademskim biokemičarima, klinički kemičari u New Yorku odlučili su osnovati profesionalno društvo. Ciljevi su bili razumijevanje i prepoznavanje struke u medicini, u vladajućim strukturama i u javnosti.

Devet doktora kliničkih kemičara iz glavnih privatnih i općih bolnica New Yorka, 15. prosinca 1948. sastali su se u Mt. Sinai bolnici kako bi organizirali profesionalno društvo kliničkih kemičara, prvenstveno na lokalnoj razini, a zatim na nacionalnoj. Ovo sastajanje

¹⁸ Izvor: Rosenfeld, 2000

urodilo je osnivanjem *American Association of Clinical Chemist* (AACC, primenovano 1976. u *American Association for Clinical Chemistry*).

Prepoznata su dva glavna problema - jedno je bila potreba za usavršavanjem kvalitete i točnosti kemijskih analiza, a drugo problem profesionalnog punopravnog statusa kemičara i medicinskih kolega u javnosti, budući da je grad odbio licencirati voditelja laboratorija ukoliko nije imao stupanj doktora medicine. Svjesni sličnih situacija, AACC je odlučilo udružiti bolničke kemičare iz cijelog SAD-a.

Do kraja 1954. g. bilo je 629 članova i 7 ovlaštenih odjeljenja u AACC - New York, Boston, Philadelphia, Southern California, Chicago, Washington-Baltimore-Richmond i srednje-zapadno odjeljenje. Godišnji sastanci održavali su se u suradnji sa *American Chemical Society* (ACS) do 1958. g.. Deseti godišnji sastanak održan je neovisno 4. - 6. rujna u gradu Iowi. Do tad broj članova popeo se na 748, a bankovni račun društva iznosio je 8752,19 dolara. Nova organizacija, 1949. g. izdala je časopis *The Clinical Chemist* koji je bio formiran prema regionalnim odjeljenjima, 1952. g. uspostavljen je etički kodeks, a od 1955. izdaje se kao dvomjesečnik. S publiciranjem 1949. g. započinje *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, kojeg slijedi *Clinica Chemia Acta* 1956. g., internacionalni časopis sa sjedištem u Nizozemskoj.

AACC je 1953. g. pokrenuo seriju *Standards* (kasnije preimenovan u *Selected Methodes of Clinical Chemistry*). Kako je proces vrednovanja postao prespor, serija je prekinut jedanaestim izdanjem 1986. godine. Druga serija izdanja započinje u 1958. godini, pod nazivom *Advances in Clinical Chemistry*, a cilj je bio pružiti prikaz odabranih, važnih dostignuća koja imaju korijene u srodnim temeljnim disciplinama, a imaju utjecaj na razvoj medicinske znanosti. Članke su pisali eksperti za ta područja (Kricka i Savory, 2011; Rosenfeld, 2000).

4.9.3. Inozemna društva i Međunarodna federacija (savez)

Čak i prije organiziranja Američkog društva, u Europi su se počela formirati profesionalna društva. Prvo nacionalno društvo kliničke kemije je bilo *Société Française de Biologie Clinique*, osnovano 1942. godine. *The Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie* i *Finnish Society of Clinical Chemistry* osnovani su 1947. godine i bili su prva društva u čijem se nazivu nalazi „klinička kemija“. U Velikoj Britaniji osnovano je 1953. godine *Association*

of Clinical Biochemists, a švedsko društvo *Swedish Society for Clinical Chemistry* formirano je pak 1954. godine.

U isto vrijeme kada se kao odgovor na profesionalne potrebe počelo formirati američko društvo, slična situacija se odvija i u Velikoj Britaniji. Do 1951. g. bilo je jasno da je potrebno profesionalno tijelo koje će osigurati forum za raspravu u disciplini koja se vrlo brzo razvija. Regionalne grupe kliničkih biokemičara odlučile su formirati nacionalno udruženje koje će se baviti isključivo njihovom specijalnošću. Osnivačka skupština održana je u Londonu u *Hammersmith Hospital*, 28. ožujka 1953. U registar se upisalo 75 članova. Do kraja 1995. broj članova popeo se na 2294 (Rosenfeld, 2000).

Association of Clinical Biochemists svoje utemeljenje duguje Earlu J. Kingu (1901. – 1962.), profesoru kemijske patologije s postdiplomske medicinske škole, Sveučilišta u Londonu. Ugledni i vrlo poštovani znanstvenik bio je poznat po svom radu na području kliničke enzimologije i razvoju kolorimetrijskih metoda. Predložio 1952. g. da se novoformirana društva kliničke kemije pridruže međunarodnoj organizaciji pod pokroviteljstvom *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC). To je postignuto 24. srpnja 1952. na II. međunarodnom kongresu biokemije u Parizu. Ime je promijenjeno u *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) 1955. godine. Prvotni cilj saveza bio je unaprijediti znanje i promicati interese biokemije u kliničkom pogledu. IFCC se 1967. g. službeno odvojio od IUPAC-a.

Do 1998. g. postoje društva u 75 zemalja na 6 kontinenata uz 41 korporativnu aktivnu grupu u kliničkoj kemiji (Rosenfeld, 2000).

4.9.4. Provjera stručnosti

Nedugo nakon završetka Drugog svjetskog rata voditelje kliničkih laboratorija u Philadelphiji uznemirila je učestalost različitih rezultata kada bi se isti uzorak krvi analizirao u dva različita laboratorija. Potaknuti ovim odstupanjima napravljena su istraživanja o točnosti najčešćih kemijskih mjerenja diljem države. Rezultate su 1947. g objavili Belk i Suderman. To je 1949. godine uvelo u istraživanja i druge države u mjesečne provjere. Ampule seruma ili otopine slale su se u kliničke laboratorije diljem zemlje i inozemstva. Statističkom analizom naknadno se izvijestilo o radu laboratorija. Ishod ovakvih testiranja bilo je ukupno poboljšanje kvalitete rada laboratorija koji su bili pretplaćeni na ovu uslugu (Rosenfeld, 2000).

4.10. LABORATORIJSKA OPREMA U KLINIČKOJ BIOKEMIJI: POVIJESNI PREGLED

Kroz stoljeća se zapaža veliki napredak u polju biokemijske analize tjelesnih tekućina. Takav klinički napredak bio je usko povezan i ograničen analitičkim mogućnostima koje su pak ovisile o tehnološkom napretku u znanstvenoj instrumentaciji. Rana laboratorijska instrumentacija uključena u ispitivanje urina i krvi bila je vrlo rudimentarna. U upotrebi su bili jednostavni kućni predmeti, pa je tako npr. Richard Bright (1789. – 1858.) koristio plamen svijeće za zagrijavanje urina u žlici pri sumnji na bubrežno oboljenje.

Laurent Lavoisier (1743. – 1794.) prepoznao je potrebu za većom točnošću u kvantitativnim mjerenjima. Konstantno je napominjao proizvođače da poboljšaju postojeće aparature (Slika 22.).



Slika 22. Lavoisierova laboratorijska oprema (1780.)

U 18. st. predstavljeni su graduirani mjerni cilindri koje je 1784. godine Louis Bernard Guyton de Morveau (1737. – 1816.) prvi puta upotrijebio za volumetrijsku analizu. Točnost i jednostavnost volumetrijskih analiza uvelike je povećao François Descroizilles (1751. – 1825.) koji je 1825. godine predstavio birete. Birete su imale rupu za zrak preko koje se prstima moglo regulirati istjecanje tekućine (Bolodeoku i sur., 1997).

Daljnijim razvojem u ranom 19. stoljeću William Hyde Wollaston 1802. godine predstavio je prvi refraktometar. Međutim uređaj nije došao u kliničku uporabu do 1900. godine kada ga je Strubell upotrijebio za mjerenje serumskih proteina. Jean Baptiste Biot (1774. – 1862.) uveo je polaroskop 1840. g., instrument za mjerenje sposobnosti optički aktivnih tvari da zakreću polarizirano svjetlo. Koristio je polaroskop za određivanje prirode i količine šećera u otopini. Desetak godina kasnije 1849. Johann Florian Heller (1813. – 1871.) uvodi urinometar za određivanje specifične težine urina. Tada je urinometar konačno potvrdio predviđanje staro četiri stoljeća za koju je zaslužan kardinal Nicolaus Cusanus (1401. – 1464.) da će težina urina možda biti od kliničke važnosti.

Uvođenje instrumenata u medicinsko-biokemijski laboratorij razmatra se u razdoblju koje traje od 1890. do 1960. godine. Osim mikroskopa, bitna oprema uključuje analitičku vagu, centrifugu, kolorimetrar i spektrofotometar, plameni fotometar, instrumente za plinske analize, pH elektroforezu, kromatografiju, radioizotope te automatizacijske sustave (Caraway, 1981).

Najbitnija primjena mikroskopa u medicinskoj biokemiji bila je ispitivanje mokraćnog sedimenta i kristala, a najznačajnija knjiga na ovom polju *Golding Bird's Urinary Deposits: Their Diagnosis, Pathology, and Therapeutical Indications* objavljena 1845. godine. Knjiga se temeljila na kratkim tečajevima koji su se održali na Guy's Hospital u Londonu 1843. g. (Caraway, 1981).

U prvoj polovici 20. stoljeća događa se eksplozija u napredovanju analitičkih tehnika. Prvu knjigu o laboratorijskoj medicini, *A Manual of Clinic Diagnosis*, napisao je i objavio James C. Todd 1908. godine. U ovom razdoblju razvijeno je mnogo dijagnostički korisnih testova: fosfor (1920.), magnezij (1921.), elektroforeza proteina (1926.), sedimentacija eritrocita (1929.), alkalna fosfataza (1930.), lipaza (1932.), amilaza i kisela fosfataza (1938.), amonijak (1939.), kreatinin-fosfokinaza (1954.), laktat-dehidrogenaza (1955.) i alanin-aminotransferaza (1956.). Testovi su bili korisni, ali su zahtjevali intenzivan rad i ručne metode vještih tehnologa. Stoga su se prvenstveno primjenjivali u pacijenata nakon temeljitog liječničkog ispitivanja (Copeland, 2007).

4.10.1. Test trake

Krajem 18. stoljeća, doktori su postali zainteresiraniji za kemiju i posvetili su pažnju analizi urina. Prvu test traku 1850. godine razvio je pariški kemičar Jules Maumené (1818. – 1898.) kada je impregnirao traku merino vunom s kositrenim kloridom. Primjenom kapi urina i zagrijavanjem svijećom ako je urin sadržavao šećer, traka bi odmah pocrnila. Bilo je potrebno sljedećih 70 godina kada je bečki kemičar Fritz Feigl (1891. – 1971.) objavio svoju tehniku „spot analiza“. Kemijska analiza urina značajno se promijenila nakon Drugog svjetskog rata otkrićem novih analitičkih tehnika kao što su elektroforeza i plamena fotometrija. Značajan doprinos analizi urina dalo je otkriće metoda suhe kemije u pedesetim godinama. Temeljeno na klasičnoj metodi Fehling/Benedict, američka kompanija Ames razvila je tablet test koji je pod imenom *Clinitest* lansiran na tržište. Taj test za reducirajuće šećere uskoro je popraćen ostalim testovima. Predstavljanje test traka koji se očitavaju usporedbom sa skalom boja omogućilo je polukvantitativno određivanje (Slika 23.).



Slika 23. Test trake za analizu urina

Test trake se prvi puta industrijski napravljene i komercijalno upotrebljene pedesetih godina 20. stoljeća. Kompanija *Boehringer Mannheim*, današnji lider na svjetskom tržištu pod imenom *Roche* predstavila je prvi *Combur-Test®* 1964. godine. Nove impregnacijske tehnike, stabilnije boje indikatora i poboljšanje u gradaciji boja doprinjeli su korištenje test traka kao važnog dijagnostički alata u kliničkoj i općoj praksi. Vremenom, vizualno ručno očitavanje

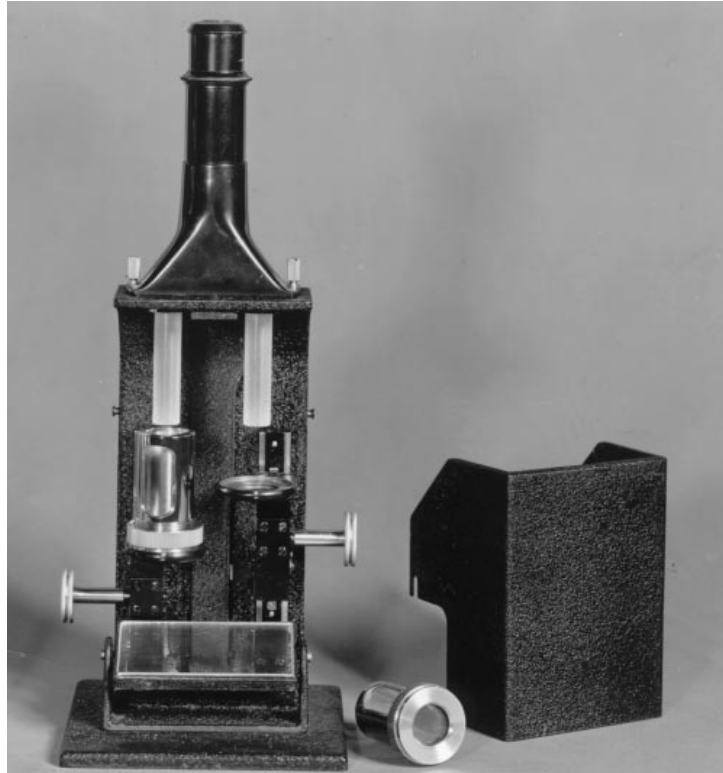
zamjenili su reflektometrijski analizatori. Kao i u drugim područjima medicinske biokemije, tako i u području analize urina automatizacija je zamijenila dotadašnje promatranje urina (Herren i Wiedlders, 2007).

4.10.2. Hipodermalne igle - Vacutainer epruvete

Godine 1845. Francis Rynd (1803. – 1861.) izumio je specijalan instrument s kojim je dao subkutanu injekciju morfija za ublažavanje boli. Ovaj uređaj koji je prethodnik moderne šprice nije imao klip, a tekućina koja je bila unutar nje je ušla u tkiva silom ili samo gravitacijom. Charles Gabriel Pravaz (1791. – 1853.) modificirao je špicu 1853. g. tako da je uveo klip što je omogućilo primjenu lijekova intravenskim putem. Nakon nekoliko godina šprice su postale široko popularne i mogle su se upotrebljavati za prikupljanje krvi. Iako hipodermalne igle nisu bile primarna laboratorijska oprema, lakoća kojom se mogla prikupljati krv utjecala je na daljnji razvoj analitičkih tehnika i opreme (Bolodeoku i sur., 1997).

4.10.3. Spektroanaliza

Početak 1840-ih godina Robert Wilhelm Bunsen (1811. – 1899.) predstavlja spektroanalizu i koncept koeficijenta ekstinkcije. Spektroanalize odmah su prilagođene za biokemijska i kliničko-kemijska ispitivanja (npr. hemoglobin i derivati hemoglobina). Tako je razvijen spektroskop koji se do 1860. godine se upotrebljavao za detekciju različitih pigmenata u krvi. Uvođenje kolorimetrije označio je veliki obrat u analitičkom razvoju. Prvi kolorimetar (Slika 24.) dizajnirao je Jules Dubosq (1817. – 1886.) u Francuskoj. Postao je dostupan 1854. godine, a inicijalno je korišten za mjerenje karamela u sirupu. Model je korišten kao takav sljedećih 100 godina.



Slika 24. Duboscq-ov kolorimetar (cca 1950.godina)¹⁹

4.10.4. Centrifuga

Centrifuga, uređaj koji koristi centrifugalnu silu za odvajanje čestica iz otopine ili razdvajanje pomješane otopine različite specifične težine, jedan od esencijalnih dijelova opreme koji se nalazi u laboratorijima. Izumljena je 1883. godine, za što je zaslužan švedski inženjer Carl Gustav Patrik de Laval (1845. – 1913.). On je primjenio instrument u obiranju vrhnja.

Vrijednost centrifuge u kliničkom laboratoriju opisao je Stenbeck 1892. godine u Stockholmu istaknuvši ju kao novu metodu za promatranje mokraćnog sedimenta u proučavanju bakterija, kristala i ostalih elemenata. Predstavljeni model bio je ručni, ali spominje i korištenje motornog pogona. Ivar Bang, opisao je značaj centrifuge u razdvajanju precipitata bakrenog tiocijanata korištenog u titrimetrijskoj metodi za glukozu u krvi (Caraway, 1981). Od tad je predstavljeno nekoliko verzija s obzirom na brzinu centrifugiranja - spore, srednje brzine, brze i ultracentrifuge.

¹⁹ Izvor: Rosenfeld, 2002

Nekadašnje centrifuge na kontrolnim pločama su imale najčešće analogne tipke za brzinu i za vrijeme centrifugiranja. Napredak tehnologije, posebno u posljednjih 20-ak godina usavršio je današnje centrifuge koje su opremljene kontrolnim panelima s velikim mogućnostima, pa čak i s mogućnošću kontrole rada centrifuge preko računala (Bolodeoku i sur, 1997; Caraway, 1981).

4.10.5. Bunsenov plamenik

Još jedan uređaj koji valja istaknuti, široko upotrebljavan u laboratoriju kao izvor topline, bio je Bunsenov plamenik. Izvorno ga je dizajnirao britanski kemičar i liječnik Michael Faraday (1791. – 1867.). Međutim, Robert Bunsen adaptirao je uređaj kao plinski plamenik 1855. godine koji je postao sveprisutan. Stoga je i nazvan po njemu (Bolodeoku i sur., 1997).

4.10.6. pH krvi

Određivanje pH krvi vrlo je važno u evaluaciji acido-baznog statusa. Van Slyke je favorizirao kolorimetrijsku metodu. Hober je primjenio vodikovu elektrodu za mjerenje pH (zapravo koncentracije hidroksil iona) u krvi 1900. godine. Dvanaest godina poslije Hasselbalch i Lundsgaard u Kopenhagenu, te Michaelis i Davidoff u Berlinu izvijestili su da pH krvi na temperaturi od 37.5 °C iznosi 7.35, a na temperaturi od 18°C 7.56. Termin koji se upotrebljavao bio je „reakcija krvi“ umjesto pH.

Razvoj staklene elektrode 1929. godine uvelike pojednostavljuje pH mjerenje. Za njihov izum zaslužni su MacInnes i Dole, a one se smatraju pretečom ion-selektivnih elektroda koje se u velikoj mjeri primjenjuju danas (Caraway, 1981).

4.10.7. Elektroforeza - pomicanje granica

S porastom svijesti o važnosti proteina kao strukturnih komponenti protoplazmi, enzima i hormona, u transportu kisika i ugljikovog dioksida, u zgrušavanju krvi, izolaciji, identifikaciji i karakterizaciji, raste i broj novih fizičkih metoda njihovog odjeljivanja. Glavna među njima bila je elektroforeza.

Načelo elektroforeze (grč. riječ *electrophorēsis* - nošen strujom) poznato je oko 200 godina. Elektroforeza je metoda razdvajanja u kojoj se nabijene čestice u otopini elektrolita pod djelovanjem električnog polja pokreću različitim brzinama prema jednoj od elektroda. U 1809. g., samo 10 godina nakon što je Alessandro Volta (1745. – 1827.) napravio prvi galvanski članak, ruski fizičar, Ferdinand Friedrich Reuss (1778. – 1852.), izvijestio je da kada struja prođe kroz staklenu cijev koja sadrži vodu i glinu, koloidne čestice gline pomiču se prema pozitivnoj elektrodi, a voda prema negativnoj elektrodi. Prvu elektroforetsku metodu, korištenu za proučavanje proteina, koja je imala pokretnu granicu, osmislio je 1937. g. Arne Wilhelm Tiselius (1902. – 1971.). Oprema je bila pravokutnog presjeka kvarcne U-cijevi. Njegovo odvajanje konjskog seruma u četiri različite zone, albumin i tri komponente globulina koje je nazvao alfa, beta i gama, pokazale su vrijednost instrumenta kao korisnog dijagnostičkog alata (Bolodeoku i sur, 1997).

4.10.8. Kromatografija

Kromatografija je razvijena na samom početku dvadesetog stoljeća kada je ruski znanstvenik Mikhail Tsvett bio u potrazi za načinom da odvoji pigmente iz zelenog lišća. Koristio je stakleni stupac koji je sadržavao kalcijev karbonat. Zanimljivo je da Mihailovo prezime "Tsvet" na ruskom jeziku znači *boja*, tako da je moguće da je kromatografiju nazvao po svom prezimenu. Britanci A. J. P. Martin i R. L. M. Synge 1941. g. objavili su svoj rad o protustrujnoj tekuće-tekuće ekstrakciji. Metodu primjenjuju u ispitivanju aminokiselinskog sastava vune, a 1952. godine dobili su Nobelovu nagradu za kemiju. U svom radu predložili su plin kao moguću mobilnu fazu umjesto tekuće. Ideja je mirovala skoro 10 godina dok ju sam Martin nije oživio. On i A. T. James objavili su prvu studiju na plinsko-tekućinskoj kromatografiji 1951-1952.godine. U izvornoj tehnici, uzorak se dodavao pipetom, a eluirane frakcije su određene titracijom. Od tada, razvoj GLC-a ima eksponencijalan rast (Ettre, 2007; Caraway, 1981).

4.10.9. Automatizacija i kompjutorizacija u laboratoriju

Godine 1957. predstavljen je AutoAnalyzer, prvi uređaj dizajniran za specifične analitičke potrebe u kliničkom laboratoriju. Leonard T. Skeggs mlađi, nakon što je doktorirao biokemiju, počeo je tražiti način da smanji nepreciznost i ponavljanje koraka u ručnoj analizi.

On je želio napraviti stroj koji će izraditi analizu krvi „od početka do kraja“. Skeggs je radio u svom podrumu. Prikupljao je module sa specifičnim zadacima koji su predstavljali kontinuirani tijek analize. Tijekom ranih pedesetih godina njegov prototip odbacile su 4 tvrtke. U siječnju 1954. godine model je predstavljen tvrtki Technicon Corporation, Tarrytown u New Yorku koja je vidjela mogućnosti i budućnost za ovaj potpuno novi koncept i komercijalnu proizvodnju strojeva. Na tržištu je predstavljen 1957. godine, a prvi model prodan za 3500 dolara (Slika 25.).



Slika 25. Jednokanalni AutoAnalyzer²⁰

Nakon više modifikacija, 1964. godine je predstavljen analizator na principu kontinuiranog protoka poznat pod nazivom „višekanalni automatski sekvencijski analizator“.

Automatizacija je donijela revoluciju za laboratorijske usluge, pod čime se podrazumijeva povećanje broja testova, te znatno skraćivanje vremena potrebnog za obavljanje tih testova (Rosenfeld, 2000). Lakoća i ekonomičnost priređivanja višestrukih analiza predstavili su po prvi puta u laboratorijskoj medicini mogućnost screeninga zdrave populacije.

Računalo zauzima jedno od najvažnijih segmenata opreme u kliničkom laboratoriju. Primjena računala u zdravstvenoj skrbi bila je u početku bila ograničena kapacitetom i fleksibilnošću hardware-a, a i njegove visoke cijene. Sredinom stoljeća računala nisu bila u mogućnosti direktno (on-line) komunicirati s laboratorijskim aparatima ili osobljem. Tijekom

²⁰ Izvor : Rosenfeld, 2000

sedamdesetih godina, razvijeni su vrlo učinkoviti interaktivni sustavi koji su u mogućnosti komunicirati sa laboratorijskim osobljem i aparaturom. To je razdoblje računalne revolucije koje je nastupilo dolaskom kompjutorskih čipova. Analitička mehanizacija u laboratorijima bila je ograničena, stoga nastaje mikroprocesna tehnologija kao rješenje zbog svoje minijaturene veličine, velike brzine i relativno niske cijene. To je dovelo do nove generacije potpuno automatiziranih instrumenata koji mogu komunicirati s analitičarem preko tipkovnice i displaya (Slika 26.).



Slika 26. Prvi integrirani analizator za kliničke laboratorije²¹

U suvremenom laboratoriju, individualni kompjutorski terminali su umreženi u potpuni laboratorijski informatički sustav. Također u mnogim ustanovama postoji i bolnički informacijski sustav gdje računalo objedinjuje informacije i podatke iz cijele bolnice (Bolodeoku, 1997).

²¹ Izvor: http://continuuminnovation.com/cas_work/siemens/

4.10.10. Molekularna dijagnostika

Pojam molekularne bolesti uveli su 1849. godine Pauling i suradnici. Otkrili su da promjena jedne aminokiseline u β -globinskom lancu dovodi do anemije srpastih stanica. Velika revolucija u ovom polju dogodila se puno godina kasnije, a glavna otkrića na polju molekularne dijagnostike prikazana su u Tablici 1. (Ansorge i sur, 2005).

Tablica 1. Vremenska crta otkrića na polju molekularne dijagnostike

GODINA	OTKRIĆE
1949.	Karakterizacija srpaste anemije kao molekularne bolesti
1953.	Otkriće dvostruke uzvojnice DNA
1958.	Izolacija DNA polimeraza
1960.	Prve hibridizacijske tehnike
1969.	In situ hibridizacija
1970.	Otkriće restrikcijskih enzima i reverzne transkriptaze
1975.	Southern blott
1977.	DNA sekvenciranje
1983.	Prva sinteza oligonukleotida
1985.	RFLP
1985.	Izum PCR (Slika 26.)
1986.	Razvoj fluorescentne in situ hibridizacije (FISH)
1988.	Otkriće termostabilne DNA polimeraze
1992.	Koncept real time PCR-a
1993.	Otkriće strukture specifičnih endonukleaza
1996.	Primjena DNA mikročipova
2001.	Prvi nacrt ljudskog genoma
2001.	Primjena proteinskog profiliranja u ljudske bolesti



Slika 26. PCR uređaj²²

²² Izvor: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pcr_machine.jpg

4.11. TRADICIJA MEDICINSKE BIOKEMIJE U HRVATSKOJ

Opsežno kemijsko znanje farmaceuta, vrlo je rano prepoznato u rješavanju problema analiza tjelesnih tekućina. Godine 1919. profesor Gustav Janeček (1848. – 1929.) objavljuje knjigu *Uputa u istraživanje mokraće*, a 1930. profesor Miloš Mladenović knjigu *Kemijska analiza mokraće*, obje namijenjene kemičarima i liječnicima u kliničkim laboratorijima. Posebnu pozornost izazvala je knjiga Stanka Miholića, *Analiza mokraće za apotekare* izdana 1936. godine koja je sadržavala opise poznatih i provjerenih metoda analiza mokraće. Naime, knjiga dobiva i službeni karakter jer je te godine Ministarstvo socijalne politike i narodnog zdravlja izdalo novu uredbu o medicinsko-kemijskim laboratorijima u ljekarnama. Tako se medicinska biokemija počela razvijati kao dio farmacije (Kujundžić, 2012).

Medicinska biokemija u Hrvatskoj kao profesionalna struka postoji od 1937. g. Tada je profesor Ibrahim Ruždić (1906. – 1990.), jedan od utemeljitelja kliničke kemije u nas, osnovao prvi medicinsko-biokemijski laboratorij kao neovisnu jedinicu u Kliničkoj bolnici Merkur u Zagrebu. On je uočio da će klinička kemija predstavljati nezamjenjiv doprinos dijagnostici i praćenju tijeka bolesti. U prvom laboratoriju započinje s jednostavnim analizama. 1937. godine postaje samostalni odjel s četiri funkcionalno povezane radne sobe. Zbog vrlo skupe opreme, omogućeno je izvođenje i složenijih analiza, i to zahvaljujući Pulfrichovom fotometru, mikro-Kjeldahlovu aparatu, analitičkoj vagi i mikroskopu.

Međutim, susreće se s velikim problemom, nedostatkom stručnog osoblja. Stoga 1945. godine započinje s tromjesečnim i šestomjesečnim tečajevima za laborante. 1949. godine, tečaj traje godinu dana, a 1952. godine profesor Ruždić osniva školu za zdravstvene tehničare laboratorijskog smjera, koja od tada kontinuirano radi. Osim toga prof Ruždić potiče osnivanje škola u Rijeci, Splitu, Osijeku, Varaždinu i Virovitici.

Edukacija medicinskih biokemičara odvijala se na studiju farmacije u sklopu kolegija klinička kemija, koja započinje 1946. godine zaslugom profesorice Marijane Fišer Herman. Radi povezivanja i podupiranja svih djelatnosti, stručnjaci se udružuju u stručna i znanstvena društva. Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju (HDMB) odvojilo se i osamostalilo iz Farmaceutskog 1953. godine kao dobrovoljno i neprofitno strukovno udruženje medicinskih biokemičara.

Do reorganizacije fakulteta dolazi 1962. godine. Preimenovan je u Farmaceutsko-biokemijski fakultet i osnovana su tri dodiplomska programa: farmacija, prehrana i medicinska biokemija. Od 1963. godine studij traje osam semestara, a 1986. godine je na Farmaceutsko-

biokemijskom fakultetu medicinska biokemija postala zasebni studij. Novi i znatno poboljšani program studija uključio je nove obvezatne predmete (molekularna i stanična biologija, imunokemija i imunologija, molekularna medicina, laboratorijska organizacija i upravljanje) i uveo izborne predmete. Novost takvog programa bilo je stjecanje praktičnih znanja aktivnim sudjelovanjem studenata u kliničkim laboratorijima kliničkih bolnica. 2002. godine studij medicinske biokemije produžuje se za jedan semestar te traje devet semestara, a po završetku studija stječe se naziv diplomiranog inženjera medicinske biokemije. Slijedeći reformu visokog obrazovanja u Republici Hrvatskoj 2005. godine studij medicinske biokemije na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu postaje petogodišnji studij, temeljen na Bolonjskoj deklaraciji. Program je usklađen s preporukama koje su prihvaćene u većini zemalja Europe i predviđa jedan petogodišnji ciklus obrazovanja koji završava titulom magistra medicinske biokemije (Borčić, 2011; <http://www.hdmblm.hr/hr/o-nama/tko-smo-mi>).

4.11.1. Zaklada „Prof. Marijana Fišer Herman“

Kako bi se očuvala uspomena na profesoricu Marijanu Fišer Herman, koja je svojim radom doprinjela utemeljenju i razvitku medicinske biokemije kao struke, znanosti i studija, Hrvatsko društvo medicinskih biokemičara utemeljilo je zakladu „Prof. Marijana Fišer Herman“ sa sjedištem u Zagrebu. Svrha zaklade je poticanje znanstvenoga i stručnog rada te nagrađivanje studenata i završenih mladih medicinskih biokemičara koji su svojim radom doprinjeli razvitku i afirmaciji medicinske biokemije. Zaklada ostvaruje novčana sredstva na temelju osobnih priloga, priloga ustanova, donacija farmaceutske industrije i proizvođača laboratorijske opreme i pribora. (Juretić i sur., 1993)

5. ZAKLJUČCI

S gledišta medicinskog biokemičara bolesnici su crne kutije, kompleksni metabolički strojevi koji reakcijom molekula proizvode energiju i povećavaju entropiju. Cjelokupno povijesno vrijeme, napor i novac utrošeni su u nastojanju da se otkrije što se događa unutar te kutije. Klinička dijagnoza u suštini je interpretacija relevantnih podataka prikupljenih iz kutije. Diljem svijeta, stotine tisuća uzoraka tjelesnih tekućina analizirane su svakog dana, a prikupljeni podatci su interpretirani u procjeni zdravlja pacijenata. Drugim riječima, podatci dobiveni iz analiziranih uzoraka upotrebljavaju se u procjeni statusa živog organizma iz kojeg dolazi. Ta pretpostavka je kamen temeljac na kojem je bazirana medicinska kemija.

Povijest medicinske biokemije neodvojiva je i srasla s povješću medicine i farmacije te fizike i kemije. Medicinska biokemija ima svoje korijene u antičkoj medicini, ali razvija se paralelno s napretkom ostalih grana znanosti. Osnovni elementi antičkog poimanja fiziološke i patološke kemije bile su četiri tjelesne tekućine i četiri elementa. Humoralna teorija opovrgnuta je u vrijeme prosvjetiteljstva u 18. stoljeću kao rezultat razvoja medicinskog obrazovanja i bolnica. Napredak znanstvenih spoznaja u Europi i Americi doveo je do osnivanja laboratorija i potrebe za njegovim voditeljem koji će upravljati poslovanjem i stručno-znanstvenim razvojem.

Do prije pedesetak godina program laboratorijskih ispitivanja bio je ograničen, automatizacija je bila u ranom stupnju razvoja, a laboratorijska informatika bila je samo ideja. Struktura DNA i tehnike imunotestova bila su tek otkrivena. Kontrola kvalitete, bez koje je današnji laboratorij nezamisliv, bila je nepoznanica. Svake godine broj analiza u medicinsko-biokemijskim laboratorijima povećava se u prosjeku više od 20% što pokazuje dijagnostički značaj. S brojem od gotovo 1000 pretraga, laboratorijska se medicina može pohvaliti kvantitetom i kvalitetom koja nije zapažena u drugim granama medicine. Medicinski biokemičar ima ulogu u multidisciplinarnom timu zdravstvenih radnika koji su odgovorni za dijagnozu i liječenje pacijenata.

Način na koji je organizirana zdravstvena zaštita stalno se mijenja. Medicinsko-biokemijski laboratoriji, kao neizostavan dio zdravstvenog sustava, ne mogu se isključiti iz tog procesa. Činjenica da se rezultati laboratorijskih pretraga koriste u više od 70% kliničkih odluka stavlja

laboratorij u jedinstven položaj. Otkrivanje strukture ljudskog genoma dovelo je do razumjevanja temelja ljudskih bolesti. Iz tih znanja razvila se nova grana, molekularna dijagnostika, ali će proći puno vremena kako bi se takva dijagnostika uvela u opsežnu kliničku praksu. Nije moguće predvidjeti kako će medicinska biokemija i laboratorijska medicina izgledati u sljedećih šezdeset godina. Međutim, sa mobilnim tehnologijama postoje izvanredne mogućnosti čije će inovacije donijeti budućnost medicinske biokemije rasute izvan prostora bolnica. Očekuje se kako će sljedeća faza laboratorijske medicine biti upravo bežična dijagnostika.

6. LITERATURA

1. A typical chemical laboratory of the 18th century.
http://en.wikipedia.org/wiki/Timeline_of_chemistry, pristupljeno 10.10.2013.
2. Alchemy.<http://www.alchemywebsite.com>, pristupljeno 30.9.2013.
3. Antika. <http://hr.wikipedia.org/wiki/Antika>, pristupljeno: 28. 5. 2013.
4. Ansorge W, Patrinos G P. Molecular Diagnostics: Past, Present, and Future. Elsevier, Inc.,2005, str 2.
5. Armstrong J A. Urinalysis in Western culture: A brief history. *Kidney International*, 2007,71;384–387.
6. Astrup P. Clinical Chemistry-A Changing Discipline. *Clinical Chemistry*, 1975,21;1709-1710.
7. Beastall G H, Watson I D. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: an appreciation. *Clin Chem Lab Med*, 2013,51;3-4.
8. Berger D. A brief of medical diagnosis and the birth of the clinical laboratory. Part 1:Ancient times through the 19th century. *Med Lab Obs*, 1999 Jul,31;1-6.
9. Berger D. A brief of medical diagnosis and the birth of the clinical laboratory. Part 2: Laboratory science and professional certification in the 20th century. *Med Lab Obs*, 1999 Aug;1-2.
10. Bloodletting.
<http://www.sciencemuseum.org.uk/broughttolife/techniques/bloodletting.aspx>, pristupljeno 30.9.2013.
11. Bolodeoku J, Donaldson D. Urinalysis in clinical diagnosis. *J Clin Path*, 1996,49;623-626.
12. Bolodekou J, Donaldson D, Olukoga A O. Laboratory instrumentation in clinical biochemistry:an historical perspective. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 1997,90;570-577.
13. Borčić O. 60 godina Medicinske biokemije u Hrvatskoj. *Zagreb, Obljetnice, Farmaceutski glasnik* 67,2011;203-205.
14. Canton A D, Castellano M. Theory of urine formation and uroscopic diagnosis in the Medical School of Salerno. *Kidney International*, 1988,34;273-275.
15. Caraway W T. Major Developments in Clinical Chemical Instrumentation. *Clinical Chemistry*, 1981,19;491-496

16. Caraway W T. The Scientific Development of Clinical Chemistry to 1948. *Clinical Chemistry*,1973,19/4;373-383.
17. Coley N G. Medical Chemists and the Origins of Clinical Chemistry in Britain (circa 1750-1850). *Clinica Chemistry*, 2001,50;961-964.
18. Copeland D D. Polishing the Crystal Ball:Emerging Trends in Contemporary Clinical Laboratory Medicine. *NC Med J*,2007,68/2;102-103.
19. Čvorišćec D, Čepelak I. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 3-5.
20. Ettre L S. M.S. Tswett and the Invention of Chromatography. *LC-GC Europe*, 2003, Sep;2-7.
21. Garcia-Webb P. Urinalysis in the 10th Century. *Clinical Chemistry*, 1991, 37, str 1660.
22. Georges R.J. The medical laboratory scientist in the clinical chemistry service laboratory. *Sa Medical Journal*, 1983,63;316-318.
23. Getaldić-Švarc B. *HDMB glasilo*, 2004,8; str. 19.
24. Glesinger L. *Povijest medicine*. Zagreb, Školska knjiga, 1978.
25. Heeren JJ, Wielders JPM. Highlights of history: from uroscopy to urinalysis. *EURO MEDLAB*, Amsterdam, 2007.
26. Hrvatsko društvo medicinske biokemije i laboratorijske medicine.
<http://www.hdmbim.hr/hr/o-nama/tko-smo-mi>, pristupljeno 2.6.2013.
27. History of phlebotomy. <http://www.northcoastmedicalacademy.com/learning-center/history-of-phlebotomy.php>, pristupljeno 26.9.2013.
28. Hippocrates http://en.wikipedia.org/wiki/File:Hippocrates_rubens.jpg, pristupljeno 25.9.2013.
29. Hospital of the University of Pennsylvania, William Pepper Laboratory of Clinical Medicine http://dla.library.upenn.edu/dla/archives/detail.html?id=ARCHIVES_20040812004, pristupljeno 15.6.2013.
30. Juretić D, Kunović B, Rekić B. Izvješće o radu Društva. *Biochem. med*,1993,str.271.
31. Kricka L J, Savory J. A Guide to the History of Clinical Chemistry. *Clinical Chemistry*, 2011,57;1119-1120.
32. Kujundžić N. Spomenica u povodu 130. obljetnice nastave farmacije 1882 - 2012. Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2012, str. 29-30.
33. Leeuwenhoek Antique Microscope Replica. http://ancientpoint.com/inf/34178-leeuwenhoek_antique_microscope_replica.html, pristupljeno 2.6.2013.

34. Majkić-Singh N. Društvo medicinskih biohemičara Srbije i Crne Gore – 50 godina postojanja i rada. *Jugoslov Med Biohem* 2005,24;157–170.
35. Majkić-Singh N. *Medicinska biohemija*. Beograd, SPRINT, 2006, str 25-26.
36. Meites S. The First Call for Clinical Chemists in the United States. *Clinical Chemistry*, 1983,29;1852-1853.
37. Paracelsus. <http://www.fampeople.com/cat-paracelsus>, pristupljeno: 1.10.2013.
38. PCR machine. http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pcr_machine.jpg, pristupljeno 15.10.2013.
39. Pećina M, Fatović-Ferenčić S. Klio u medicinskoj praksi. Zagreb, HAZU, 2007, str. 7-8; 13-14.
40. Pećina M, Fatović-Ferenčić S. Ludnica i Lučbarnica Razvoj laboratorija u psihijatrijskoj bolnici. Zagreb, HAZU, 2012, str. 20-21; 113.
41. Race G J, Tillery G W, Dysert P A. A history of pathology and laboratory medicine at Baylor University Medical Center. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*, 2004,17, str 42 i 45.
42. Raos N. Promatrači mokraće. *Priroda*, 2012, studeni, 44-45.
43. Robert Boyle, the father of chemistry.
http://understandingscience.ucc.ie/pages/sci_robertboyle.htm, pristupljeno 3.10.2013.
44. Rosenfeld L. A Century of Growth: A Century of Progress. *Clinical Chemistry*, 2004, 50;796-797.
45. Rosenfeld L. A Golden Age of Clinical Chemistry: 1948 – 1960. *Clinical Chemistry*, 2000,46:10;1705-1714.
46. Rosenfeld L. Clinical Chemistry Since 1800: Growth and Development. *Clinical Chemistry*, 2002,48/1;186-195.
47. Rosenfeld L. Henry Bence Jones (1813-1873): The Best „Chemical Doctor“ in London. *Clinical Chemistry*, 1987,33;1687-1692.
48. Rosenfeld L. Otto Folin and Donald D. Van Slyke: Pioneers of Clinical Chemistry. *Bull. Hist. Chem.*, 1999,24;40-47.
49. Rosenfeld L. The Last Alchemist-The First Biochemist: J. B. van Helmont (1577-1644). *Clinical Chemistry*, 1985;1755-1758.
50. Rosenfeld L. William Prout: Early 19th Century Physician Chemist. *Clinical Chemistry*, 2003,49;699-705.
51. The alchemist. <http://io9.com/incredible-historic-pictures-of-early-science-labs-485796493>, pristupljeno: 30.9.2013.

52. The first integrated analyzer for clinical laboratories
http://continuuminnovation.com/cas_work/siemens/, pristupljeno 12.10.2013.
53. Thaller L. Od vrača i čarobnjaka do modernog liječnika. Zagreb, Minerva, 1938.
54. Topić E. i suradnici. 1946. – 2006. Klinički zavod za kemiju Farmaceutsko-biokemijskog i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, Medicinska naklada, 2006, str. 11.
55. William Harvey and the Circulation of the Blood.
<http://physiologyonline.physiology.org/content/17/5/175/F3.expansion>, pristupljeno 1.10.2013.
56. White W I. A New Look at the Role of Urinalysis in the History of Diagnostic Medicine. *Clinical Chemistry*, 1991,37/1;119-122
57. Wilkinson I. History of Clinical Chemistry Wöhler & the Birth of Clinical Chemistry. *eJIFCC*, 1998, 13/4;1-4.

7. SAŽETAK/SUMMARY

Ovaj je rad prikaz kako je medicinska biokemija kročila kroz povijest do medicinske subspecijalnosti današnjih dana. Nastala je poglavito kao rezultat primjene kemije u medicinu. Prve medicinske dijagnoze bile su temeljene na onome što su antički liječnici mogli zapažati njuhom, očima i ušima. Drevni Grci pripisuju sve bolesti poremećajima tjelesnih tekućina, a tijekom srednjeg vijeka doktori su rutinski obavljali uroskopiju. Humoralna teorija opovrgnuta je u vrijeme prosvjetiteljstva u 18. st. kako su se razvijale bolnice i medicinska edukacija, premda upravo tjelesne tekućine ostaju temeljni supstrat proučavanja medicinske biokemije. Danas se uroskopija više ne prakticira, ali analiza urina ostaje značajan dijagnostički alat, s dugom i šarolikom poviješću.

Prvi ozbiljniji pokušaj kemijskog analiziranja ljudske krvi proveo je poznati engleski kemičar Robert Boyle u drugoj polovici 17. stoljeća. Devetnaesto i dvadeseto stoljeće svjedoči naglom rastu i razvoju medicinske biokemije uvodeći veliki broj analiza koji se broji u stotinama. Godine 1828. Wöhler je prvi puta sintetizirao ureu. Bila je to prekretnica koja označava početak mnogih izvrsnih doprinosa našem znanju iz kemijskih i fizioloških procesa u organizmu. Posebno su istaknuti doprinos i utjecaj Donald Dexter Van Slykea, Stanley Benedicta i Otta Folina, kao i predstavljanje analiza Duboscq-ovim kolorimetrom kojeg je izumio Jules Duboscq 1870. godine.

Ova disciplina, koja se izvorno obavljala u malim laboratorijima s relativno malo ručnih testova, danas zahtjeva visoko automatizirane i integrirane laboratorije koji priređuju milijune testova svake godine. Točna, precizna i na vrijeme izdana informacija i njezina interpretacija, te procjena pogrešaka ključni su elementi medicinske biokemije i najvažnije vještine medicinskog biokemičara. Obilježava je interdisciplinarnost u kojoj se oduvijek ravnopravno primjenjuju dostignuća fizike, kemije i farmacije samo s jednim ciljem da u službi medicine skrbe o ljudskom tijelu u zdravlju i u bolesti.

This review provides a map of how medical biochemistry walked through history to the present day medical subspecialties. It was created primarily as a result of the application of chemistry to medicine. First medical diagnoses were based on what the ancient physicians could observe with their nose, eyes and ears. The ancient Greeks attributed all diseases to disorders of body fluids, and during the Middle Ages, doctors routinely perform uroscopy. Humoral theory was disproved at the time of the Enlightenment in the 18th century as they developed hospitals and medical education, although bodily fluids remain a fundamental substrate of studying medical biochemistry. Today uroscopy is no longer practiced, but urine analysis remains a significant diagnostic tool, with a long and colorful history.

The first serious attempt to perform chemical analyses on normal human blood was carried out by the well-known English chemist, Robert Boyle, in the latter half of the 17th century. The 19th and 20th centuries witnessed rapid growth and development of medical biochemistry introducing a large number of analysis to be counted in the hundreds. In the 1828 Wöhler first synthesized urea, a turning point that marks the beginning of many remarkable contributions to our knowledge of the chemical and physiological processes of the body. Of course, the contributions and impact of Donald Dexter Van Slyke, Stanley Benedict, and Otto Folin are prominently featured, as is the introduction of analysis by color comparison and the Duboscq colorimeter, invented by Jules Duboscq in 1870.

This discipline, which was originally performed in small laboratories with relatively little manual tests, today requires highly automated and integrated laboratories organized millions of tests each year. Accurate, precise and timely published information and its interpretation, and error estimates are key elements of medical biochemistry and the most important skills of medical biochemists. It is characterized by an interdisciplinary approach which has always

been equally applied achievements in physics, chemistry and pharmacy with only one goal to the service of medical care of the human body in health and disease.

8. PRILOZI

8.1. PRILOG 1: GLAVNA TEHNOLOŠKA OTKRIĆA

Instrument/tehnika	Osnivač	Godina
Elektrokemijske tehnike	Rudolf Höber	1900.
Duboscq kolorimetar za mjerenje kreatinina u urinu	Otto Folin	1904.
Plinske analize	John Scott Haldane	1912.
Analitička vaga za analizu urina	Ivar Christian Bang	1913.
Beckman DU spektrofotometar	Howard H. Cary i Arnold O. Beckman	1941.
Atomska spektroskopija		
Plamena fotometrija	Pauline M. Hald	1947.
Atomska apsorpcija	Alfred Zettner	1964.
Proficiency testing	F. William Sunderman	1945.
Zonska elektroforeza	H. D. Cremer i Arne Wilhelm Tiselius	1950.
POCT/ tehnika suhe kemije	A. H. Free i sur.	1957.
Automatizacija	Leonard T. Skeggs	1957.
RIA	Solomon Aaron Berson i Rosalyn Sussman Yalow	1959.
Kompjutori	Sunderman FW Jr. i sur.	1968.
Monoklonska protutijela	Jerrold Schwaber	1973.
PCR	Kary Mullis	1983.

Izvor: Kricka i Savory, 2011

8.2. PRILOG 2: MEDICINSKO BIOKEMIJSKI LABORATORIJ NA POČETKU 20. I 21. STOLJEĆA



Otto Folin McLean Hospital, Boston, 1905.



Autolab na odjelu patologije i laboratorijske medicine, Svečilište Pennsylvania, Philadelphia, 2011. g. (Kricka i Savory, 2011)

9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

PRILOG POVIJESTI MEDICINSKE BIOKEMIJE

Marina Hemar

SAŽETAK

Ovaj je rad prikaz kako je medicinska biokemija kročila kroz povijest do medicinske subspecijalnosti današnjih dana. Nastala je poglavito kao rezultat primjene kemije u medicinu. Prve medicinske dijagnoze bile su temeljene na onome što su antički liječnici mogli zapažati njuhom, očima i ušima. Drevni Grci pripisuju sve bolesti poremećajima tjelesnih tekućina, a tijekom srednjeg vijeka doktori su rutinski obavljali uroskopiju. Humoralna teorija opovrgnuta je u vrijeme prosvjetiteljstva u 18. st. kako su se razvijale bolnice i medicinska edukacija, premda upravo tjelesne tekućine ostaju temeljni supstrat proučavanja medicinske biokemije. Danas se uroskopija više ne prakticira, ali analiza urina ostaje značajan dijagnostički alat, s dugom i šarolikom poviješću.

Prvi ozbiljniji pokušaj kemijskog analiziranja ljudske krvi proveo je poznati engleski kemičar Robert Boyle u drugoj polovici 17. stoljeća. Devetnaesto i dvadeseto stoljeće svjedoči naglom rastu i razvoju medicinske biokemije uvodeći veliki broj analiza koji se broji u stotinama. Godine 1828. Wöhler je prvi puta sintetizirao ureu. Bila je to prekretnica koja označava početak mnogih izvrsnih doprinosa našem znanju iz kemijskih i fizioloških procesa u organizmu. Posebno su istaknuti doprinosi i utjecaj Donald Dexter Van Slykea, Stanley Benedicta i Otta Folina, kao i predstavljajući analiza Duboscq-ovim kolorimetrom kojeg je izumio Jules Dubosq 1870. godine.

Ova disciplina, koja se izvorno obavljala u malim laboratorijima s relativno malo ručnih testova, danas zahtjeva visoko automatizirane i integrirane laboratorije koji priređuju milijune testova svake godine. Točna, precizna i na vrijeme izdana informacija i njezina interpretacija, te procjena pogrešaka ključni su elementi medicinske biokemije i najvažnije vještine medicinskog biokemičara. Obilježava je interdisciplinarnost u kojoj se oduvijek ravnopravno primjenjuju dostignuća fizike, kemije i farmacije samo s jednim ciljem da u službi medicine skrbe o ljudskom tijelu u zdravlju i u bolesti.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 86 stranica, 28 grafičkih prikaza, 2 tablice i 57 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: medicinska biokemija, povijest, razvoj, laboratorijska medicina, uroskopija, analiza urina, dijagnoza, prognoza, laboratorijska oprema

Mentor: **Dr. sc. Nada Vrkić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Nada Vrkić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Nikola Kujundžić, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Karmela Barišić, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: studeni 2013.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of medical biochemistry and hematology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

CONTRIBUTION TO THE HISTORY OF MEDICAL BIOCHEMISTRY

Marina Hemar

SUMMARY

This review provides a map of how medical biochemistry walked through history to the present day medical subspecialties. It was created primarily as a result of the application of chemistry to medicine. First medical diagnoses were based on what the ancient physicians could observe with their nose, eyes and ears. The ancient Greeks attributed all diseases to disorders of body fluids, and during the Middle Ages, doctors routinely perform uroscopy. Humoral theory was disproved at the time of the Enlightenment in the 18th century as they developed hospitals and medical education, although bodily fluids remain a fundamental substrate of studying medical biochemistry. Today uroscopy is no longer practiced, but urine analysis remains a significant diagnostic tool, with a long and colorful history.

The first serious attempt to perform chemical analyses on normal human blood was carried out by the well-known English chemist, Robert Boyle, in the latter half of the 17th century. The 19th and 20th centuries witnessed rapid growth and development of medical biochemistry introducing a large number of analysis to be counted in the hundreds. In the 1828 Wöhler first synthesized urea, a turning point that marks the beginning of many remarkable contributions to our knowledge of the chemical and physiological processes of the body. Of course, the contributions and impact of Donald Dexter Van Slyke, Stanley Benedict, and Otto Folin are prominently featured, as is the introduction of analysis by color comparison and the Duboscq colorimeter, invented by Jules Duboscq in 1870.

This discipline, which was originally performed in small laboratories with relatively little manual tests, today requires highly automated and integrated laboratories organized millions of tests each year. Accurate, precise and timely published information and its interpretation, and error estimates are key elements of medical biochemistry and the most important skills of medical biochemists. It is characterized by an interdisciplinary approach which has always been equally applied achievements in physics, chemistry and pharmacy with only one goal to the service of medical care of the human body in health and disease.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 86 pages, 28 figures, 2 tables and 57 references. Original is in Croatian language.

Keywords: medical biochemistry, history, development, laboratory medicine, uroscopy, urine analysis, diagnosis, prognosis, laboratory instrumentation

Mentor: **Nada Vrkić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Nada Vrkić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Nikola Kujundžić, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Karmela Barišić, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: November 2013.

