

Određivanje stabilnosti funkcijskih testova štitnjače

Takač, Rea

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:561389>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Rea Takač

**Određivanje stabilnosti funkcijskih testova
štitnjače**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na Kolegiju Klinička biokemija organa i organskih sustava 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen je u Odjelu za laboratorijsku endokrinologiju Kliničkog zavoda za kemiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Donatelle Verbanac i Sanje Gorete, spec. med. biokemije i lab. medicine.

*Za Nonu zbog koje sam upisala ovaj faks i više od svega bih voljela da je tu ♡
Za Kukija koji mi je jednom prilikom rekao da je njemu ovo nezamislivo ♡*

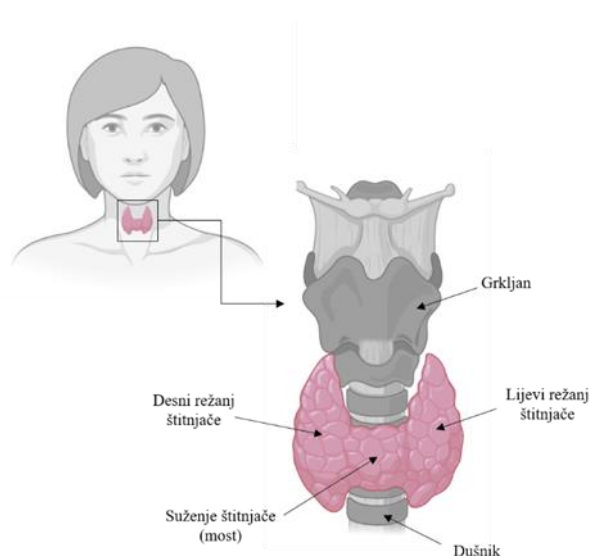
1. UVOD.....	1
1.1. Štitnjača	1
1.1.1. Anatomija i fiziologija štitnjače	1
1.1.2. Regulacija rada štitnjače	1
1.2. Hormoni štitnjače.....	3
1.2.1. Sinteza i izlučivanje trijodtironina (T ₃) i tetrajodtironina (T ₄).....	3
1.2.2. Djelovanje T ₃ i T ₄	4
1.3. Funkcijski testovi štitnjače	6
1.4. Stabilnost	8
2. OBRAZLOŽENJE TEME	9
3. MATERIJALI I METODE	10
3.1. Ispitanici i uzorci.....	10
3.2. Dizajn istraživanja.....	11
3.3. Princip analize.....	13
3.3.1. TSH.....	13
3.3.2. tT ₄	14
3.3.3. tT ₃	15
3.3.4. fT ₄	15
3.3.5. fT ₃	16
3.3.6. Anti-TPO.....	17
3.3.7. Anti-TG.....	18
3.4. Obrada podataka	20
4. REZULTATI I RASPRAVA	22
4.1. Rezultati.....	22
4.2. Rasprava	52
5. ZAKLJUČCI	56
6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA.....	57
7. LITERATURA	59
8. SAŽETAK / SUMMARY.....	62

1. UVOD

1.1. Štitnjača

1.1.1. Anatomija i fiziologija štitnjače

Štitnjača je endokrini žlijezda smještena u prednjem dijelu vrata, ispred dušnika te ispod grkljana (Slika 1).



Slika 1: Prikaz smještaja štitnjače u organizmu i njezine makroskopske građe.

Leptirastog je oblika i sastoji se od dva režnja (lat. *lobus dexter et lobus sinister*) povezana mostom (lat. *isthmus glandulae thyroideae*). Građena je od mnoštva folikula koji su obavijeni folikularnim stanicama dok se u unutrašnjosti folikula nalazi tekuća smjesa, odnosno koloid. Folikularne stanice odgovorne su za sintezu glavnih hormona štitnjače trijodtironina (T_3) i tetrajodtironina (T_4) koji posreduju u regulaciji metabolizma. Tetrajodtironin (T_4) se još naziva i tiroksin. Između folikula nalazi se međustanični prostor u kojem je međustanično tkivo i parafolikularne stanice (C stanice) koje sintetiziraju kalcitonin, hormon koji sudjeluje u regulaciji homeostaze kalcija (Guyton i Hall, 2017; Gillroy i sur., 2011).

1.1.2. Regulacija rada štitnjače

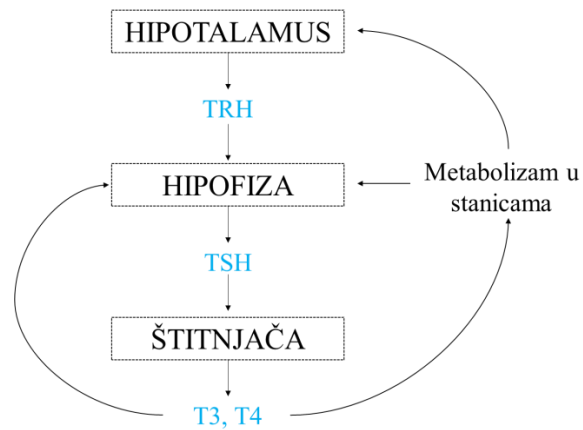
Rad štitnjače reguliran je negativnom povratnom spregom. U kontrolu rada štitnjače uključeni su hipotalamus, dio međumozga koji kontrolira endokrine funkcije organizma, i adenohipofiza, prednji dio hipofize, koja je smještena ispod baze velikog mozga u koštanoj tvorevini tursko sedlo (lat. *sella turcica*). Hipotalamus luči hormon koji oslobađa tireotropin (TRH) koji se veže za receptore tireotropin otpuštajućeg hormona tipa 1 (engl. *thyrotropin-releasing hormone receptor 1*; TRHR1) na stanicama adenohipofize. TRHR1 su membranski receptori koji, nakon

vezanja TRH-a, uzrokuju aktivaciju fosfolipaze C te posljedično fosforilacije unutarstaničnih proteina i povećavanje unutarstanične koncentracije kalcija (Ca^{2+}). Posljedica pokretanja tog unutarstaničnog mehanizma je lučenje tireotropina (TSH). TSH se, iz cirkulacije, veže za svoje transmembranske receptore na folikularnim stanicama štitnjače te pokreće kaskadu reakcija unutar stanice posredovane drugim glasnikom, cikličkim adenozin-monofosfatom (cAMP). Vezanje TSH-a rezultira lučenjem hormona štitnjače u cirkulaciju te rast tkiva štitnjače (Guyton i Hall, 2017; Gillroy i sur., 2011).

TSH je glavni hormon koji regulira rad i otpuštanje hormona štitnjače. Sekrecija TSH-a inhibirana je negativnom povratnom spregom hormonima štitnjače preko $\text{THR}\beta\text{-2}$ (engl. *$\beta 2$ isoform of thyroid hormone receptor*) receptora za hormone štitnjače koji se nalaze na hipofizi. Isti se receptori nalaze u hipotalamusu, no negativna povratna sprema jače je izražena djelovanjem hormona štitnjače na hipofizu (Rifai i sur., 2018; Ortiga-Carvalho, 2016).

Postoje dva slučaja djelovanja negativne povratne sprege u koje su uključeni hipotalamus, hipofiza i štitnjača (Slika 2):

1. U slučaju niskih koncentracija T_3 i T_4 u krvi hipotalamus se aktivira i luči TRH koji djeluje na hipofizu. Pod utjecajem TRH-a adenohipofiza luči TSH koji potom djeluje na štitnjaču te T_3 i T_4 . Mehanizam rezultira povećanjem koncentracija hormona štitnjače u krvi.
2. U slučaju visokih koncentracija T_3 i T_4 u krvi suprimira se lučenje TSH-a iz adenohipofize. Vjeruje se da visoke koncentracije hormona štitnjače djeluju izravno na adenohipofizu, uz djelovanje na hipotalamus. Lučenje hormona štitnjače se smanjuje zbog smanjenog lučenja TRH-a i TSH-a. Time je smanjena stimulacija štitnjače što znači da se u krv otpušta manje T_3 i T_4 i smanjuju se ukupne koncentracije hormona (Rifai i sur., 2018).

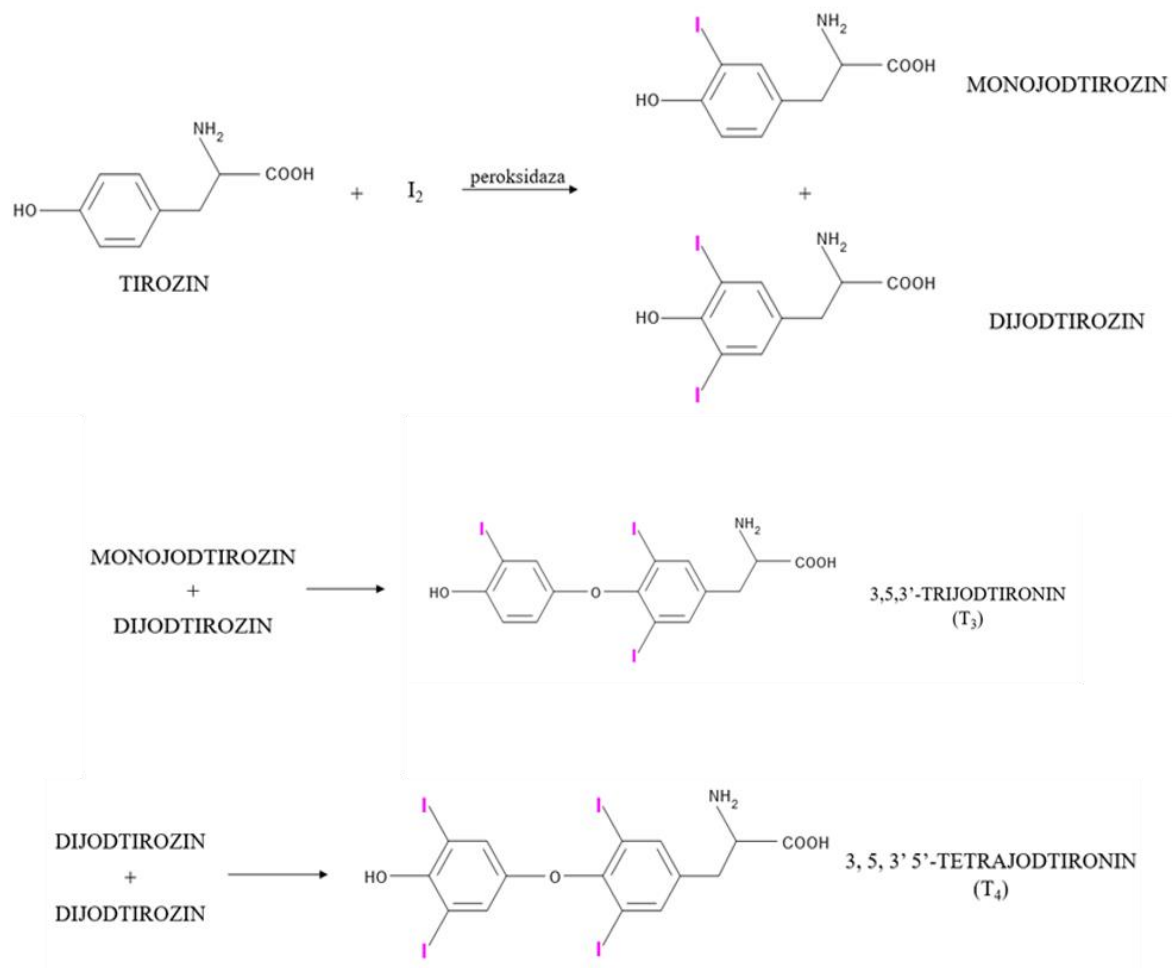


Slika 2: Shematski prikaz regulacije rada štitnjače.

1.2. Hormoni štitnjače

1.2.1. Sinteza i izlučivanje trijodtironina (T_3) i tetrajodtironina (T_4)

Sinteza hormona T_3 i T_4 odvija se iz tireoglobulina, proteina bogatog tirozinskim ostacima. Tireoglobulin sintetiziraju folikularne stanice, obogaćuju tirozinske ostatke jodom te ga izlučuju u unutrašnjost folikula gdje se skladišti. Za sintezu T_3 i T_4 potreban je jod koji u folikularne stanice dopijeva kao jodidni ion u kotransportu s natrijem putem natrij-jodid simportera. Nakon ulaska u stanicu jodidi se oksidiraju u elementarni jod, I_2 , a oksidacija je katalizirana enzimom tiroidnom peroksidazom koja se nalazi u apikalnoj membrani stanice ili u citoplazmi neposredno uz staničnu membranu. Elementarni jod se uz pomoć jodaze veže za tirozinske ostatke u tireoglobulinu pri čemu nastaju monojodtirozin (MIT) i dijodtirozin (DIT). Povezivanjem dva DIT ostatka nastaje tetrajodtironin, odnosno tiroksin (T_4), a povezivanjem jednog MIT i jednog DIT nastaje trijodtironin (T_3) (Slika 3). Oba hormona (T_3 i T_4) ostaju vezana za molekulu tireoglobulina sve dok se ne ukaže potreba za otpuštanjem hormona u krvotok. Vezanjem TSH na receptore na stanicama štitnjače i pokretanjem kaskade reakcija unutar stanice inducira se pinocitoza tireoglobulina iz folikula. Pinocitozom nastaje vezikula u kojoj je tireoglobulin koja se spaja s lizosomom, bogatim enzimima, između ostalog i proteazama koje odcjepljuju T_3 i T_4 s molekule tireoglobulina. Vezikule se zatim stapaju s bazalnom membranom stanice te se u lokalne kapilare otpuštaju T_3 i T_4 . Dnevno, od ukupne količine otpuštenih hormona u cirkulaciju, 93 % čini tiroksin dok trijodtironin čini samo 7 %. Na periferiji se događa konverzija, odnosno dejodinacija T_4 u T_3 pomoću enzima dejodaze. T_3 je biološki aktivniji te ima izuzetno visok afinitet za unutarstanične tiroidne receptore (Guyton i Hall, 2017).



Slika 3: Sinteza tiroksina (T_4) i trijodtironina (T_3).

1.2.2. Djelovanje T_3 i T_4

U krvi je više od 99 % T_3 i T_4 vezano za proteine plazme dok je ostatak slobodan u plazmi i ostvaruje svoje biološko djelovanje (ukupni trijodtironin - tT_3 ; ukupni tiroksin - tT_4 ; slobodni trijodtironin - ft_3 ; slobodni tiroksin - ft_4). Proteini plazme na koje se T_3 i T_4 vežu su: tiroksin vezujući globulin (TBG), transtiretin (TTR) i albumin. Hormoni su najvećim udjelom vezani za TBG, zatim za TTR, a u najmanjoj mjeri vezani su za albumin. Ulaskom u stanicu, hormoni se vežu za unutarstanične receptore koji se nalaze u jezgri ili vezani za DNA ili u njejoj neposrednoj blizini. Kompleks hormona i receptora udružuje se s receptorom za retinoid X i zajedno tvore heterodimer koji potiče transkripciju gena (Guyton i Hall, 2017).

Glavni učinci T_3 i T_4 postižu se aktivacijom transkripcije gena:

1. Uzrokuju pojačani metabolizam: povećavaju broj mitohondrija, stimuliraju mitohondrijsko disanje i oksidativnu fosforilaciju, intenziviraju rad Na^+/K^+ -ATPaze,

povećavaju sintezu ATP-a, povećavaju potrošnju ATP-a, povećavaju intenzitet bazalnog metabolizma i posljedično je povećan utrošak kisika.

2. Povećavaju sintezu proteina, metabolizam ugljikohidrata, proteolizu ovisnu o ATP-u, lipolizu te utječu na povećanje koncentracije triglicerida i kolesterola u krvi. S obzirom da je povećana sinteza proteina, povećana je samim time i sinteza enzima te je povećana potreba organizma za vitaminima jer su mnogi od njih sastavni dio nekih enzima i kofaktora.
3. Utječu na rast, razvoj i sazrijevanje organizma.
4. Povećavaju srčani minutni volumen, srčanu frekvenciju i jakost srčane kontrakcije te tkivni protok krvi metabolizma (Guyton i Hall, 2017).
5. Na periferiji povećavaju broj β -adrenergičkih receptora u odnosu na α -adrenergične receptore zbog čega se povećava djelovanje katekolamina te se pojačava djelovanje na srce, glatko mišićje i metaboličku aktivnost što dovodi do povećanja otkucaja srca u minuti i pojačavanja srčane kontrakcije (Tank i Lee Wong, 2015).
6. Uzrokuju pad tjelesne mase zbog sveopćeg pojačanog metabolizma (Guyton i Hall, 2017).

Hormoni štitnjače mogu djelovati i neovisno o njihovom vezanju na receptor u jezgri. Mogu se vezati za membranske integrinske receptore i time aktivirati mitogenom aktiviranu proteinsku kinazu (MAPK) unutar stanice što posljedično uzrokuje fosforilaciju proteina i promjenu u transkripcijskoj aktivnosti. Djelovanje neovisno o tiroidnom receptoru pospješuje i angiogenezu, tumorsku proliferaciju te pojačano djelovanje citokina i faktora rasta (Cheng i sur., 2010).

1.3. Funkcijski testovi štitnjače

Funkcijski testovi štitnjači koji obuhvaćaju određivanje TSH, tT_4 , tT_3 , fT_4 , fT_3 te antitijela na tiroidnu peroksidazu (anti-TPO) i tireoglobulin (anti-TG) od velikog su značaja u dijagnostici poremećaja štitne žlijezde, diferencijaciji poremećaja te praćenju terapije.

TSH je glavni hormon koji regulira rad štitnjače i promjena njegove koncentracije najraniji je pokazatelj njene disfunkcije. TSH se preporuča kao probirna pretraga za hipotireozu, hipertireozu kao i za otkrivanje subkličkog poremećaja štitne žlijezde, uz uvjet da postoji uredna hipotalamo-hipofizna osovina i stabilno stanje štitne žlijezde (Kusić i sur., 2009).

Najčešći poremećaji štitne žlijezde uključuju primarnu hipotireozu gdje su koncentracije TSH-a povišene, a koncentracije hormona štitnjače snižene, primarnu hipertireozu i tireotoksikozu gdje su koncentracije TSH-a snižene, a koncentracije hormona štitnjače povišene i subkličku hipotireozu i subkličku hipertireozu sa povišenim odnosno sniženim koncentracijama TSH-a uz hormone štitnjače unutar referentnog intervala. Više koncentracije TSH-a nalaze se i u kroničnom autoimunom tireoiditisu (Hashimotov tireoiditis) te kod osoba koje prehranom ne unose dovoljno joda zbog čega je smanjena sinteza hormona štitnjače. Kod Gravesove hipertireoze, toksičnog adenoma i multinodularne toksične guše prisutne su snižene koncentracije TSH (Čvorišćec i Čepelak, ured., 2009).

TSH se, uz preporučene hormone štitnjače, određuje i u praćenju terapije liječenja hipotireoze i hipertireoze.

tT_4 i tT_3 predstavljaju ukupne koncentracije T_4 i T_3 u krvi, a obuhvaćaju mjerenje slobodnih oblika hormona i hormona vezanih na proteine. tT_4 i tT_3 odražavaju funkciju štitnjače te su u stanjima hipertireoze povišeni, a u hipotireozu sniženi. Na mjerenu koncentraciju ukupnih hormona, tT_4 i tT_3 , utječu i koncentracije veznih proteina u serumu, posebice TBG. Povišene koncentracije TBG-a uzrokuju povišene koncentracije ukupnih hormona štitnjače i obrnuto, snižene koncentracije TBG-a uzrokuju snižene koncentracije ukupnih hormona (povišene koncentracije TBG-a javljaju se na primjer kod povišenih koncentracija estrogena ili kod primarne bilijarne ciroze, a snižene se uočavaju uslijed primjerice povišenih koncentracija androgena) (Rifai i sur., 2018; Schussler, 2000). Prema preporukama koncentracije tT_3 (i fT_3) trebale bi se određivati ukoliko postoji sumnja na T_3 tireotoksikozu zbog inicijalno sniženih vrijednosti TSH-a uz koncentracije tT_4 unutar referentnog intervala. Danas se, zbog velikog utjecaja serumske koncentracije TBG na mjerenje ukupnih hormona, preporuča se mjerenje slobodnih hormona (Kusić i sur., 2009).

fT_4 i fT_3 predstavljaju slobodni, biološki aktivni oblik, koji bolje odražava funkciju štitnjače od mjerenja ukupnih hormona. fT_4 najbolje odražava funkciju štitnjače i prema smjernicama je druga linija probira za procjenu funkcije štitnjače nakon određivanja TSH-a; u slučaju koncentracija TSH-a izvan referentnog intervala preporučeno je određivanje fT_4 u krvi (Kusić i sur., 2009). fT_4 najvažniji je, uz TSH, za titraciju i praćenje terapije liječenja hipotireoze i hipertireoze. Povišene koncentracije fT_4 i fT_3 karakteriziraju tireotoksikozu koja se može pojaviti uslijed Gravesove bolesti ili toksičnog adenoma štitnjače dok se snižene koncentracije opažaju, između ostalog i kod hipotireoze zbog Hashimotovog tiroiditisa ili prehrane siromašne jodom (Čvorišćec i Čepelak, ured., 2009).

Anti-TPO i anti-TG su autoantitijela usmjerena na tiroidnu peroksidazu (TPO) i na tireoglobulin (TG). U Hashimotovom tiroiditisu dolazi do vezanja autoantitijela na komponente tkiva štitnjače i posljedično upale zbog koje dolazi do infiltracije štitnjače limfocitima i propadanja tkiva štitnjače. 95 % pacijenata oboljelih od Hashimotovog tiroiditisa ima pozitivna anti-TPO dok samo 60-80 % oboljelih ima pozitivna anti-TG pa su za potvrdu bolesti kod osobe koja ima odgovarajuće simptome i koncentracije TSH-a, tT_4 (fT_4) i tT_3 (fT_3), antitijela na tiroidnu peroksidazu pouzdaniji parametar od antitijela na tireoglobulin (Caturegli i sur., 2014).

1.4. Stabilnost

Stabilnost analita u laboratoriju se definira kao vremenski period u kojem analit zadržava svoju koncentraciju unutar dozvoljenih granica odstupanja tijekom pohrane uzorka u kojem se određuje pod određenim uvjetima (Flores CFY i sur., 2020).

Stabilnost analita uvjetuje prvenstveno njegova kemijska struktura i moguća podložnost degradaciji ili djelovanju enzima, ali može ovisiti i o spremniku u koji se uzorkuje krv, izloženosti svjetlosti ili zraku te temperaturi i vremenu koje protekne do analize (Gómez-Rioja i sur., 2019).

Neki su analiti izuzetno nestabilni i odgoda njihovog određivanja značajno utječe na rezultat analize te se moraju analizirati odmah nakon uzorkovanja krvi (Šupak-Smolčić i sur., 2023) dok su neki analiti prilično stabilni i njihove analize je moguće odgoditi ovisno o uvjetima i vremenu pohrane uzoraka (Hirigo, 2020).

Glavna zadaća laboratorija je održavanje kvalitete rada i izdavanje točnih i pouzdanih rezultata (Lippi i sur., 2008).

Poznavanjem stabilnosti analita u određenim uvjetima i vremenima pohrane moguće je odgoditi analizu traženih testova ili naknadno odraditi neke potrebne dodatne testove bez narušavanja kvalitete rada. (Flores i sur., 2020)

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Štitnjača, kao endokrina žlijezda, putem hormona koje luči sudjeluje u regulaciji mnogih fizioloških procesa, između ostalog u regulaciji metabolizma te rasta i razvoja organizma.

Poremećaji u radu štitne žlijezde danas predstavljaju globalni zdravstveni problem sa sve većim brojem oboljelih, čime se stavlja imperativ na pravovremenu i točnu dijagnozu.

Uz ultrazvučnu dijagnostiku, funkcijski testovi štitnjače imaju ključnu ulogu u dijagnostici poremećaja štitnjače, ali i u diferencijaciji poremećaja te praćenju terapije.

Glavna zadaća laboratorija je izdati točne i pouzdane rezultate funkcijskih testova štitnjače.

Funkcijski testovi štitnjače obuhvaćaju TSH, tT_3 , fT_3 , tT_4 , fT_4 , anti-TPO i anti-TG.

Određivanje navedenih testova u laboratoriju iz uzoraka seruma uključuje ponekad i potrebu za odgodom analiza kao i pohranu uzoraka seruma za potencijalne naknadne analize. Kako bi se osigurali točni i pouzdani rezultati testova, potrebno je definirati u kojim vremenskim okvirima i okolišnih uvjetima su funkcijski testovi štitnjače stabilni.

Hipoteza ovog rada bila je da stajanjem uzoraka seruma u epruvetama s gelom ne dolazi do narušavanja stabilnosti funkcijskih testova štitnjače tijekom 72 sata u različitim temperaturnim uvjetima.

Ciljevi rada su :

1. Ispitati stabilnost funkcijskih testova štitnjače u serumu u epruvetama s gelom tijekom 8 h na sobnoj temperaturi kako bi se procijenilo mogu li se analize funkcijskih testova štitnjače odgoditi ili naknadno zatražiti unutar 8 h
2. Ispitati stabilnost funkcijskih testova štitnjače u serumu u epruvetama s gelom tijekom 72 sata na $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$, s prethodnim stajanjem uzoraka seruma 8 h na sobnoj temperaturi, kako bi se procijenilo mogu li se analize funkcijskih testova štitnjače odgoditi ili naknadno zatražiti unutar 72 h

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Ispitanici i uzorci

Istraživanje je provedeno prospektivno u periodu od listopada 2022. do siječnja 2023. godine. na ostatnim uzorcima seruma pacijenata koji su dolazili u ambulantu za vađenje krvi Endokrinološkog laboratorija Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice (KBCSM). Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva KBCSM-a. Uključeno je ukupno 54 ispitanika, od kojih je 49 ispitanika ženskog spola, a 5 muškog spola. Dob ispitanika bila je u rasponu od 11 do 73 godine s medijanom od 42 godine.

Uzorkovanje je izvedeno u skladu s preporukom za uzorkovanje venske krvi (Nikolac i sur., 2013) u epruvete bez antikoagulansa s gelom za odvajanje seruma i aktivatorom zgrušavanja (Greiner Bio-One GmbH od 5 mL, Kremsmuenster, Austria). Nakon 30 minuta uzorci su centrifugirani na 3500 okretaja/min 10 minuta (centrifuga Hettich Rotanta 460RC). Serum se tako odvojio od stanica i pozicionirao iznad razine gela. U tako pripremljenom uzorku seruma određivane su koncentracije pojedinih funkcijskih pretraga štitnjače (TSH, tT_3 , fT_3 , tT_4 , fT_4 , anti-TPO i anti-TG).

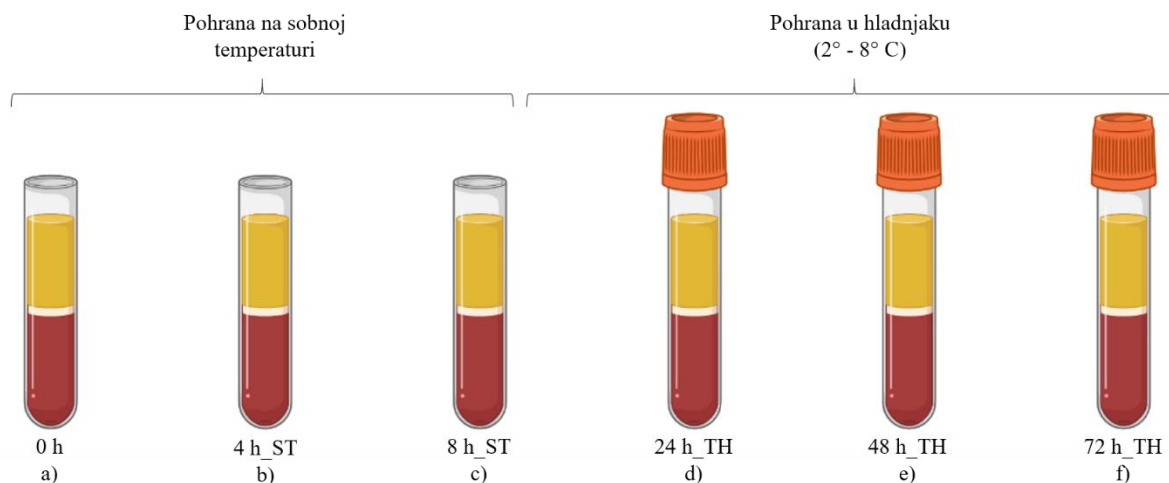
3.2. Dizajn istraživanja

U početku ispitivanja su definirani kriteriji za odabir uzoraka i protokol prema kojem se ispitivanje provodilo.

Kriteriji za odabir uzoraka za ispitivanje:

1. Uzorci seruma bez prisutnosti hemolize, lipemije i ikterije (vizualna detekcija).
2. Koncentracije analita (TSH, tT_3 , fT_3 , tT_4 , fT_4 , anti-TPO i anti-TG) koje se nalaze unutar i izvan referentnog intervala kako bi se zadovoljio širi koncentracijski raspon.
3. Odabir uzorka i inicijalna obrada nultog mjerenja unutar dva sata od uzorkovanja.

Istraživanje je obuhvaćalo mjerenje koncentracije funkcijskih testova štitnjače (TSH, T_3 , T_4 , fT_3 , fT_4 , anti-TPO i anti-TG) u vremenskim razmacima prikazanim na Slici 4 (0 h, 4 h_{ST}, 8 h_{ST}, 24 h_{TH}, 48 h_{TH} i 72 h_{TH}). Za svaki funkcijski test štitnjače odabrano je 10 ostalih uzoraka pacijenata (1 test → 10 pacijenata) pri čemu je uzorak jednog ispitanika mogao biti korišten za određivanje stabilnosti više funkcijskih testova štitnjače. U svakoj vremenskoj točki mjerenje je odrađeno u duplikatu kako bi se smanjio utjecaj nepreciznosti kod mjerenja. Vremenska točka označena slovom a) 0 h predstavlja mjerenje u nultom trenutku, odnosno mjerenje odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja. Nakon nultog mjerenja slijedi mjerenje u drugoj vremenskoj točki, b) 4 h_{ST}, četiri sata od uzorkovanja te mjerenje u trećoj vremenskoj točki, c) 8 h_{ST}, osam sati nakon uzorkovanja. Tijekom prvih osam sati uzorak se nalazio na sobnoj temperaturi, bez zatvaranja epruvete čepom. Zatim se uzorak, nakon mjerenja u točki c) 8 h_{ST}, spremao začepljen u hladnjak (2 – 8 °C) i tako ostao pohranjen do četvrtog mjerenja, nakon 24 h od uzorkovanja, odnosno točke d) 24 h_{TH}. Prije mjerenja u točki d) 24 h_{TH} uzorak se izvadio iz hladnjaka na sobnu temperaturu desetak minuta prije analize. Nakon mjerenja smo uzorak začepili i vraćen je u hladnjak. Mjerenja nakon 48 h (točka e) 48 h_{TH}) i 72 h (točka f) 72 h_{TH}) provedena su na isti način kao i mjerenje nakon 24 h (točka c) 8 h_{ST}). Dizajn istraživanja prilagođen je prema uputama Radne grupe za predanalitiku EFLM-a (engl. *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*) (Cornes i sur., 2020).



Slika 4: Shematski prikaz istraživanja. (a) 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); b) 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; c) 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; d) 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 - 8 °C)); e) 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); f) 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

3.3. Princip analize

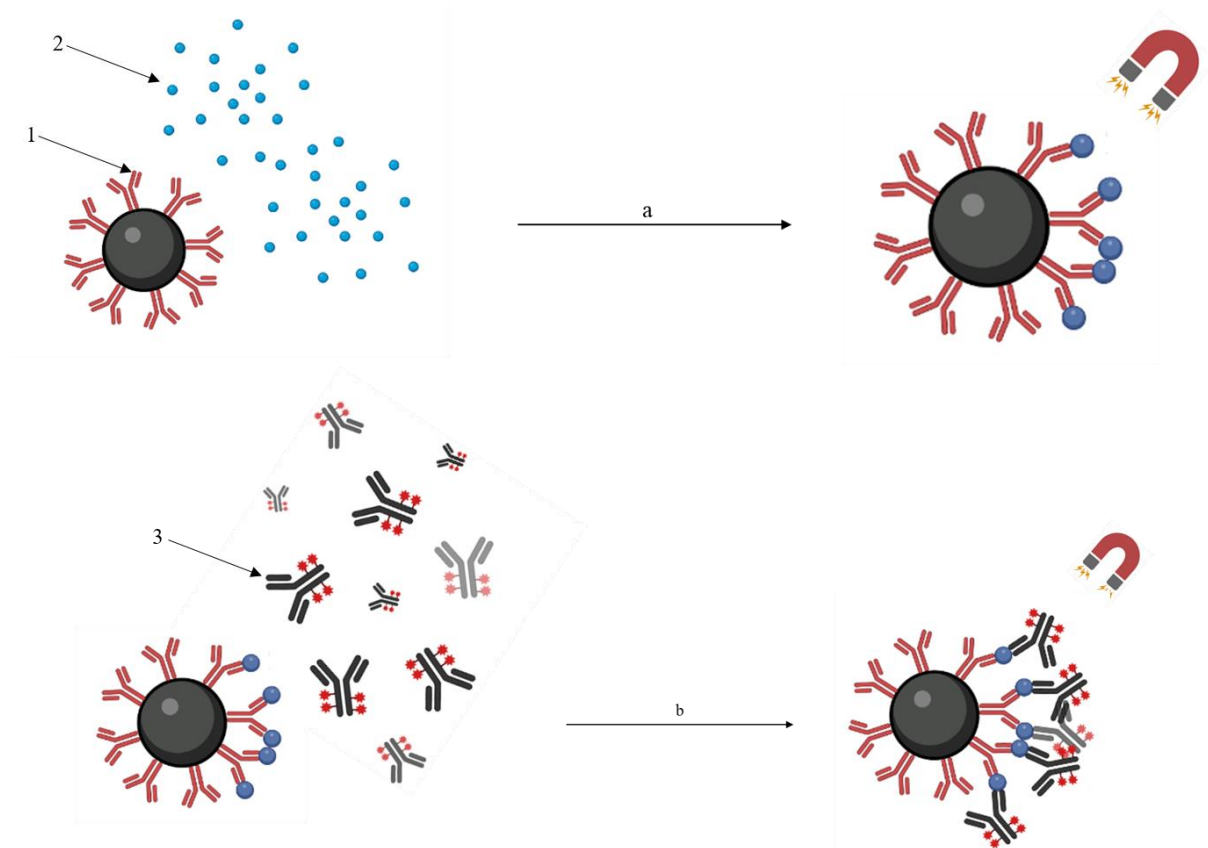
Svi u testovi ovom radu određuju se u dva koraka kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom s magnetskim mikročesticama (engl. *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay; CMIA*) na automatskom analizatoru *Abbott Architect i2000*.

3.3.1. TSH

Uzorak, diluent i paramagnetske mikročestice obložene anti- β TSH antitijelima su inkubirane. Dolazi do vezanja TSH iz uzorka na antitijela vezana na mikročestice. Slijedi ispiranje. Nakon ispiranja dodaje se konjugat s anti- α TSH antitijelima obilježenim akridinijem koje se veže za TSH na mikročesticama. Slijedi inkubacija i ispiranje. Zatim se u reakcijsku smjesu dodaju *Pre-Trigger* i *Trigger* otopina. Rezultat kemiluminiscentne reakcije je otpuštanje energije koje se izražava u relativnim jedinicama svjetlosti (engl. *relative light units; RLU*s). RLU_s su izravno proporcionalne koncentraciji TSH u uzorku (Slika 5).

Reagens:

- *Mikročestice*: Mikročestice obložene anti- β TSH (mišja, monoklonska) antitijelima u TRIS puferu s proteinskim (goveđim) stabilizatorom.
- *Konjugat*: Anti- α TSH (mišja, monoklonska) antitijela obilježena akridinijem u MES puferu s proteinskim (goveđim) stabilizatorom.
- *Diluent*: TRIS pufer.
- *Pre-trigger otopina* (1,2 % vodikov peroksid – H₂O₂)
- *Trigger otopina* (0,35 M natrijev hidroksid – NaOH)



Slika 5: Shema reakcije određivanja tireotropina (TSH) CMIA (engl. Chemiluminescent Microparticle Immunoassay) metodom. U prvom koraku (a) dolazi do vezanja hormona iz uzorka na antitijela vezana na paramagnetske čestice dok u drugom koraku (b) dolazi do vezanja obilježenog antitijela za vezani hormon te mjerenja signala. 1-antitijelo vezano za paramagnetsku česticu; 2-hormon iz uzorka; 3-obilježeno antitijelo.

3.3.2. tT₄

Uzorak i paramagnetske mikročestice obložene anti-T₄ antitijelima se inkubiraju. T₄ vezan na tiroksin vezujući protein, transtiretin i albumin se odvaja. Dolazi do vezanja T₄ iz uzorka na antitijela vezana na mikročestice. Slijedi ispiranje. Nakon ispiranja dodaje se T₃ konjugat obilježen akrininijem. Konjugat se veže za preostala vezna mjesta na antitijelima vezanima na mikročesticama. Slijedi inkubacija i ispiranje. Zatim se u reakcijsku smjesu dodaju *Pre-Trigger* i *Trigger* otopina. Rezultat kemiluminiscentne reakcije je otpuštanje energije koje se izražava u relativnim jedinicama svjetlosti (engl. *relative light units*; *RLUs*). RLUs su obrnuto proporcionalne koncentraciji tT₄ u uzorku (Slika 6).

Reagens:

- *Mikročestice*: Mikročestice obložene anti-T₄ (ovčja) antitijelima u TRIS puferu s ovčjim IgG stabilizatorom.

- Konjugat: T₃ konjugat obilježen akridinijem u MES puferu s NaCl i Triton X-100 stabilizatorima.
- *Pre-trigger otopina* (1,2 % vodikov peroksid – H₂O₂)
- *Trigger otopina* (0,35 M natrijev hidroksid – NaOH)

3.3.3. tT₃

Uzorak i paramagnetske mikročestice obložene anti-T₃ antitijelima se inkubiraju. T₃ vezan na tiroksin vezujući protein, transtiretin i albumin se odvaja. Dolazi do vezanja T₄ iz uzorka na antitijela vezana na mikročestice. Slijedi ispiranje. Nakon ispiranja dodaje se T₃ konjugat obilježen akridinijem. Konjugat se veže za preostala vezna mjesta na antitijelima vezanima na mikročesticama. Slijedi inkubacija i ispiranje. Zatim se u reakcijsku smjesu dodaju *Pre-Trigger* i *Trigger* otopina. Rezultat kemiluminiscentne reakcije je otpuštanje energije koje se izražava u relativnim jedinicama svjetlosti (engl. *relative light units; RLU*s). RLU_s su obrnuto proporcionalne koncentraciji tT₃ u uzorku (Slika 6).

Reagens:

- *Mikročestice*: Mikročestice obložene anti-T₃ (ovčja) antitijelima u TRIS puferu s ovčjim IgG stabilizatorom.
- Konjugat: T₃ konjugat obilježen akridinijem u citratnom puferu s NaCl i Triton X-100 stabilizatorima.
- *Pre-trigger otopina* (1,2 % vodikov peroksid – H₂O₂)
- *Trigger otopina* (0,35 M natrijev hidroksid – NaOH)

3.3.4. fT₄

Uzorak i paramagnetske mikročestice obložene anti-T₄ antitijelima se inkubiraju. Dolazi do vezanja T₄ iz uzorka na antitijela vezana na mikročestice. Slijedi ispiranje. Nakon ispiranja dodaje se T₃ konjugat obilježen akridinijem. Konjugat se veže za preostala vezna mjesta na antitijelima vezanima na mikročesticama. Slijedi inkubacija i ispiranje. Zatim se u reakcijsku smjesu dodaju *Pre-Trigger* i *Trigger* otopina. Rezultat kemiluminiscentne reakcije je otpuštanje energije koje se izražava u relativnim jedinicama svjetlosti (engl. *relative light units; RLU*s). RLU_s su obrnuto proporcionalne koncentraciji fT₄ u uzorku (Slika 6).

Reagens:

- *Mikročestice*: Mikročestice obložene anti-T₄ (ovčja) antitijelima u TRIS puferu s ovčjim IgG stabilizatorom.

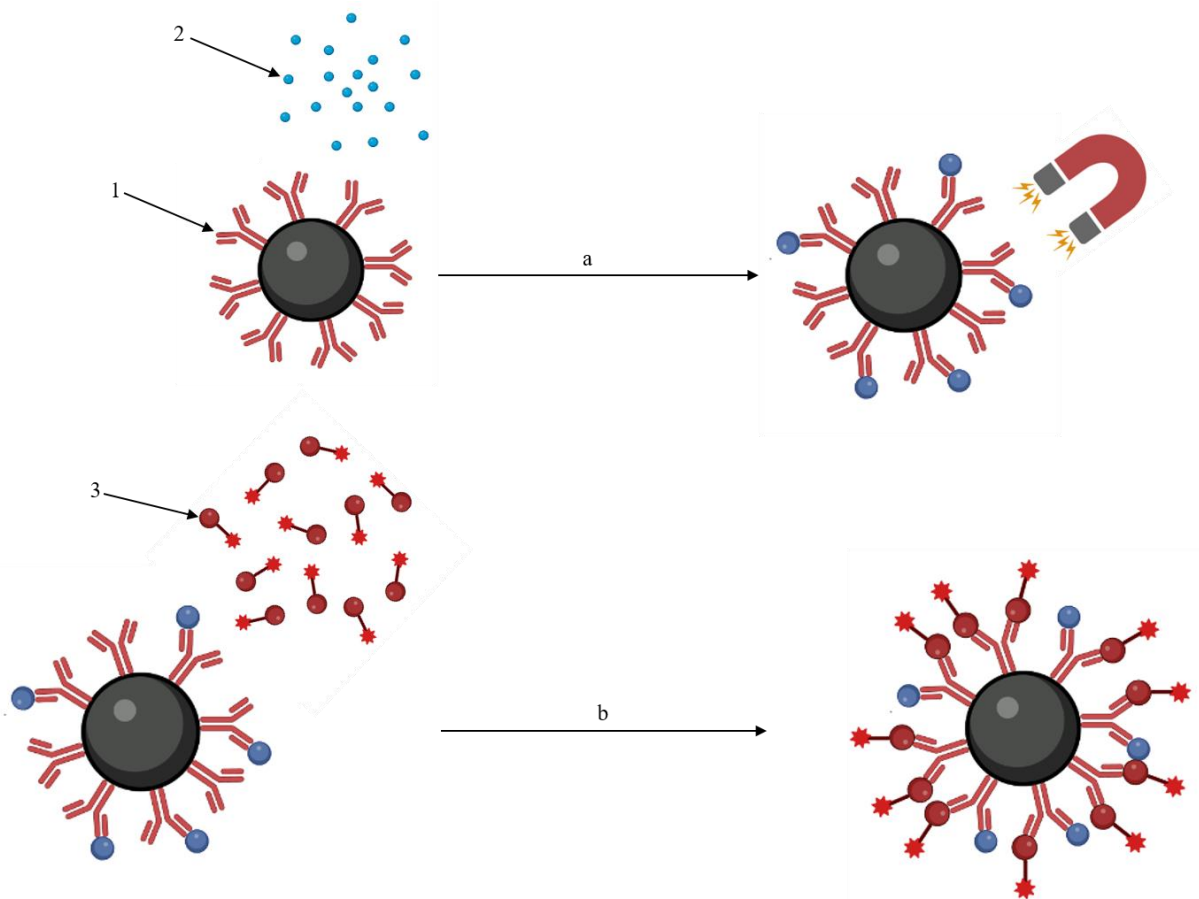
- Konjugat: T₃ konjugat obilježen akridinijem u MES puferu s NaCl i Triton X-100 stabilizatorima.
- *Pre-trigger otopina* (1,2 % vodikov peroksid – H₂O₂)
- *Trigger otopina* (0,35 M natrijev hidroksid – NaOH)

3.3.5. fT₃

Uzorak i paramagnetske mikročestice obložene anti-T₃ antitijelima se inkubiraju. Dolazi do vezanja T₄ iz uzorka na antitijela vezana na mikročestice. Slijedi ispiranje. Nakon ispiranja dodaje se T₃ konjugat obilježen akridinijem. Konjugat se veže za preostala vezna mjesta na antitijelima vezanima na mikročesticama. Slijedi inkubacija i ispiranje. Zatim se u reakcijsku smjesu dodaju *Pre-Trigger* i *Trigger* otopina. Rezultat kemiluminiscentne reakcije je otpuštanje energije koje se izražava u relativnim jedinicama svjetlosti (engl. *relative light units; RLUs*). RLUs su obrnuto proporcionalne koncentraciji tT₃ u uzorku (Slika 6).

Reagens:

- *Mikročestice*: Mikročestice obložene anti-T₃ (ovčja) antitijelima u TRIS puferu s ovčjim IgG stabilizatorom.
- Konjugat: T₃ konjugat obilježen akridinijem u citratnom puferu s NaCl i Triton X-100 stabilizatorima.
- *Pre-trigger otopina* (1,2 % vodikov peroksid – H₂O₂)
- *Trigger otopina* (0,35 M natrijev hidroksid – NaOH)



Slika 6: Shema reakcije određivanja tT_4 , fT_4 , tT_3 , fT_3 CMIA (engl. Chemiluminescent Microparticle Immunoassay) metodom. U prvom koraku (a) dolazi do vezanja hormona iz uzorka na antitijela vezana na paramagnetske čestice dok u drugom koraku (b) dolazi do vezanja obilježenog hormona za preostala slobodna mjesta na antitijelima na magnetskoj čestici te mjerenja signala. 1-antitijelo vezano za paramagnetsku česticu; 2-hormoni iz uzorka; 3-obilježeni hormon.

3.3.6. Anti-TPO

Uzorak, diluent i mikročestice obložene s tiroidnom peroxidazom (TPO) se inkubiraju. Anti-TPO iz uzorka vežu se na TPO na mikročesticama. Slijedi ispiranje. Nakon ispiranja dodaje se konjugat s anti-humanim IgG antitijelom obilježenim akrinidijem. Slijedi inkubacija i ispiranje. Zatim se u reakcijsku smjesu dodaju *Pre-Trigger* i *Trigger* otopina. Rezultat kemiluminiscentne reakcije je otpuštanje energije koje se izražava u relativnim jedinicama svjetlosti (engl. *relative light units*; *RLUs*). RLUs su izravno proporcionalne koncentraciji anti-TPO u uzorku (Slika 7).
Reagens:

- *Mikročestice*: Mikročestice obložene tiroidnom peroxidazom (rekombinantna) u MES puferu s proteinskim (goveđim) stabilizatorom.

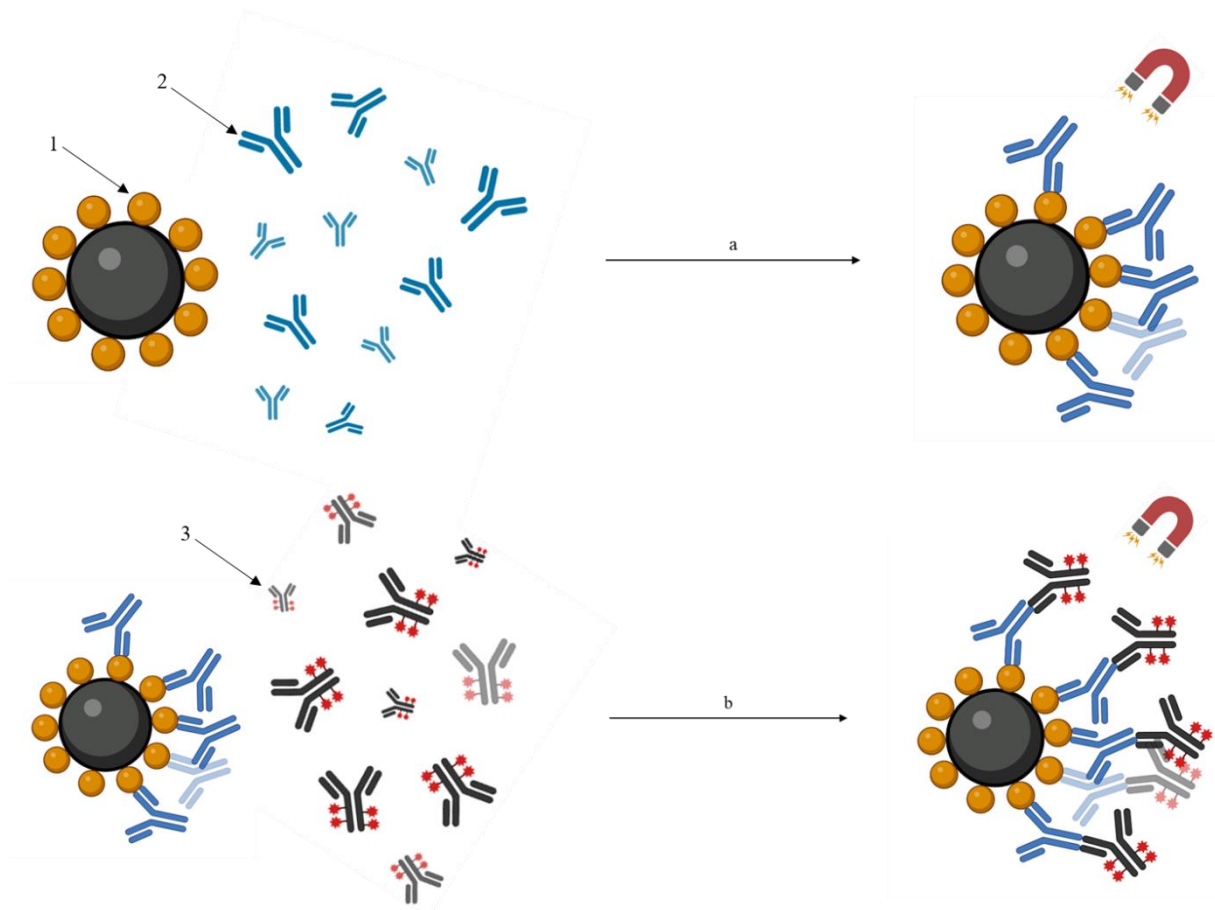
- *Konjugat*: Anti-humana IgG antitijela (mišja, monoklonska) obilježena akridinijem u MES puferu s proteinskim (goveđim) stabilizatorom.
- *Diluent*: MES pufer.
- *Pre-trigger otopina* (1,2 % vodikov peroksid – H₂O₂)
- *Trigger otopina* (0,35 M natrijev hidroksid – NaOH)

3.3.7. Anti-TG

Uzorak, diluent i mikročestice obložene s tireoglobulinom (TG) se inkubiraju. Anti-TG iz uzorka vežu se na TG na mikročesticama. Slijedi ispiranje. Nakon ispiranja dodaje se konjugat s anti-humanim IgG antitijelom obilježenim akrinidijem. Slijedi inkubacija i ispiranje. Zatim se u reakcijsku smjesu dodaju *Pre-Trigger* i *Trigger* otopina. Rezultat kemiluminiscentne reakcije je otpuštanje energije koje se izražava u relativnim jedinicama svjetlosti (engl. *relative light units; RLUs*). RLUs su izravno proporcionalne koncentraciji anti-TG u uzorku (Slika 7).

Reagens:

- *Mikročestice*: Mikročestice obložene tireoglobulinom u MES puferu s proteinskim (kozjim) stabilizatorom.
- *Konjugat*: Anti-humana IgG antitijela (mišja, monoklonska) obilježena akridinijem u MES puferu s proteinskim (goveđim) stabilizatorom.
- *Diluent*: MES pufer s proteinima (ovčjim).
- *Pre-trigger otopina* (1,2 % vodikov peroksid – H₂O₂)
- *Trigger otopina* (0,35 M natrijev hidroksid – NaOH)



Slika 7: Shema reakcije određivanja anti-TPO i anti-TG CMIA metodom. U prvom koraku (a) dolazi do vezanja antitijela iz uzorka na antigene vezane na paramagnetske čestice dok u drugom koraku (b) dolazi do vezanja obilježenog antitijela za vezano antitijelo (anti-TPO/anti-TG) iz uzorka te mjerenja signala. 1-antitijelo vezano za paramagnetsku česticu; 2-hormoni iz uzorka; 3-obilježeno antitijelo.

3.4. Obrada podataka

Mjerenja u svakoj definiranoj vremenskoj točki odrađena su u duplikatu i u daljnjoj se obradi podataka koristila aritmetička sredina ta dva mjerenja.

Kako se gubitak stabilnosti definira kao razlika između koncentracije izmjerene u nultoj vremenskoj točki i svake druge točno definirane vremenske točke, izračunato je relativno odstupanje za svaku vremensku točku u odnosu na nultu vremensku točku te izraženo kao postotak odstupanja (engl. *percentage difference*; *PD*) prema jednadžbi 1:

$$PD (\%) = \frac{C_t - C_0}{C_0} \cdot 100 \%$$

Jednadžba 1: Formula za izračun PD (%); pri čemu je C_0 koncentracija analita (TSH, tT_3 , fT_3 , tT_4 , fT_4 , anti-TPO i anti-TG) u nultom trenutku, a C_t koncentracija analita (TSH, tT_3 , fT_3 , tT_4 , fT_4 , anti-TPO i anti-TG) u definiranim vremenskim točkama (preuzeto iz Gómez-Rioja i sur., 2019).

Iz izračunatih PD/% svih ispitanika u definiranim vremenskim točkama za pojedine testove izračunata je jednadžba nestabilnosti i grafički je prikazan pravac nestabilnosti. Jednadžba nestabilnosti definirana je kao umnožak nagiba pravca i vremena koje je proteklo od uzorkovanja dok je odsječak na y-osi nula zato što u nultom mjerenju ne postoji odstupanje (Jednadžba 2).

$$PD \% = a \cdot x$$

*Jednadžba 2: Prikaz izraza za jednadžbu nestabilnosti. PD/% - postotak odstupanja (engl. *percentage difference*); a – nagib pravca; x – vrijeme proteklo od uzorkovanja (preuzeto iz Cornes i sur., 2020)*

Iz izračunatih PD/% svih ispitanika u definiranim vremenskim točkama za pojedine testove izračunata je aritmetička sredina tih odstupanja. Srednji postotak odstupanja, $\overline{PD}/\%$, predstavlja prosječno odstupanje TSH, tT_3 , fT_3 , tT_4 , fT_4 , anti-TPO i anti-TG u definiranim vremenskim točkama.

Maksimalno dopušteno odstupanje tijekom vremena (engl. *maximum permissible difference*; *MPD/%*) je vrijednost izražena u postotku, a definira najveći dopušteni postotak odstupanja PD/% za pojedine testove. MPD je izračunat temeljem analitičkog koeficijenta varijacije i intraindividualne biološke varijacije prema formuli za svaki funkcijski test štitnjače:

$$MPD = \sqrt{(2,77 \cdot CV_a)^2 + (0,5 \cdot CV_b)^2}$$

Jednadžba 3: Formula za izračun MPD; pri čemu je CV_a analitički koeficijent varijacije kontrole kvalitete za razdoblje u kojem je istraživanje odrađeno, a CV_b je intraindividualna biološka varijacija za svaki pojedini test (TSH, tT₃, fT₃, tT₄, fT₄ te anti-TPO i anti-TG). (preuzeto iz Oddoze i sur., 2012)

Vrijednosti za CV_a izračunate su iz podataka unutarnje kontrole kvalitete za vremenski period istraživanja (između 3 razine kontrole za svaki test, prezet je najveći dobiveni CV_a) dok su vrijednosti za CV_b preuzete iz dviju baza podataka: *Desirable Biological Variation Database specifications (Westgard QC)* i *EFLM Biological Variation Database*. Vrijednosti CV_b za TSH, tT₃, fT₃, tT₄, fT₄ preuzete su iz *EFLM Biological Variation Database*, a vrijednosti za anti-TPO i anti-TG iz *Desirable Biological Variation Database specifications (Westgard QC)*. U tablici 1 prikazane su vrijednosti za CV_a , CV_b te izračunate MPD za pojedine analite.

Tablica 1: Prikaz CV_a (analitički koeficijent varijacije), CV_b (intraindividualni koeficijent varijacije) i MPD (engl. maximum permissible difference) za pojedine funkcijske pretrage štitnjače.

Analit	Analitički koeficijent varijacije (CV_a)	Intraindividualna biološka varijacija (CV_b)	Maximum permissible difference (MPD)
TSH	5,40 %	17,70 %	17,38 %
tT ₄	3,80 %	6,40 %	11,00 %
tT ₃	3,60 %	9,40 %	11,02 %
fT ₄	5,80 %	4,90 %	16,25 %
fT ₃	4,40 %	5,00 %	12,44 %
Anti-TPO	6,20 %	11,30 %	18,08 %
Anti-TG	4,40 %	8,50 %	12,91 %

Grafički prikazi izrađeni su pomoću *MedCalc* statističkog programa i *Microsoft Excel*.

Detekcija stršećih vrijednosti odrađena je pomoću statističkog programa *MedCalc*. Izradom kutijastog dijagrama (engl. *Box and whisker plot*) izdvojene su stršeće vrijednosti za svaki pojedini analit. Stršeće su vrijednosti uključene u statističku obradu kao što je preporučeno prema uputama Radne grupe za predanalitiku EFLM-a (Cornes i sur., 2020).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Rezultati

Tablica 2: Prikaz izmjerenih koncentracija tireotropina (TSH/mIU/L), izračunatih postotaka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) i srednjeg postotka odstupanja (\overline{PD} /%) u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

TSH, mIU/L		0 h	4 h _{ST}	8 h _{ST}	24 h _{TH}	48 h _{TH}	72 h _{TH}
Ispitanik 1	Mjerenje 1	2,494	2,520	2,564	2,574	2,630	2,629
	Mjerenje 2	2,480	2,556	2,554	2,621	2,614	2,575
	Aritmetička sredina	2,487	2,538	2,559	2,598	2,622	2,602
	PD		2,1 %	2,9 %	4,4 %	5,4 %	4,6 %
Ispitanik 2	Mjerenje 1	2,482	2,905	3,030	2,866	3,009	2,982
	Mjerenje 2	2,771	2,850	2,928	2,855	3,012	2,909
	Aritmetička sredina	2,627	2,878	2,979	2,861	3,011	2,946
	PD		9,6 %	13,4 %	8,9 %	14,6 %	12,1 %
Ispitanik 3	Mjerenje 1	5,217	5,961	6,067	6,023	6,018	6,056
	Mjerenje 2	5,882	5,970	6,101	5,981	5,920	6,205
	Aritmetička sredina	5,550	5,966	6,084	6,002	5,969	6,131
	PD		7,5 %	9,6 %	8,2 %	7,6 %	10,5 %
Ispitanik 4	Mjerenje 1	1,615	1,671	1,743	1,675	1,704	1,667
	Mjerenje 2	1,649	1,576	1,768	1,634	1,761	1,746
	Aritmetička sredina	1,632	1,624	1,756	1,655	1,733	1,707
	PD		-0,5 %	7,6 %	1,4 %	6,2 %	4,6 %
Ispitanik 5	Mjerenje 1	1,237	1,244	1,299	1,328	1,300	1,191
	Mjerenje 2	1,243	1,298	1,333	1,290	1,300	1,287
	Aritmetička sredina	1,240	1,271	1,316	1,309	1,300	1,239
	PD		2,5 %	6,1 %	5,6 %	4,8 %	-0,1 %
Ispitanik 6	Mjerenje 1	15,987	16,164	14,934	16,892	17,032	16,360
	Mjerenje 2	15,600	15,782	17,117	16,668	17,595	16,628
	Aritmetička sredina	15,794	15,973	16,026	16,780	17,314	16,494
	PD		1,1 %	1,5 %	6,2 %	9,6 %	4,4 %
Ispitanik 7	Mjerenje 1	3,126	3,208	3,179	3,166	3,279	3,137
	Mjerenje 2	3,150	3,082	3,161	3,240	3,179	3,132
	Aritmetička sredina	3,138	3,145	3,170	3,203	3,229	3,135
	PD		0,2 %	1,0 %	2,1 %	2,7 %	-0,1 %
Ispitanik 8	Mjerenje 1	1,648	1,689	1,646	1,656	1,710	1,723

	Mjerenje 2	1,642	1,720	1,629	1,673	1,701	1,677
	Aritmetička sredina	1,645	1,705	1,638	1,665	1,706	1,700
	PD		3,6 %	-0,5 %	1,2 %	3,7 %	3,3 %
Ispitanik 9	Mjerenje 1	0,330	0,345	0,334	0,352	0,348	0,344
	Mjerenje 2	0,327	0,340	0,345	0,357	0,349	0,343
	Aritmetička sredina	0,329	0,343	0,340	0,355	0,349	0,344
	PD		4,3 %	3,3 %	7,9 %	6,1 %	4,6 %
Ispitanik 10	Mjerenje 1	0,967	0,977	0,995	0,997	1,013	0,972
	Mjerenje 2	0,990	0,973	1,018	0,938	1,017	0,947
	Aritmetička sredina	0,979	0,975	1,007	0,968	1,015	0,960
	PD		-0,4 %	2,9 %	-1,1 %	3,7 %	-1,9 %
Srednji postotak odstupanja, $\overline{PD}/\%$			3,0 %	4,8 %	4,5 %	6,4 %	4,2 %

Tablica 3: Prikaz izmjerenih koncentracija ukupnog tiroksina (tT_4 /nmol/L), izračunatih postotaka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) i srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}-mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

tT_4 , nmol/L		0 h	4 h _{ST}	8 h _{ST}	24 h _{TH}	48 h _{TH}	72 h _{TH}
Ispitanik 1	Mjerenje 1	72,00	71,33	74,81	71,28	76,04	82,46
	Mjerenje 2	71,71	69,18	74,74	71,25	75,75	79,55
	Aritmetička sredina	71,86	70,26	74,78	71,27	75,90	81,01
	PD		-2,2 %	4,1 %	-0,8 %	5,6 %	12,7 %
Ispitanik 2	Mjerenje 1	109,47	109,34	113,56	111,74	113,30	117,11
	Mjerenje 2	112,33	100,67	112,50	110,23	110,76	115,95
	Aritmetička sredina	110,90	105,01	113,03	110,99	112,03	116,53
	PD		-5,3 %	1,9 %	0,1 %	1,0 %	5,1 %
Ispitanik 3	Mjerenje 1	102,97	102,44	104,78	103,77	110,59	106,56
	Mjerenje 2	101,62	102,60	104,76	104,43	107,95	107,68
	Aritmetička sredina	102,30	102,52	104,77	104,10	109,27	107,12
	PD		0,2 %	2,4 %	1,8 %	6,8 %	4,7 %
Ispitanik 4	Mjerenje 1	83,79	80,53	84,08	81,16	83,96	84,52
	Mjerenje 2	82,79	80,36	85,67	81,03	83,67	81,10
	Aritmetička sredina	83,29	80,45	84,88	81,10	83,82	82,81
	PD		-3,4 %	1,9 %	-2,6 %	0,6 %	-0,6 %
Ispitanik 5	Mjerenje 1	105,58	101,24	104,90	108,61	105,92	108,16
	Mjerenje 2	101,96	102,09	105,06	109,29	108,00	111,32

	Aritmetička sredina	103,77	101,67	104,98	108,95	106,96	109,74
	PD		-2,0 %	1,2 %	5,0 %	3,1 %	5,8 %
Ispitanik 6	Mjerenje 1	88,66	92,61	100,33	89,20	91,73	90,60
	Mjerenje 2	86,86	91,03	99,19	91,81	89,88	91,33
	Aritmetička sredina	87,76	91,82	99,76	90,51	90,81	90,97
	PD		4,6 %	13,7 %	3,1 %	3,5 %	3,7 %
Ispitanik 7	Mjerenje 1	112,91	96,47	95,65	98,07	93,58	95,53
	Mjerenje 2	102,87	100,32	102,15	93,29	96,62	97,11
	Aritmetička sredina	107,89	98,40	98,90	95,68	95,10	96,32
	PD		-8,8 %	-8,3 %	-11,3 %	-11,9 %	-10,7 %
Ispitanik 8	Mjerenje 1	135,15	137,34	143,21	143,45	131,89	143,75
	Mjerenje 2	140,50	140,05	139,17	145,38	142,37	144,03
	Aritmetička sredina	137,83	138,70	141,19	144,42	137,13	143,89
	PD		0,6 %	2,4 %	4,8 %	-0,5 %	4,4 %
Ispitanik 9	Mjerenje 1	127,50	135,60	138,58	142,08	138,29	139,61
	Mjerenje 2	133,02	134,31	140,17	136,73	140,32	136,71
	Aritmetička sredina	130,26	134,96	139,38	139,41	139,31	138,16
	PD		3,6 %	7,0 %	7,0 %	6,9 %	6,1 %
Ispitanik 10	Mjerenje 1	113,64	118,91	118,39	120,50	116,65	119,46
	Mjerenje 2	114,05	116,50	117,06	117,86	119,76	122,00
	Aritmetička sredina	113,85	117,71	117,73	119,18	118,21	120,73
	PD		3,4 %	3,4 %	4,7 %	3,8 %	6,0 %
Srednji postotak odstupanja, $\overline{PD}/\%$			-0,9 %	3,0 %	1,2 %	1,9 %	3,7 %

Tablica 4: Prikaz izmjerenih koncentracija ukupnog trijodtironina (tT_3 /nmol/L), izračunatih postotaka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) i srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}-mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

tT_3 , nmol/L		0 h	4 h _{ST}	8 h _{ST}	24 h _{TH}	48 h _{TH}	72 h _{TH}
Ispitanik 1	Mjerenje 1	1,40	1,40	1,46	1,46	1,48	1,43
	Mjerenje 2	1,39	1,37	1,47	1,43	1,41	1,46
	Aritmetička sredina	1,40	1,39	1,47	1,45	1,45	1,45
	PD		-0,7 %	5,0 %	3,6 %	3,6 %	3,6 %
Ispitanik 2	Mjerenje 1	1,42	1,46	1,49	1,53	1,51	1,49
	Mjerenje 2	1,43	1,48	1,43	1,49	1,49	1,54
	Aritmetička sredina	1,43	1,47	1,46	1,51	1,50	1,52

	PD	3,2 %	2,5 %	6,0 %	5,3 %	6,3 %	
Ispitanik 3	Mjerenje 1	1,66	1,68	1,63	1,70	1,69	1,63
	Mjerenje 2	1,59	1,68	1,65	1,65	1,67	1,68
	Aritmetička sredina	1,63	1,68	1,64	1,68	1,68	1,66
	PD	3,4 %	0,9 %	3,1 %	3,4 %	1,8 %	
Ispitanik 4	Mjerenje 1	1,32	1,33	1,34	1,33	1,35	1,37
	Mjerenje 2	1,30	1,25	1,38	1,32	1,33	1,36
	Aritmetička sredina	1,31	1,29	1,36	1,33	1,34	1,37
	PD	-1,5 %	3,8 %	1,1 %	2,3 %	4,2 %	
Ispitanik 5	Mjerenje 1	1,83	1,87	1,84	2,02	1,66	1,74
	Mjerenje 2	1,80	1,84	1,83	2,03	1,72	1,69
	Aritmetička sredina	1,82	1,86	1,84	2,03	1,69	1,72
	PD	2,2 %	1,1 %	11,6 %	-6,9 %	-5,5 %	
Ispitanik 6	Mjerenje 1	2,28	2,27	2,28	2,45	2,06	2,11
	Mjerenje 2	2,20	2,27	2,35	2,47	2,05	2,03
	Aritmetička sredina	2,24	2,27	2,32	2,46	2,06	2,07
	PD	1,3 %	3,3 %	9,8 %	-8,3 %	-7,6 %	
Ispitanik 7	Mjerenje 1	4,93	4,96	4,82	5,06	5,18	5,71
	Mjerenje 2	5,20	5,12	5,01	4,80	5,31	5,69
	Aritmetička sredina	5,07	5,04	4,92	4,93	5,25	5,70
	PD	-0,5 %	-3,0 %	-2,7 %	3,6 %	12,5 %	
Ispitanik 8	Mjerenje 1	2,40	2,43	2,54	2,50	2,70	2,65
	Mjerenje 2	2,42	2,42	2,46	2,62	2,61	2,61
	Aritmetička sredina	2,41	2,43	2,50	2,56	2,66	2,63
	PD	0,6 %	3,7 %	6,2 %	10,2 %	9,1 %	
Ispitanik 9	Mjerenje 1	1,61	1,57	1,61	1,63	1,69	1,65
	Mjerenje 2	1,59	1,62	1,58	1,65	1,69	1,69
	Aritmetička sredina	1,60	1,60	1,60	1,64	1,69	1,67
	PD	-0,3 %	-0,3 %	2,5 %	5,6 %	4,4 %	
Ispitanik 10	Mjerenje 1	1,62	1,56	1,60	1,63	1,62	1,66
	Mjerenje 2	1,56	1,58	1,56	1,64	1,65	1,64
	Aritmetička sredina	1,59	1,57	1,58	1,64	1,64	1,65
	PD	-1,3 %	-0,6 %	2,8 %	2,8 %	3,8 %	
Srednji postotak odstupanja, $\overline{PD}/\%$		0,6 %	1,6 %	4,4 %	2,2 %	3,3 %	

Tablica 5: Prikaz izmjerenih koncentracija slobodnog tiroksina (fT_4 /pmol/L), izračunatih postotaka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) i srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}-mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku

(2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerjenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

fT ₄ , pmol/L		0 h	4 h _{ST}	8 h _{ST}	24 h _{TH}	48 h _{TH}	72 h _{TH}
Ispitanik 1	Mjerenje 1	15,00	14,07	14,60	13,92	14,45	13,47
	Mjerenje 2	15,05	15,09	14,20	14,00	14,59	13,74
	Aritmetička sredina	15,03	14,58	14,40	13,96	14,52	13,61
	PD		-3,0 %	-4,2 %	-7,1 %	-3,4 %	-9,5 %
Ispitanik 2	Mjerenje 1	20,75	21,23	21,20	21,44	21,05	23,38
	Mjerenje 2	21,12	21,81	21,31	22,07	22,45	22,75
	Aritmetička sredina	20,94	21,52	21,26	21,76	21,75	23,07
	PD		2,8 %	1,5 %	3,9 %	3,9 %	10,2 %
Ispitanik 3	Mjerenje 1	8,55	8,88	8,45	9,55	9,16	8,62
	Mjerenje 2	8,72	8,65	9,00	8,88	8,98	8,68
	Aritmetička sredina	8,64	8,77	8,73	9,22	9,07	8,65
	PD		1,5 %	1,0 %	6,7 %	5,0 %	0,2 %
Ispitanik 4	Mjerenje 1	11,77	12,55	12,30	12,07	12,80	11,71
	Mjerenje 2	12,00	12,29	12,73	11,87	13,04	11,91
	Aritmetička sredina	11,89	12,42	12,52	11,97	12,92	11,81
	PD		4,5 %	5,3 %	0,7 %	8,7 %	-0,6 %
Ispitanik 5	Mjerenje 1	13,74	14,17	13,84	14,19	14,76	13,44
	Mjerenje 2	13,95	13,90	14,01	14,19	14,92	13,72
	Aritmetička sredina	13,85	14,04	13,93	14,19	14,84	13,58
	PD		1,4 %	0,6 %	2,5 %	7,2 %	-1,9 %
Ispitanik 6	Mjerenje 1	11,72	11,80	11,51	11,88	12,27	11,76
	Mjerenje 2	11,42	11,67	11,65	12,16	12,13	11,71
	Aritmetička sredina	11,57	11,74	11,58	12,02	12,20	11,74
	PD		1,4 %	0,1 %	3,9 %	5,4 %	1,4 %
Ispitanik 7	Mjerenje 1	14,27	14,04	13,38	13,97	14,19	13,29
	Mjerenje 2	14,23	14,55	13,56	13,60	14,07	13,54
	Aritmetička sredina	14,25	14,30	13,47	13,79	14,13	13,42
	PD		0,3 %	-5,5 %	-3,3 %	-0,8 %	-5,9 %
Ispitanik 8	Mjerenje 1	12,19	12,59	12,61	12,07	12,80	12,32
	Mjerenje 2	12,27	12,53	12,44	12,02	12,97	12,15
	Aritmetička sredina	12,23	12,56	12,53	12,05	12,89	12,24
	PD		2,7 %	2,4 %	-1,5 %	5,4 %	0,0 %
Ispitanik 9	Mjerenje 1	8,24	7,98	7,58	9,03	9,02	7,94
	Mjerenje 2	7,84	8,20	8,20	9,85	8,46	7,73
	Aritmetička sredina	8,04	8,09	7,89	9,44	8,74	7,84
	PD		0,6 %	-1,9 %	17,4 %	8,7 %	-2,5 %
Ispitanik 10	Mjerenje 1	19,77	20,54	20,91	21,08	19,76	20,89
	Mjerenje 2	20,70	19,96	20,11	20,66	20,60	22,36
	Aritmetička sredina	20,24	20,25	20,51	20,87	20,18	21,63
	PD		0,1 %	1,4 %	3,1 %	-0,3 %	6,9 %

Srednji postotak odstupanja, $\overline{PD}/\%$	1,2 %	0,1 %	2,6 %	4,0 %	-0,2 %
---	-------	-------	-------	-------	--------

Tablica 6: Prikaz izmjerenih koncentracija slobodnog trijodtironina (fT_3 /pmol/L), izračunatih postotaka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) i srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}-mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

fT_3 , pmol/L		0 h	4 h _{ST}	8 h _{ST}	24 h _{TH}	48 h _{TH}	72 h _{TH}
Ispitanik 1	Mjerenje 1	4,70	4,61	4,35	4,88	4,74	4,80
	Mjerenje 2	4,77	4,70	4,38	4,66	4,78	4,71
	Aritmetička sredina	4,74	4,66	4,37	4,77	4,76	4,76
	PD		-1,7 %	-7,8 %	0,7 %	0,5 %	0,4 %
Ispitanik 2	Mjerenje 1	4,05	4,22	4,21	4,29	4,39	4,29
	Mjerenje 2	4,14	4,09	4,30	4,21	4,40	4,24
	Aritmetička sredina	4,10	4,16	4,26	4,25	4,40	4,27
	PD		1,5 %	3,9 %	3,8 %	7,3 %	4,2 %
Ispitanik 3	Mjerenje 1	4,85	5,10	5,21	5,05	5,30	5,31
	Mjerenje 2	5,04	5,07	5,16	5,20	5,42	5,17
	Aritmetička sredina	4,95	5,09	5,19	5,13	5,36	5,24
	PD		2,8 %	4,9 %	3,6 %	8,4 %	6,0 %
Ispitanik 4	Mjerenje 1	4,05	4,17	4,17	4,13	4,19	4,33
	Mjerenje 2	4,12	4,07	4,17	4,01	4,12	4,27
	Aritmetička sredina	4,09	4,12	4,17	4,07	4,16	4,30
	PD		0,9 %	2,1 %	-0,4 %	1,7 %	5,3 %
Ispitanik 5	Mjerenje 1	4,54	4,53	4,29	4,53	4,55	4,76
	Mjerenje 2	4,51	4,35	4,50	4,43	4,71	4,62
	Aritmetička sredina	4,53	4,44	4,40	4,48	4,63	4,69
	PD		-1,9 %	-2,9 %	-1,0 %	2,3 %	3,6 %
Ispitanik 6	Mjerenje 1	4,52	4,69	4,51	4,60	4,69	4,71
	Mjerenje 2	4,56	4,75	4,68	4,57	4,90	4,72
	Aritmetička sredina	4,54	4,72	4,60	4,59	4,80	4,72
	PD		4,0 %	1,2 %	1,0 %	5,6 %	3,9 %
Ispitanik 7	Mjerenje 1	5,04	4,87	5,07	5,15	5,29	5,26
	Mjerenje 2	4,89	5,14	5,18	5,28	4,98	5,43
	Aritmetička sredina	4,97	5,01	5,13	5,22	5,14	5,35
	PD		0,8 %	3,2 %	5,0 %	3,4 %	7,7 %
Ispitanik 8	Mjerenje 1	6,27	6,30	6,40	6,49	6,01	6,45

	Mjerenje 2	6,26	6,27	6,34	6,34	5,89	6,45
	Aritmetička sredina	6,27	6,29	6,37	6,42	5,95	6,45
	PD		0,3 %	1,7 %	2,4 %	-5,0 %	3,0 %
Ispitanik 9	Mjerenje 1	5,70	5,15	5,44	5,35	5,86	5,81
	Mjerenje 2	6,21	5,04	5,24	5,47	5,33	5,79
	Aritmetička sredina	5,96	5,10	5,34	5,41	5,60	5,80
	PD		-14,4 %	-10,3 %	-9,2 %	-6,0 %	-2,6 %
Ispitanik 10	Mjerenje 1	5,07	5,12	5,24	5,25	5,54	5,60
	Mjerenje 2	5,20	5,03	5,11	5,34	5,34	5,61
	Aritmetička sredina	5,14	5,08	5,18	5,30	5,44	5,61
	PD		-1,2 %	0,8 %	3,1 %	5,9 %	9,2 %
Srednji postotak odstupanja, $\overline{PD}/\%$			-0,9 %	-0,3 %	0,9 %	2,4 %	4,0 %

Tablica 7: Prikaz izmjerenih koncentracija antitijela na tiroidnu peroksidazu (anti-TPO/IU/L), izračunatih postotaka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) i srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Anti-TPO, IU/L		0 h	4 h _{ST}	8 h _{ST}	24 h _{TH}	48 h _{TH}	72 h _{TH}
Ispitanik 1	Mjerenje 1	129,10	144,01	146,28	145,74	147,86	146,47
	Mjerenje 2	139,49	146,94	141,98	142,41	148,23	146,75
	Aritmetička sredina	134,30	145,48	144,13	144,08	148,05	146,61
	PD		8,3 %	7,3 %	7,3 %	10,2 %	9,2 %
Ispitanik 2	Mjerenje 1	331,66	331,20	331,55	327,37	324,33	340,99
	Mjerenje 2	324,18	324,80	348,37	326,92	320,26	332,54
	Aritmetička sredina	327,92	328,00	339,96	327,15	322,30	336,77
	PD		0,0 %	3,7 %	-0,2 %	-1,7 %	2,7 %
Ispitanik 3	Mjerenje 1	4,75	4,95	5,25	4,83	5,36	5,10
	Mjerenje 2	4,81	4,91	4,86	5,40	4,89	5,16
	Aritmetička sredina	4,78	4,93	5,06	5,12	5,13	5,13
	PD		3,1 %	5,8 %	7,0 %	7,2 %	7,3 %
Ispitanik 4	Mjerenje 1	251,74	258,97	252,37	261,57	250,83	258,37
	Mjerenje 2	254,66	260,77	263,18	260,34	252,13	262,17
	Aritmetička sredina	253,20	259,87	257,78	260,96	251,48	260,27
	PD		2,6 %	1,8 %	3,1 %	-0,7 %	2,8 %
Ispitanik 5	Mjerenje 1	493,61	537,68	522,57	526,09	526,18	523,63
	Mjerenje 2	547,19	547,54	509,26	552,18	505,99	535,98

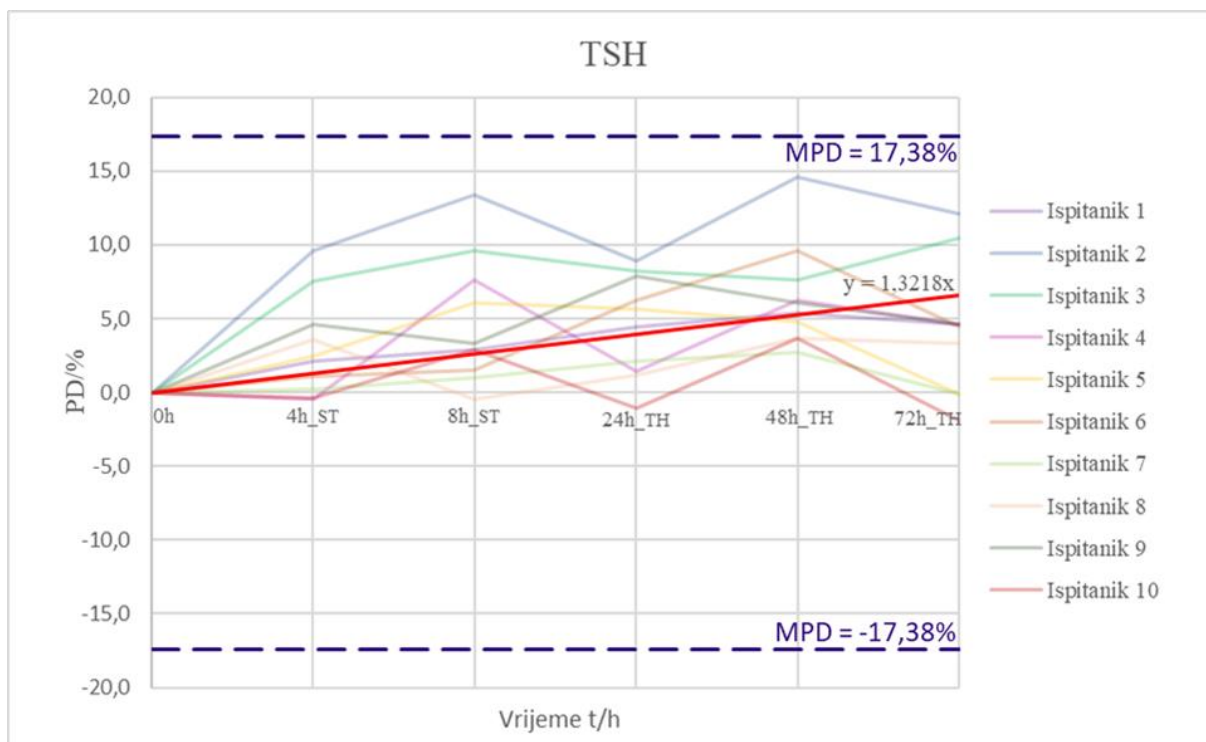
	Aritmetička sredina	520,40	542,61	515,92	539,14	516,09	529,81
	PD		4,3 %	-0,9 %	3,6 %	-0,8 %	1,8 %
Ispitanik 6	Mjerenje 1	606,84	605,56	571,66	615,10	676,63	584,33
	Mjerenje 2	585,33	601,60	617,63	613,54	661,68	618,28
	Aritmetička sredina	596,09	603,58	594,65	614,32	669,16	601,31
	PD		1,3 %	-0,2 %	3,1 %	12,3 %	0,9 %
Ispitanik 7	Mjerenje 1	88,73	89,62	90,52	87,91	89,38	88,79
	Mjerenje 2	91,01	93,67	95,41	90,52	92,11	90,49
	Aritmetička sredina	89,87	91,65	92,97	89,22	90,75	89,64
	PD		2,0 %	3,4 %	-0,7 %	1,0 %	-0,3 %
Ispitanik 8	Mjerenje 1	61,65	65,29	63,53	61,32	62,49	61,16
	Mjerenje 2	62,96	63,60	65,20	62,73	63,82	62,06
	Aritmetička sredina	62,31	64,45	64,37	62,03	63,16	61,61
	PD		3,4 %	3,3 %	-0,4 %	1,4 %	-1,1 %
Ispitanik 9	Mjerenje 1	48,20	52,14	52,61	52,97	50,01	51,71
	Mjerenje 2	50,45	55,74	51,89	52,02	51,25	49,73
	Aritmetička sredina	49,33	53,94	52,25	52,50	50,63	50,72
	PD		9,4 %	5,9 %	6,4 %	2,6 %	2,8 %
Ispitanik 10	Mjerenje 1	14,89	15,24	15,57	14,57	15,57	14,94
	Mjerenje 2	15,00	15,75	14,63	14,83	14,65	14,76
	Aritmetička sredina	14,95	15,50	15,10	14,70	15,11	14,85
	PD		3,7 %	1,0 %	-1,6 %	1,1 %	-0,6 %
Srednji postotak odstupanja, $\overline{PD}/\%$			3,8 %	3,1 %	2,7 %	3,3 %	2,5 %

Tablica 8: Prikaz izmjerenih koncentracija antitijela na tireoglobulin (anti-TG/IU/L), izračunatih postotaka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) i srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}-mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Anti-TG, IU/L		0 h	4 h _{ST}	8 h _{ST}	24 h _{TH}	48 h _{TH}	72 h _{TH}
Ispitanik 1	Mjerenje 1	45,80	43,97	47,64	42,72	44,43	43,46
	Mjerenje 2	43,49	42,85	46,49	45,47	46,95	43,60
	Aritmetička sredina	44,65	43,41	47,07	44,10	45,69	43,53
	PD		-2,8 %	5,4 %	-1,2 %	2,3 %	-2,5 %
Ispitanik 2	Mjerenje 1	35,62	37,60	35,52	37,88	38,12	39,49
	Mjerenje 2	35,48	39,43	38,72	39,07	39,19	37,77
	Aritmetička sredina	35,55	38,52	37,12	38,48	38,66	38,63

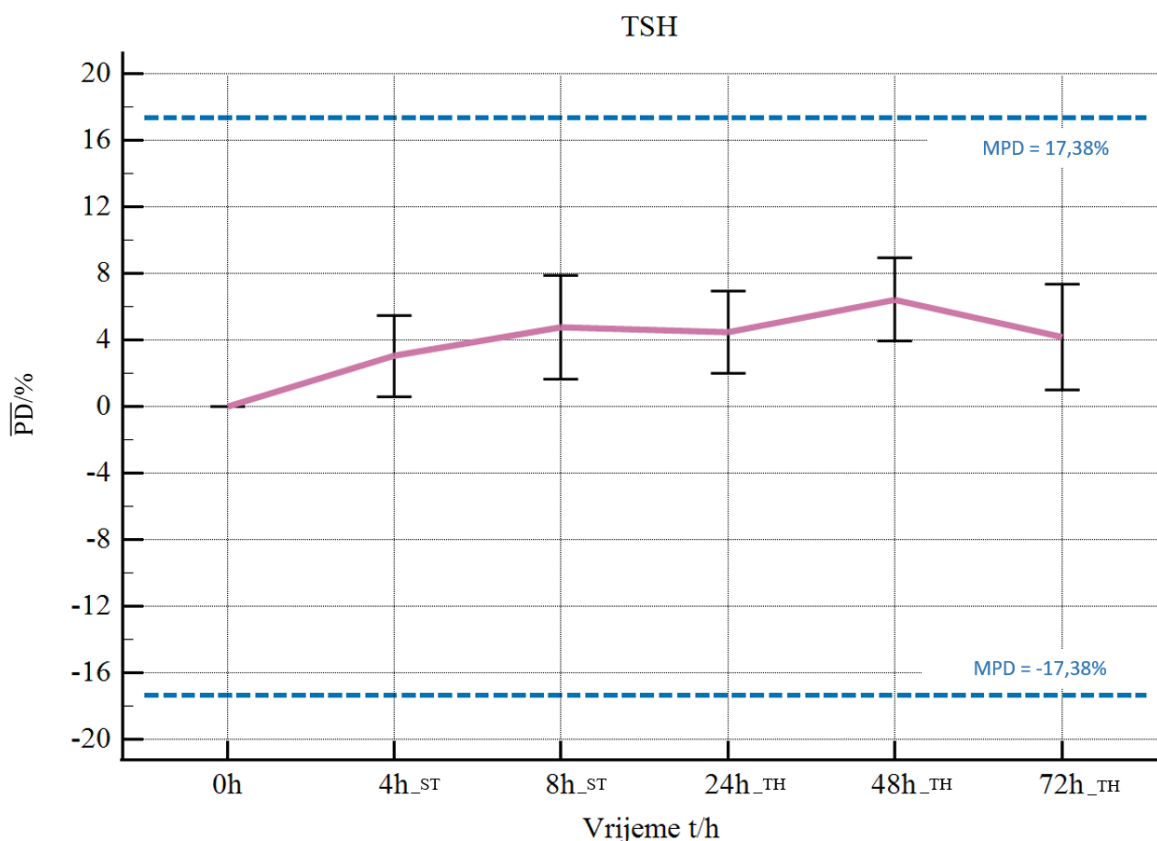
	PD	8,3 %	4,4 %	8,2 %	8,7 %	8,7 %	
Ispitanik 3	Mjerenje 1	97,87	97,23	94,77	96,91	100,06	102,03
	Mjerenje 2	99,71	98,41	98,64	96,78	98,35	101,66
	Aritmetička sredina	98,79	97,82	96,71	96,85	99,21	101,85
	PD	-1,0 %	-2,1 %	-2,0 %	0,4 %	3,1 %	
Ispitanik 4	Mjerenje 1	28,92	29,73	29,98	29,10	29,20	28,25
	Mjerenje 2	27,79	30,39	30,44	28,53	28,87	29,78
	Aritmetička sredina	28,36	30,06	30,21	28,82	29,04	29,02
	PD	6,0 %	6,5 %	1,6 %	2,4 %	2,3 %	
Ispitanik 5	Mjerenje 1	5,79	5,61	6,15	5,70	5,68	5,62
	Mjerenje 2	5,15	5,54	5,79	5,88	5,51	5,63
	Aritmetička sredina	5,47	5,58	5,97	5,79	5,60	5,63
	PD	1,9 %	9,1 %	5,9 %	2,3 %	2,8 %	
Ispitanik 6	Mjerenje 1	196,15	202,61	203,22	206,84	197,44	200,80
	Mjerenje 2	189,33	196,08	189,22	194,49	196,41	203,85
	Aritmetička sredina	192,74	199,35	196,22	200,67	196,93	202,33
	PD	3,4 %	1,8 %	4,1 %	2,2 %	5,0 %	
Ispitanik 7	Mjerenje 1	626,47	645,63	695,33	668,66	614,35	668,99
	Mjerenje 2	677,52	751,95	679,82	677,49	669,18	676,76
	Aritmetička sredina	652,00	698,79	687,58	673,08	641,77	672,88
	PD	7,2 %	5,5 %	3,2 %	-1,6 %	3,2 %	
Ispitanik 8	Mjerenje 1	37,42	38,33	38,86	38,94	35,81	37,84
	Mjerenje 2	37,84	38,96	39,27	37,94	37,75	36,98
	Aritmetička sredina	37,63	38,65	39,07	38,44	36,78	37,41
	PD	2,7 %	3,8 %	2,2 %	-2,3 %	-0,6 %	
Ispitanik 9	Mjerenje 1	64,98	63,93	68,41	65,69	65,05	66,00
	Mjerenje 2	64,30	68,23	62,65	67,42	67,89	66,50
	Aritmetička sredina	64,64	66,08	65,53	66,56	66,47	66,25
	PD	2,2 %	1,4 %	3,0 %	2,8 %	2,5 %	
Ispitanik 10	Mjerenje 1	340,60	356,98	378,01	341,82	346,61	347,78
	Mjerenje 2	378,28	373,17	365,34	341,72	359,50	359,22
	Aritmetička sredina	359,44	365,08	371,68	341,77	353,06	353,50
	PD	1,6 %	3,4 %	-4,9 %	-1,8 %	-1,7 %	
Srednji postotak odstupanja, $\overline{PD}/\%$		3,0 %	3,9 %	2,0 %	1,6 %	2,3 %	

U tablicama su prikazane izmjerene koncentracije pojedinih funkcijskih testova štitnjače, TSH, tT_3 , fT_3 , tT_4 , fT_4 , anti-TPO i anti-TG, izračunate srednje vrijednosti pojedinih mjerenja i izračunati postoci odstupanja (PD/%) u definiranim vremenskim točkama u odnosu na nultu vremensku točku i srednji postotak odstupanja ($\overline{PD}/\%$) dobiven računanjem aritmetičke sredine PD/% ispitanika u definiranim vremenskim točkama (Tablice 2 – 8).



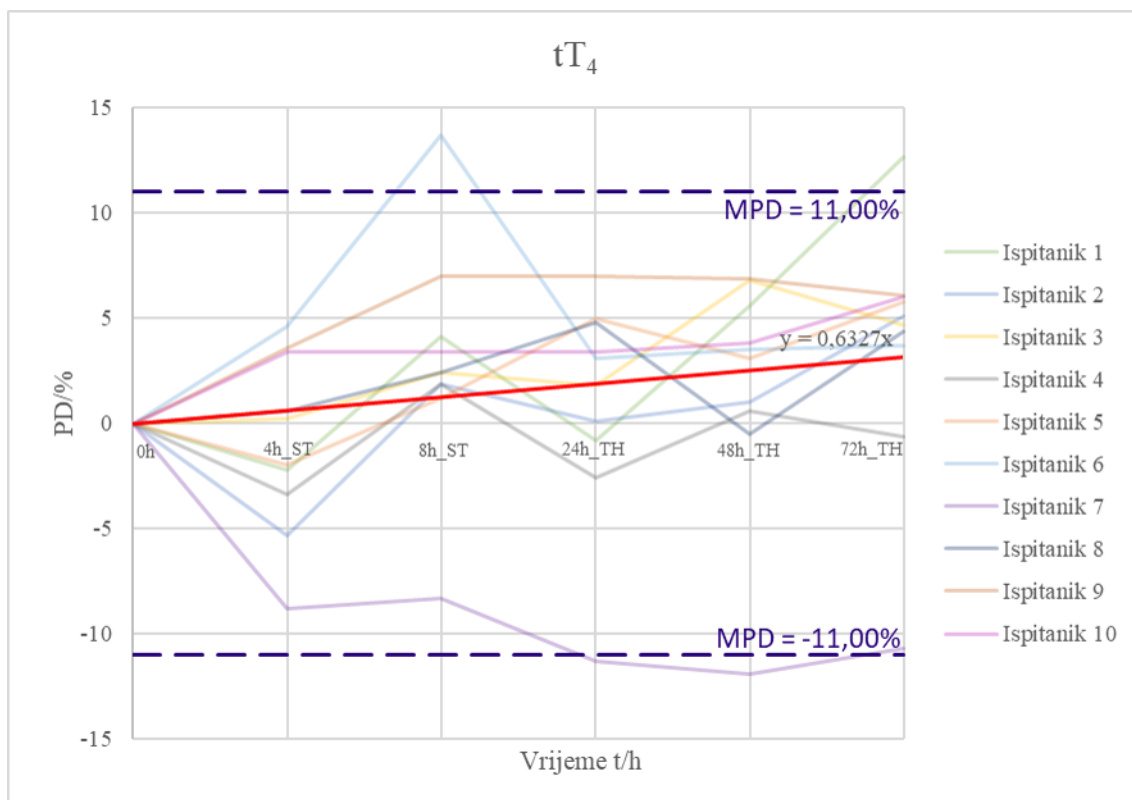
Slika 8: Prikaz postotka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) u definiranim vremenskim točkama kod deset ispitanika te pravca i jednadžbe nestabilnosti za tireotropin (TSH). MPD – izračunato maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference) (plave isprekidane linije); 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 8 prikazani su postoci odstupanja $\overline{PD}/\%$ za TSH u definiranim vremenskim točkama u odnosu na mjerenje u nultoj vremenskoj točki kod 10 ispitanika uz izračunatu jednadžbu nestabilnosti. Pravac nestabilnosti, definiran jednadžbom nestabilnosti, niti u jednoj vremenskoj točki ne sječe maksimalno dopušteno odstupanje koje iznosi $\pm 17,38\%$.



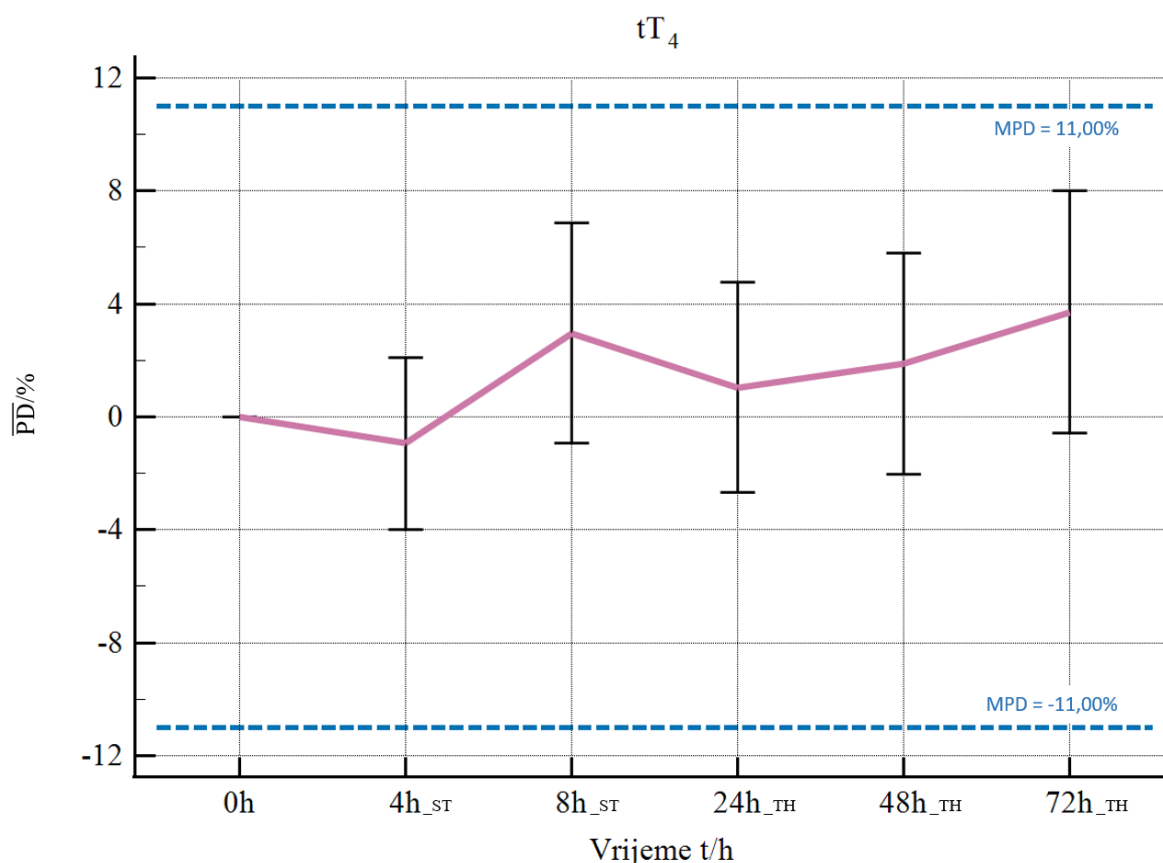
Slika 9: Prikaz srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) za tireotropin (TSH) u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h_{ST}, 8 h_{ST}, 24 h_{TH}, 48 h_{TH}, 72 h_{TH}) uz 95 %-tni interval pouzdanosti Plava isprekidana linija označava maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference; MPD/%) temeljeno na biološkoj varijabilnosti i koeficijentu varijacije. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 9 prikazano je kretanje srednjeg \overline{PD} za TSH u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. Uzorak je tijekom prvih osam sati stajao odčepljen na sobnoj temperaturi dok je preostalo vrijeme do 72 sata stajao začepljen u hladnjaku (2 – 8 °C). Najmanje srednje odstupanje opaženo je u vremenskoj točki 4 h_{ST} i iznosi 3,0 % dok je najveće srednje odstupanje dosegnuto u vremenskoj točki 48 h_{TH} i iznosi 6,4 %. Srednji postotak odstupanja \overline{PD} za pretragu TSH u svim definiranim vremenskim točkama ne prelazi izračunati MPD ($\pm 17,38\%$).



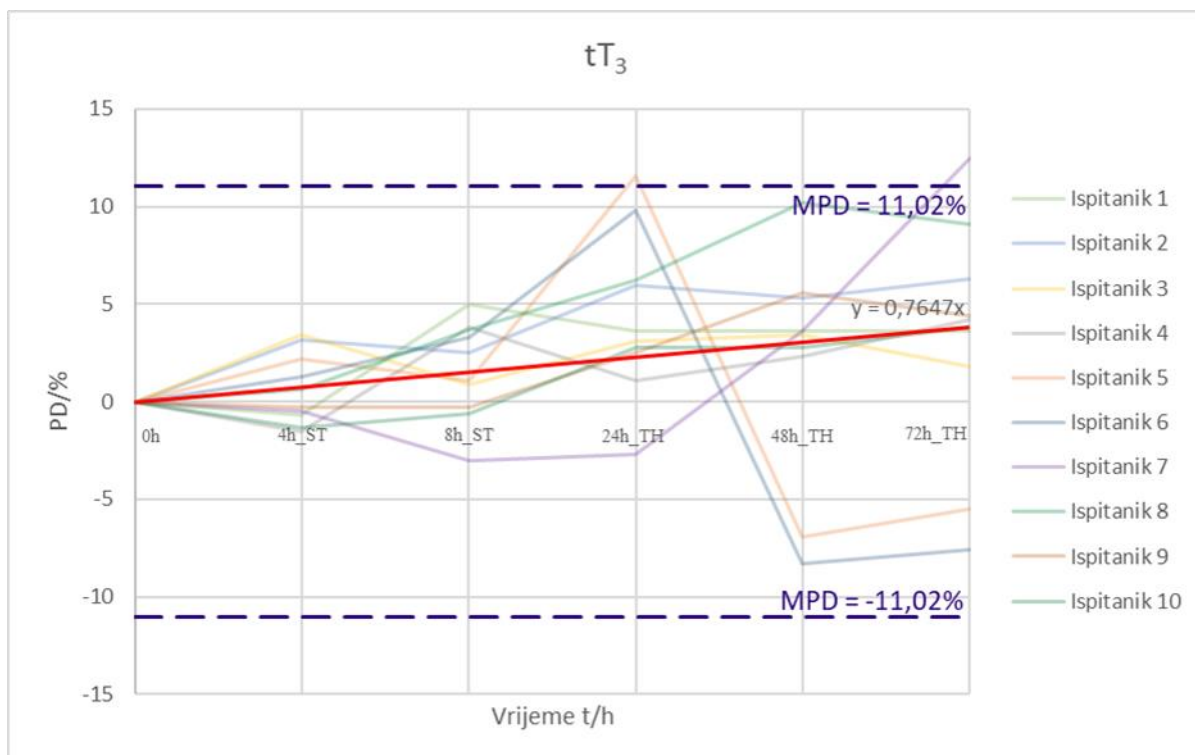
Slika 10: Prikaz postotka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) u definiranim vremenskim točkama kod deset ispitanika te pravca i jednadžbe nestabilnosti za ukupni tiroksin (tT_4). MPD – izračunato maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference) (plave isprekidane linije); 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 10 prikazani su postoci odstupanja PD % za tT_4 u definiranim vremenskim točkama u odnosu na mjerenje u nultoj vremenskoj točki kod 10 ispitanika uz izračunatu jednadžbu nestabilnosti. Pravac nestabilnosti, definiran jednadžbom nestabilnosti, niti u jednoj vremenskoj točki ne sječe maksimalno dopušteno odstupanje koje iznosi $\pm 11,00\%$.



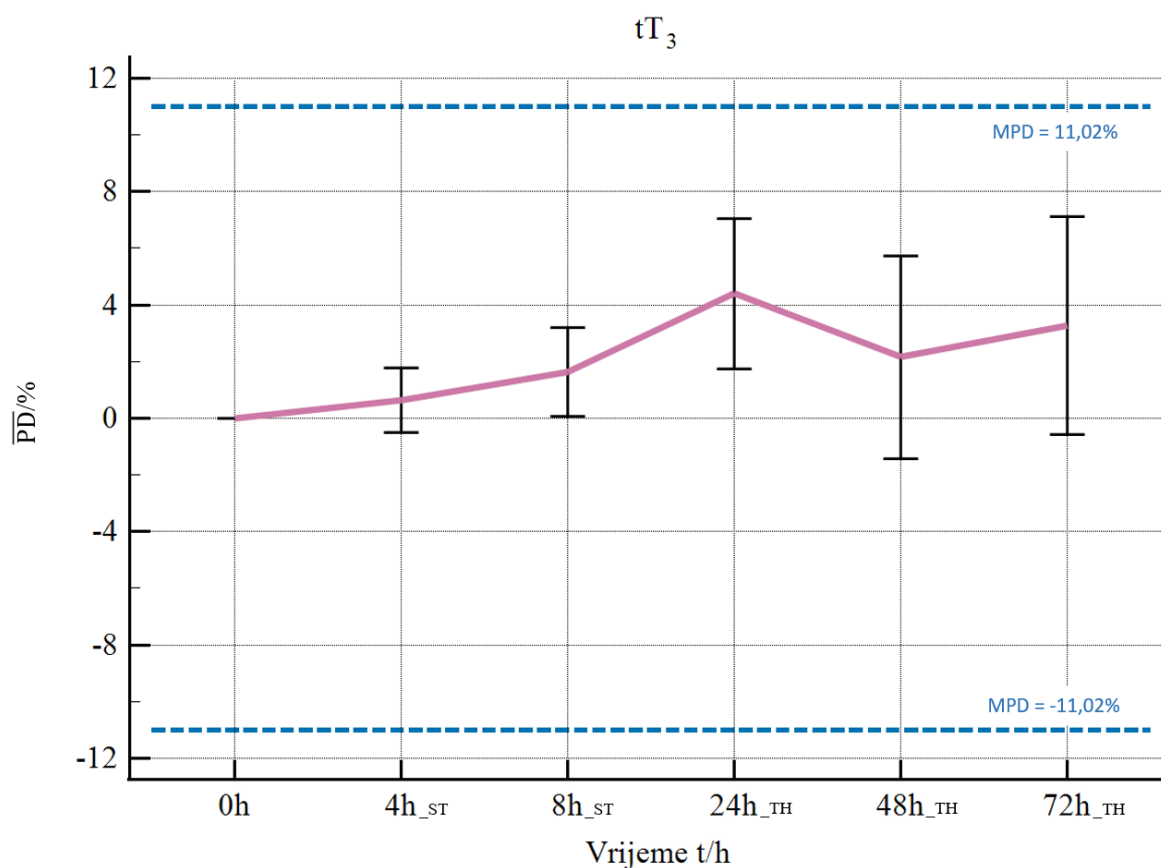
Slika 11: Prikaz srednjeg postotka odstupanja (\overline{PD} %) za ukupni tiroksin (tT_4) u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h_{ST}, 8 h_{ST}, 24 h_{TH}, 48 h_{TH}, 72 h_{TH}) uz 95 %-tni interval pouzdanosti. Plava isprekidana linija označava maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference; MPD/%) temeljeno na biološkoj varijabilnosti i koeficijentu varijacije. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 11 prikazano je kretanje srednjeg \overline{PD} za tT_4 u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. Uzorak je tijekom prvih osam sati stajao odčepljen na sobnoj temperaturi dok je preostalo vrijeme do 72 sata stajao začepljen u hladnjaku (2 – 8 °C). Najmanje srednje odstupanje opaženo je u vremenskoj točki 4 h_{ST} i iznosi -0,9 % dok je najveće srednje odstupanje dosegnuto u vremenskoj točki 72 h_{TH} i iznosi 3,7 %. Srednji postotak odstupanja \overline{PD} za pretragu tT_4 u svim definiranim vremenskim točkama ne prelazi izračunati MPD ($\pm 11,00$ %).



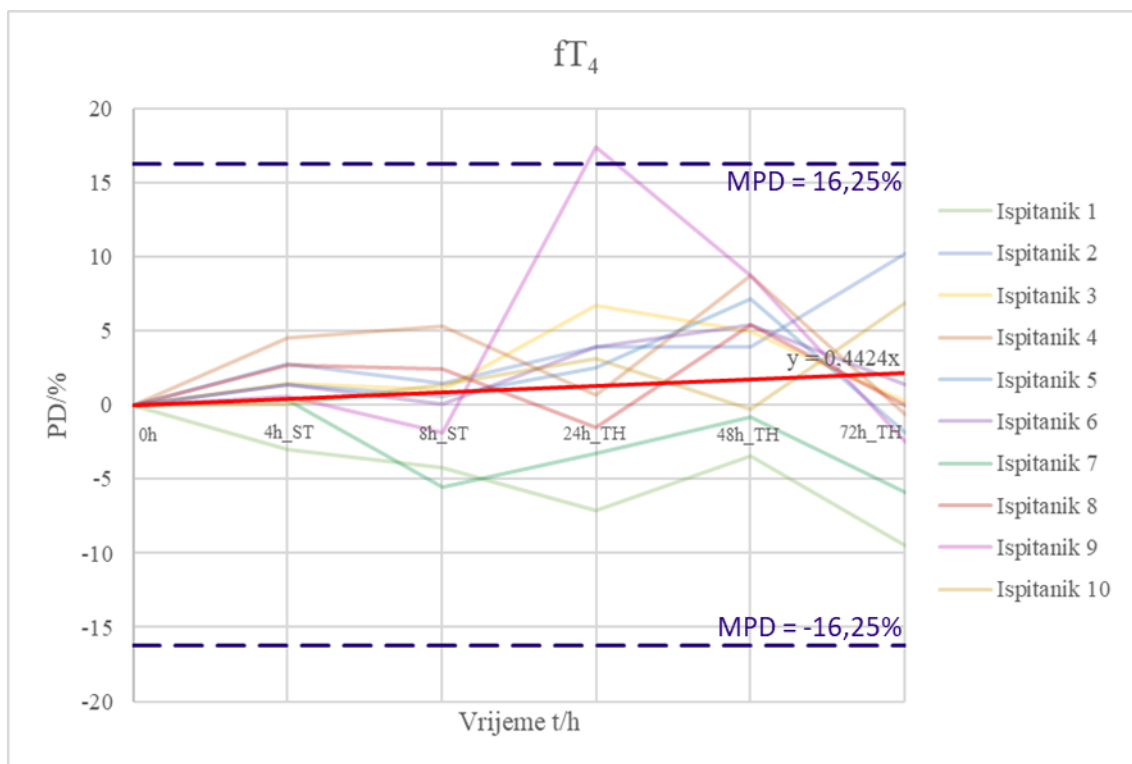
Slika 12: Prikaz postotka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) u definiranim vremenskim točkama kod deset ispitanika te pravca i jednadžbe nestabilnosti za ukupni trijodtironin (tT_3). MPD – izračunato maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference) (plave isprekidane linije); 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 12 prikazani su postoci odstupanja PD % za tT_3 u definiranim vremenskim točkama u odnosu na mjerenje u nultoj vremenskoj točki kod 10 ispitanika uz izračunatu jednadžbu nestabilnosti. Pravac nestabilnosti, definiran jednadžbom nestabilnosti, niti u jednoj vremenskoj točki ne sječe maksimalno dopušteno odstupanje koje iznosi $\pm 11,02\%$.



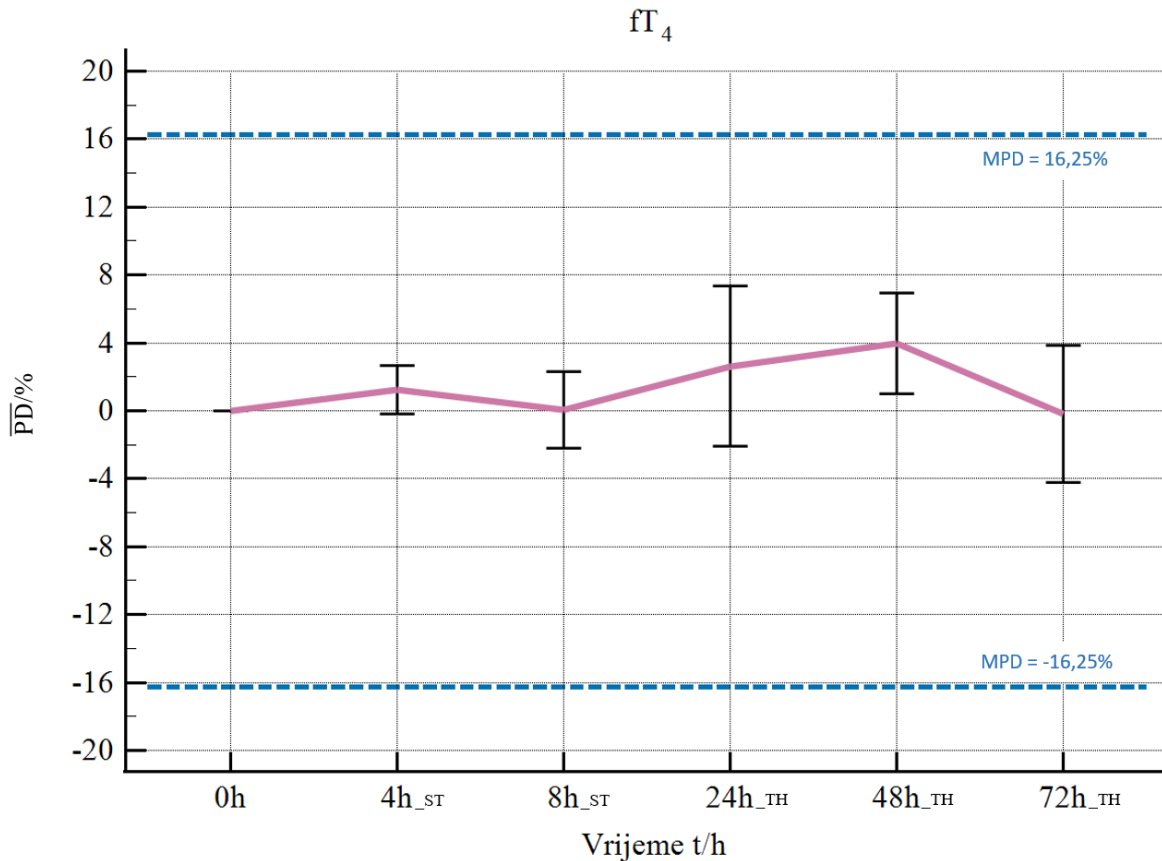
Slika 13: Prikaz srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) za ukupni trijodtironin (tT_3) u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h_{ST}, 8h_{ST}, 24 h_{TH}, 48 h_{TH}, 72 h_{TH}) uz 95 %-tni interval pouzdanosti Plava isprekidana linija označava maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference; MPD/%) temeljeno na biološkoj varijabilnosti i koeficijentu varijacije. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 13 prikazano je kretanje srednjeg $\overline{PD}/\%$ za tT_3 u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. Uzorak je tijekom prvih osam sati stajao odčepljen na sobnoj temperaturi dok je preostalo vrijeme do 72 sata stajao začepljen u hladnjaku (2 – 8 °C). Najmanje srednje odstupanje opaženo je u vremenskoj točki 4 h_{ST} i iznosi 0,6 % dok je najveće srednje odstupanje dosegnuto u vremenskoj točki 24 h_{TH} i iznosi 4,4 %. Srednji postotak odstupanja \overline{PD} za pretragu tT_3 u svim definiranim vremenskim točkama ne prelazi izračunati MPD ($\pm 11,02$ %).



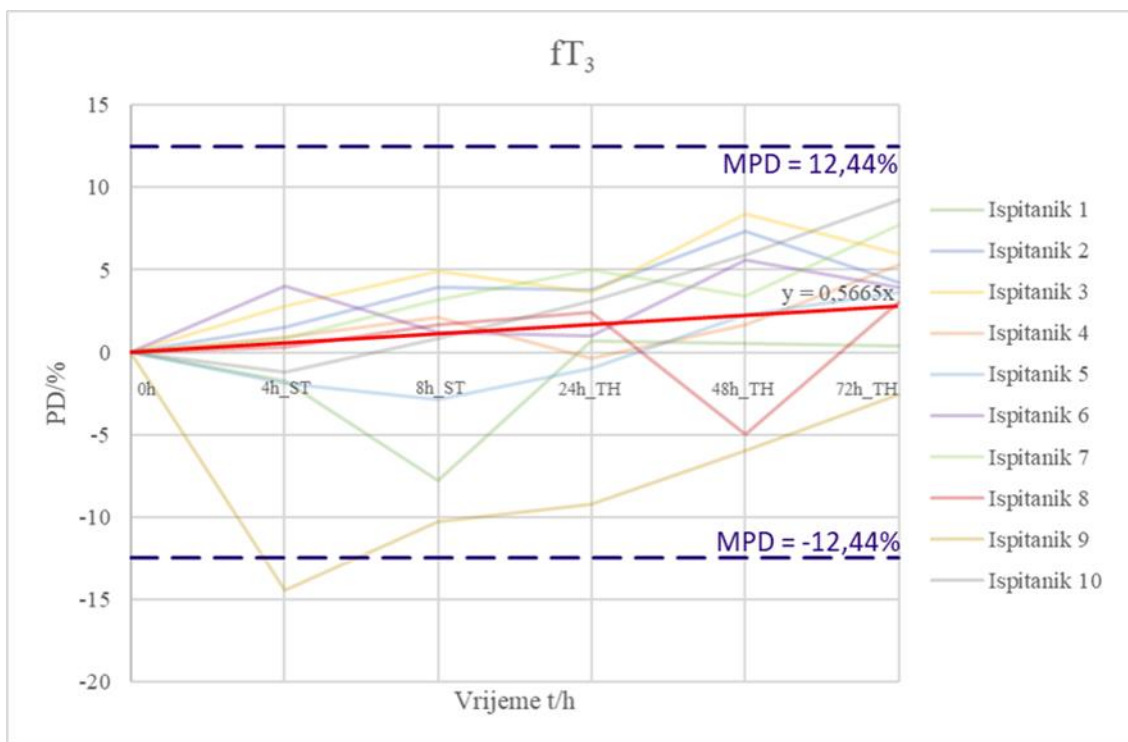
Slika 14: Prikaz postotka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) u definiranim vremenskim točkama kod deset ispitanika te pravca i jednadžbe nestabilnosti za slobodni tiroksin (fT_4). MPD – izračunato maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference) (plave isprekidane linije); 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_ST-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_ST-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_TH-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku ($2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$)); 48 h_TH- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku ($2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$)); 72 h_TH-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku ($2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$)).

Na slici 14 prikazani su postoci odstupanja PD % za fT_4 u definiranim vremenskim točkama u odnosu na mjerenje u nultoj vremenskoj točki kod 10 ispitanika uz izračunatu jednadžbu nestabilnosti. Pravac nestabilnosti, definiran jednadžbom nestabilnosti, niti u jednoj vremenskoj točki ne sječe maksimalno dopušteno odstupanje koje iznosi $\pm 16,25\%$.



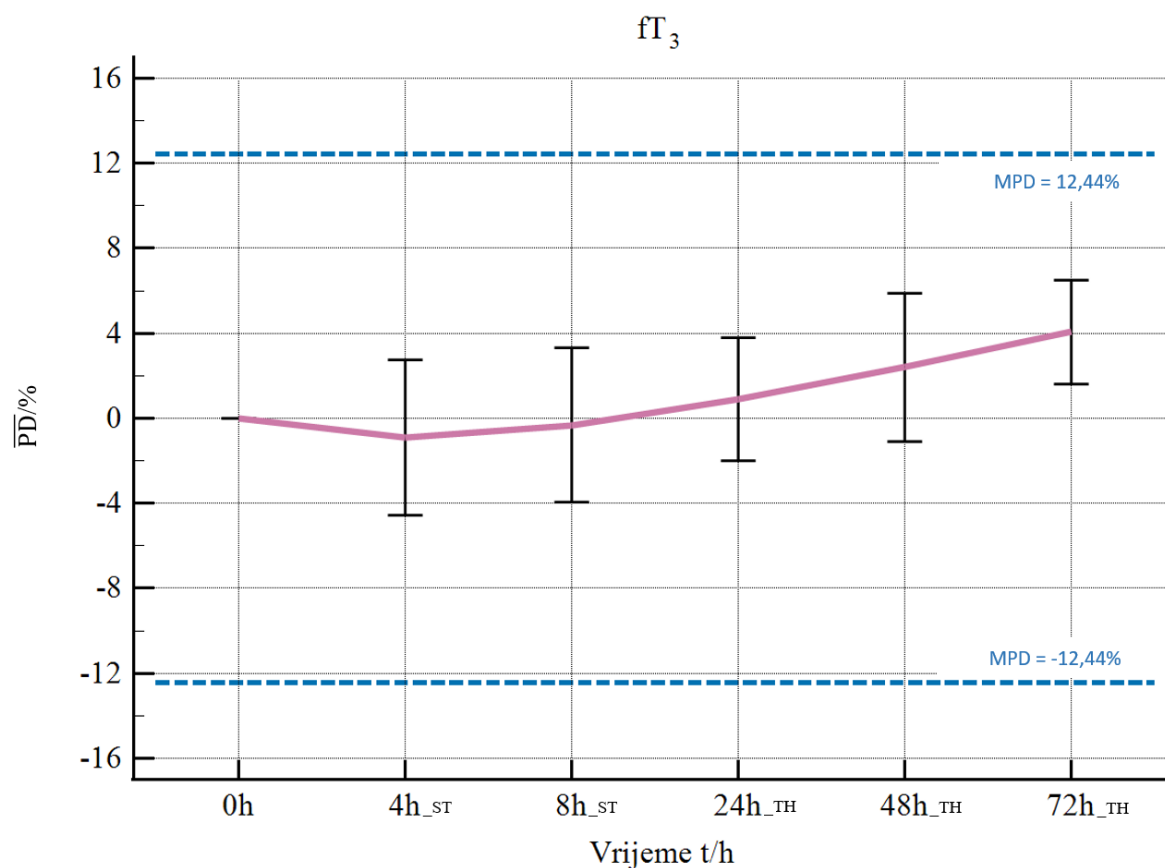
Slika 15: Prikaz srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) za slobodni (fT_4) u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h_{ST}, 8 h_{ST}, 24 h_{TH}, 48 h_{TH}, 72 h_{TH}) uz 95 %-tni interval pouzdanosti Plava isprekidana linija označava maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference; MPD/%) temeljeno na biološkoj varijabilnosti i koeficijentu varijacije. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 15 prikazano je kretanje srednjeg \overline{PD} za fT_4 u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. Uzorak je tijekom prvih osam sati stajao odčepljen na sobnoj temperaturi dok je preostalo vrijeme do 72 sata stajao začepljen u hladnjaku (2 – 8 °C). Najmanje srednje odstupanje opaženo je u vremenskoj točki 8 h_{ST} i iznosi 0,1 % dok je najveće srednje odstupanje dosegnuto u vremenskoj točki 48 h_{TH} i iznosi 4,0 %. Srednji postotak odstupanja \overline{PD} za pretragu fT_4 u svim definiranim vremenskim točkama ne prelazi izračunati MPD ($\pm 16,25$ %).



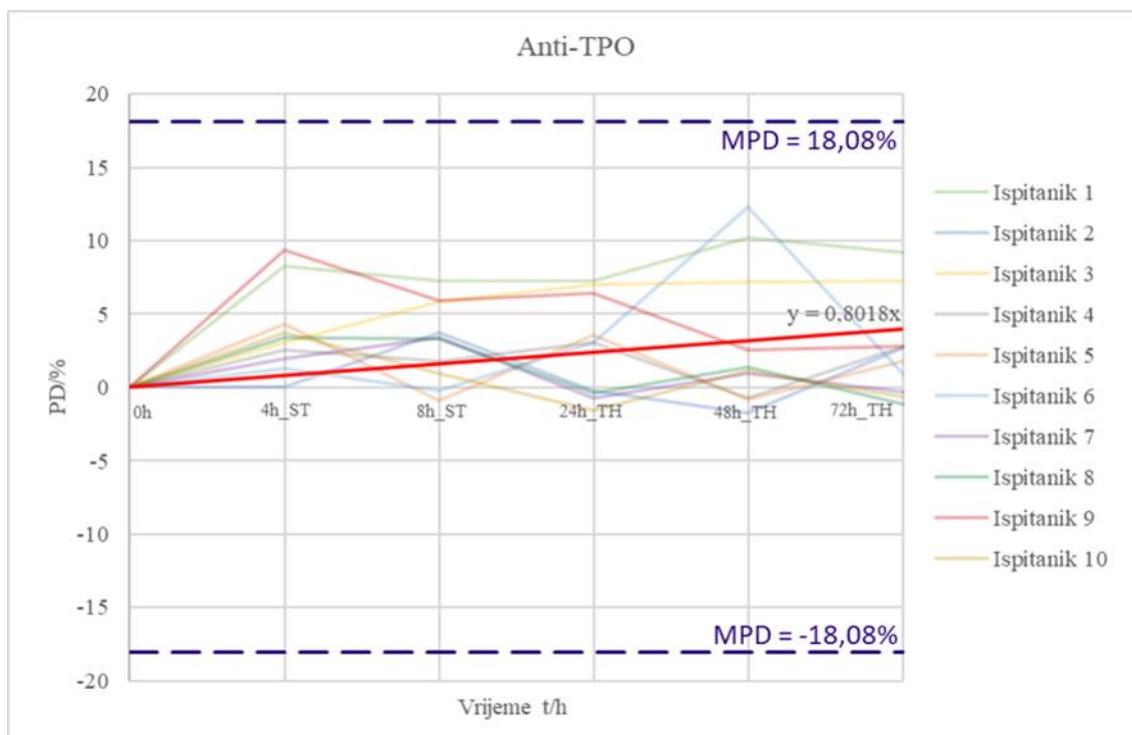
Slika 16: Prikaz postotka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) u definiranim vremenskim točkama kod deset ispitanika te pravca i jednadžbe nestabilnosti za slobodni trijodtironin (fT_3). MPD – izračunato maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference) (plave isprekidane linije); 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 16 prikazani su postoci odstupanja PD % za fT_3 u definiranim vremenskim točkama u odnosu na mjerenje u nultoj vremenskoj točki kod 10 ispitanika uz izračunatu jednadžbu nestabilnosti. Pravac nestabilnosti, definiran jednadžbom nestabilnosti, niti u jednoj vremenskoj točki ne sječe maksimalno dopušteno odstupanje koje iznosi $\pm 12,44\%$.



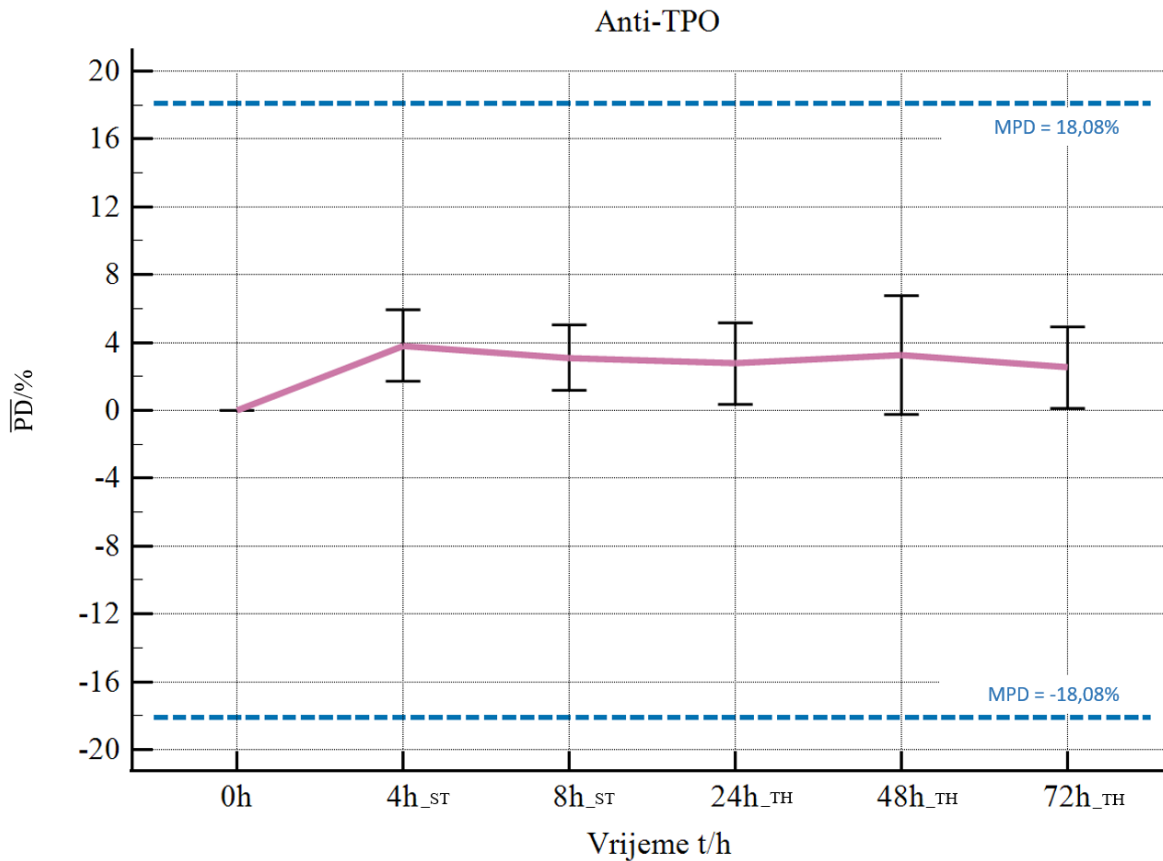
Slika 17: Prikaz srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) za slobodni trijodtironin (fT_3) u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h_{ST}, 8 h_{ST}, 24 h_{TH}, 48 h_{TH}, 72 h_{TH}) uz 95 %-tni interval pouzdanosti Plava isprekidana linija označava maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference; MPD/%) temeljeno na biološkoj varijabilnosti i koeficijentu varijacije. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 17 prikazano je kretanje srednjeg \overline{PD} za fT_3 u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. Uzorak je tijekom prvih osam sati stajao odčepljen na sobnoj temperaturi dok je preostalo vrijeme do 72 sata stajao začepljen u hladnjaku (2 – 8 °C). Najmanje srednje odstupanje opaženo je u vremenskoj točki 8 h_{ST} i iznosi -0,3 % dok je najveće srednje odstupanje dosegnuto u vremenskoj točki 72 h_{TH} i iznosi 4,0 %. Srednji postotak odstupanja \overline{PD} za pretragu fT_3 u svim definiranim vremenskim točkama ne prelazi izračunati MPD ($\pm 12,44$ %).



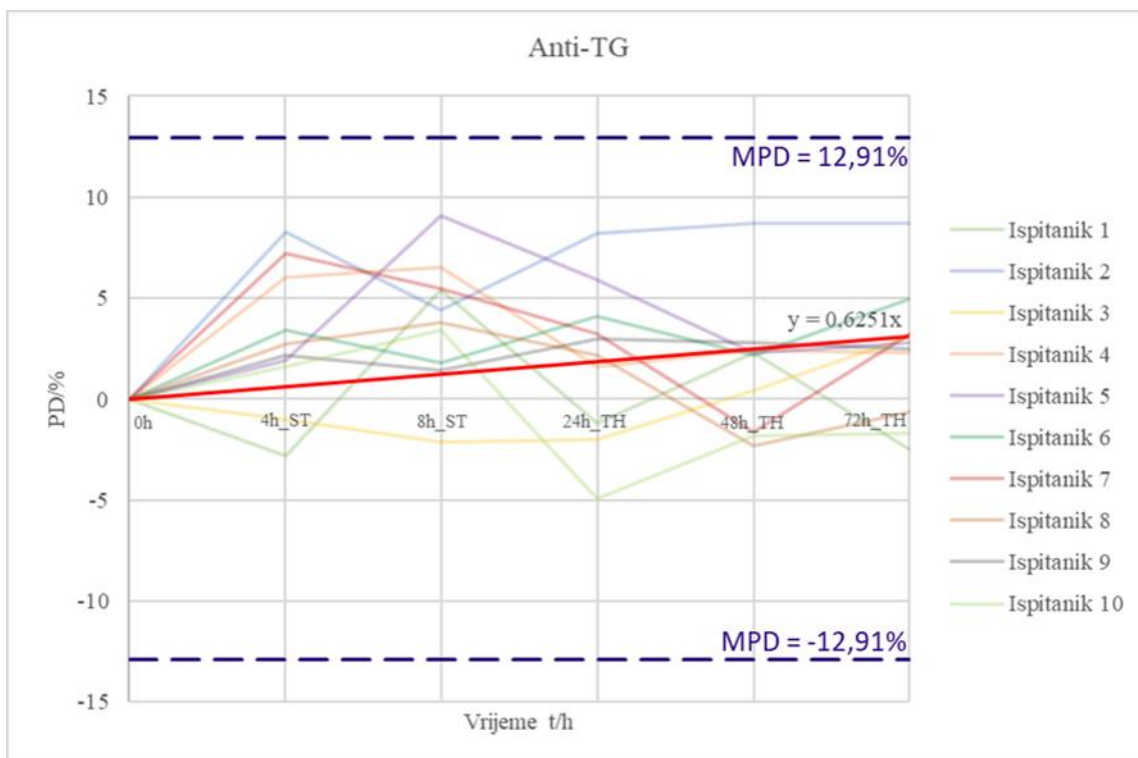
Slika 18: Prikaz postotka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) u definiranim vremenskim točkama kod deset ispitanika te pravca i jednadžbe nestabilnosti za antitijela na tiroidnu peroksidazu (anti-TPO). MPD – izračunato maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference) (plave isprekidane linije); 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 18 prikazani su postoci odstupanja PD % za anti-TPO u definiranim vremenskim točkama u odnosu na mjerenje u nultoj vremenskoj točki kod 10 ispitanika uz izračunatu jednadžbu nestabilnosti. Pravac nestabilnosti, definiran jednadžbom nestabilnosti, niti u jednoj vremenskoj točki ne sječe maksimalno dopušteno odstupanje koje iznosi $\pm 18,08\%$.



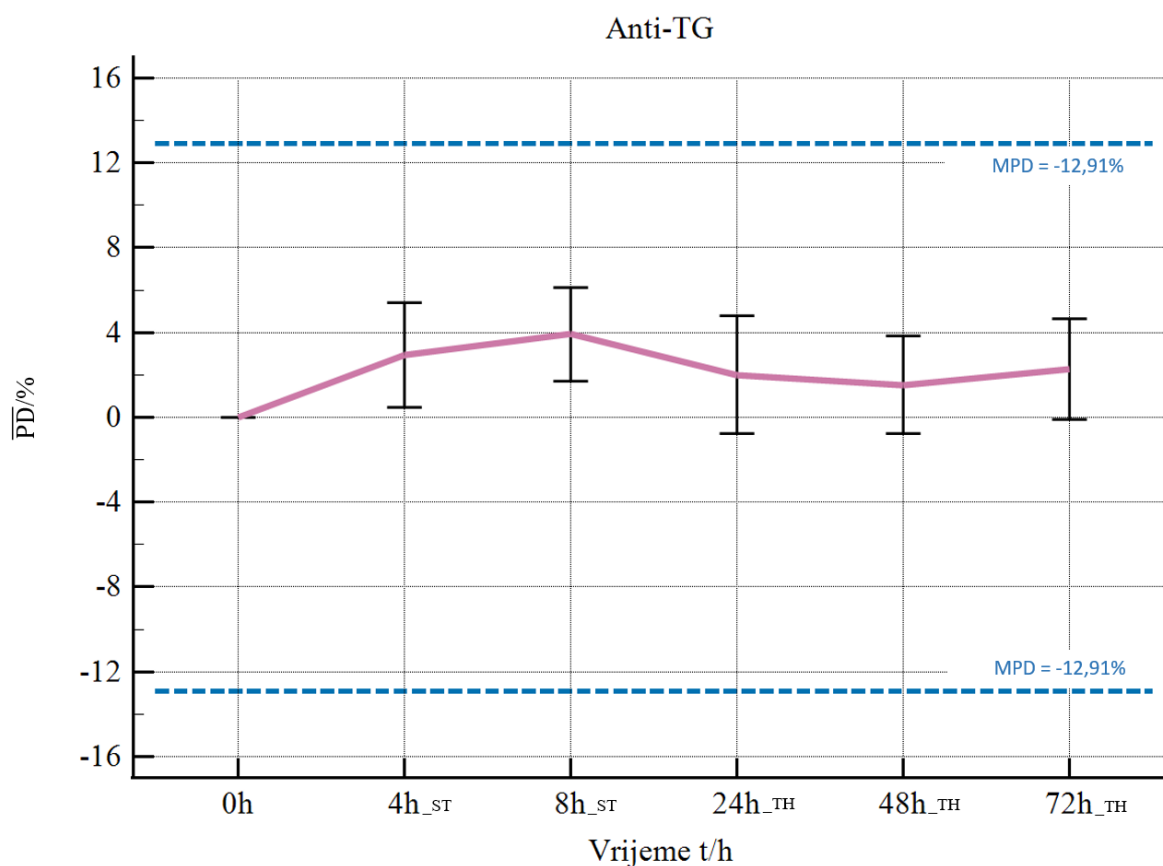
Slika 19: Prikaz srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) za antitijela na tiroidnu peroksidazu (anti-TPO) u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h_{ST}, 8 h_{ST}, 24 h_{TH}, 48 h_{TH}, 72 h_{TH}) uz 95 %-tni interval pouzdanosti Plava isprekidana linija označava maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference; MPD/%) temeljeno na biološkoj varijabilnosti i koeficijentu varijacije. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 19 prikazano je kretanje srednjeg \overline{PD} za anti-TPO u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. Uzorak je tijekom prvih osam sati stajao odčepljen na sobnoj temperaturi dok je preostalo vrijeme do 72 sata stajao začepljen u hladnjaku (2 – 8 °C). Najmanje srednje odstupanje opaženo je u vremenskoj točki 72 h_{TH} i iznosi 2,5 % dok je najveće srednje odstupanje dosegnuto u vremenskoj točki 4 h_{ST} i iznosi 3,8 %. Srednji postotak odstupanja $\overline{PD}/\%$ za pretragu anti-TPO u svim definiranim vremenskim točkama ne prelazi izračunati MPD ($\pm 18,08\%$).



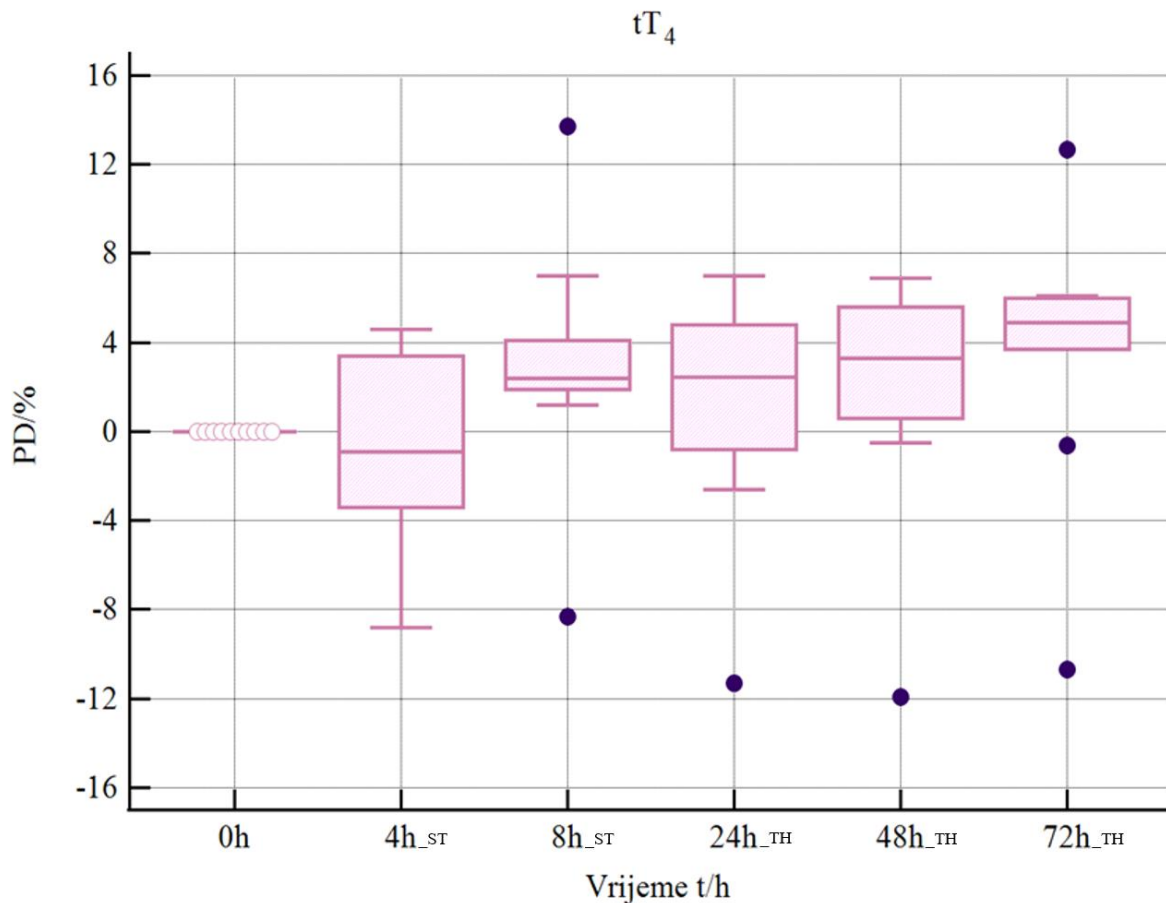
Slika 20: Prikaz postotka odstupanja (engl. percentage difference; PD/%) u definiranim vremenskim točkama kod deset ispitanika te pravca i jednadžbe nestabilnosti za antitijela na tireoglobulin (anti-TG). MPD – izračunato maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference) (plave isprekidane linije); 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_ST-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_ST-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_TH-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_TH- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_TH-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 20 prikazani su postoci odstupanja PD % za anti-TG u definiranim vremenskim točkama u odnosu na mjerenje u nultoj vremenskoj točki kod 10 ispitanika uz izračunatu jednadžbu nestabilnosti. Pravac nestabilnosti, definiran jednadžbom nestabilnosti, niti u jednoj vremenskoj točki ne sječe maksimalno dopušteno odstupanje koje iznosi $\pm 12,91\%$.



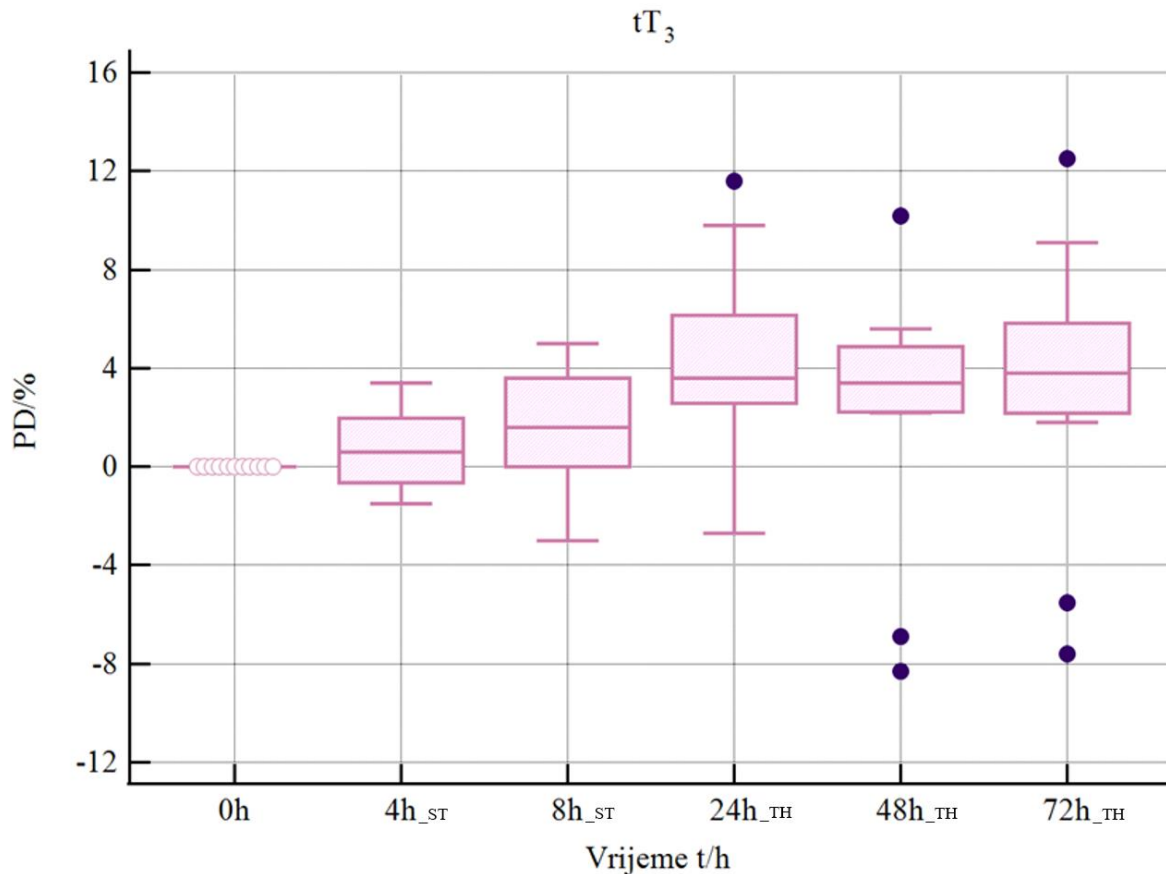
Slika 21: Prikaz srednjeg postotka odstupanja ($\overline{PD}/\%$) za antitijela na tireoglobulin (anti-TG) u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h_{ST}, 8 h_{ST}, 24 h_{TH}, 48 h_{TH}, 72 h_{TH}) uz 95 %-tni interval pouzdanosti Plava isprekidana linija označava maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference; MPD/%) temeljeno na biološkoj varijabilnosti i koeficijentu varijacije. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 21 prikazano je kretanje srednjeg \overline{PD} za anti-TG u definiranim vremenskim točkama za deset ispitanika. Uzorak je tijekom prvih osam sati stajao odčepljen na sobnoj temperaturi dok je preostalo vrijeme do 72 sata stajao začepljen u hladnjaku (2 – 8 °C). Najmanje srednje odstupanje opaženo je u vremenskoj točki 48 h_{TH} i iznosi 1,6 % dok je najveće srednje odstupanje dosegnuto u vremenskoj točki 8 h_{ST} i iznosi 3,9 %. Srednji postotak odstupanja $\overline{PD}/\%$ za pretragu anti-TG u svim definiranim vremenskim točkama ne prelazi izračunati MPD ($\pm 12,91$ %).



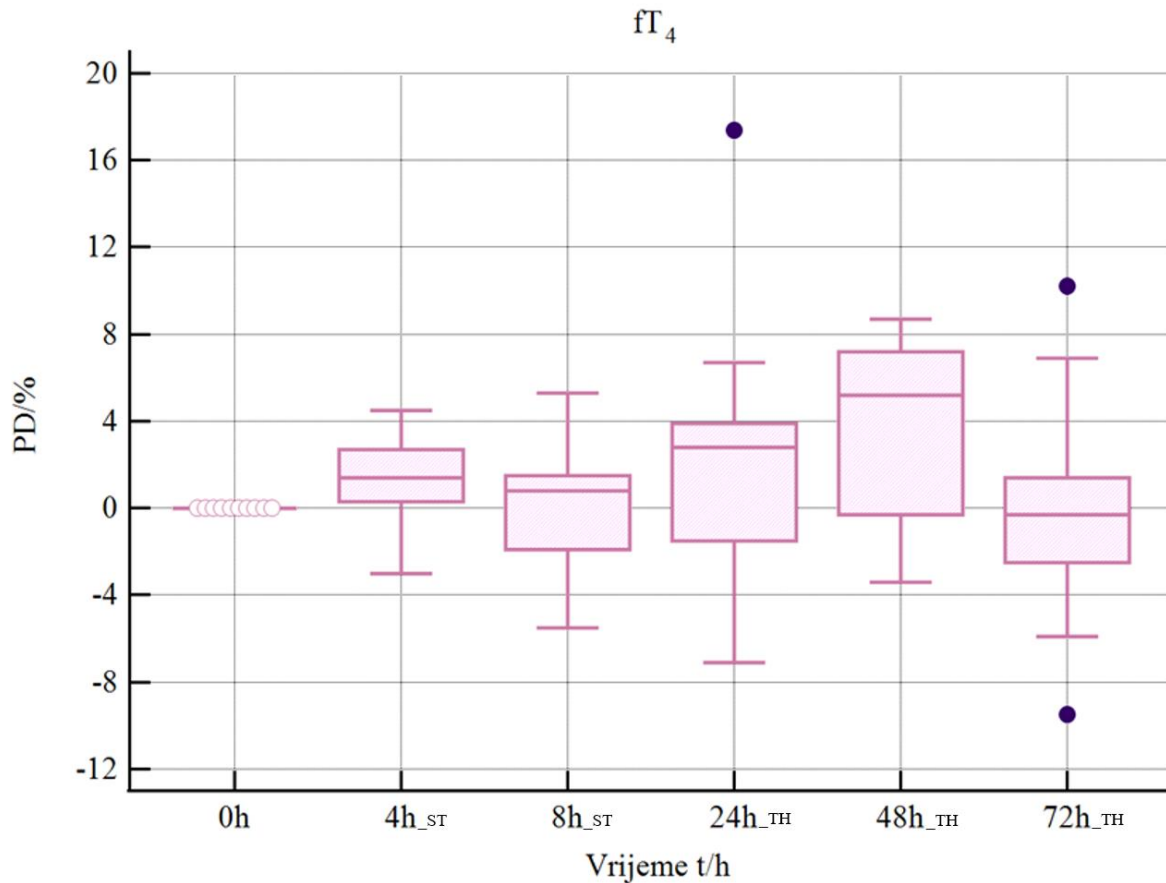
Slika 23: Detekcija stršećih vrijednosti za ukupni tiroksin (tT_4) uporabom kutijastog dijagrama (engl. Box and Whisker Plot). Stršeće vrijednosti su na dijagramu označene tamnijom bojom. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 23 prikazano je sedam detektiranih stršećih vrijednosti za tT_4 pomoću kutijastog dijagrama, kod ispitanika 1 PD = 12,7 % u vremenskoj točki 72 h_{TH}, ispitanika 4 PD = -0,6 % u vremenskoj točki 72 h_{TH}, ispitanika 6 PD = 13,7 % u vremenskoj točki 8 h_{ST} te kod ispitanika 7 PD = -8,3 % u vremenskoj točki 8 h_{ST}, PD = -11,3 % u vremenskoj točki 24 h_{TH}, PD = -11,9 % u vremenskoj točki 48 h_{TH} i PD = -10,7 % u vremenskoj točki 72 h_{TH}.



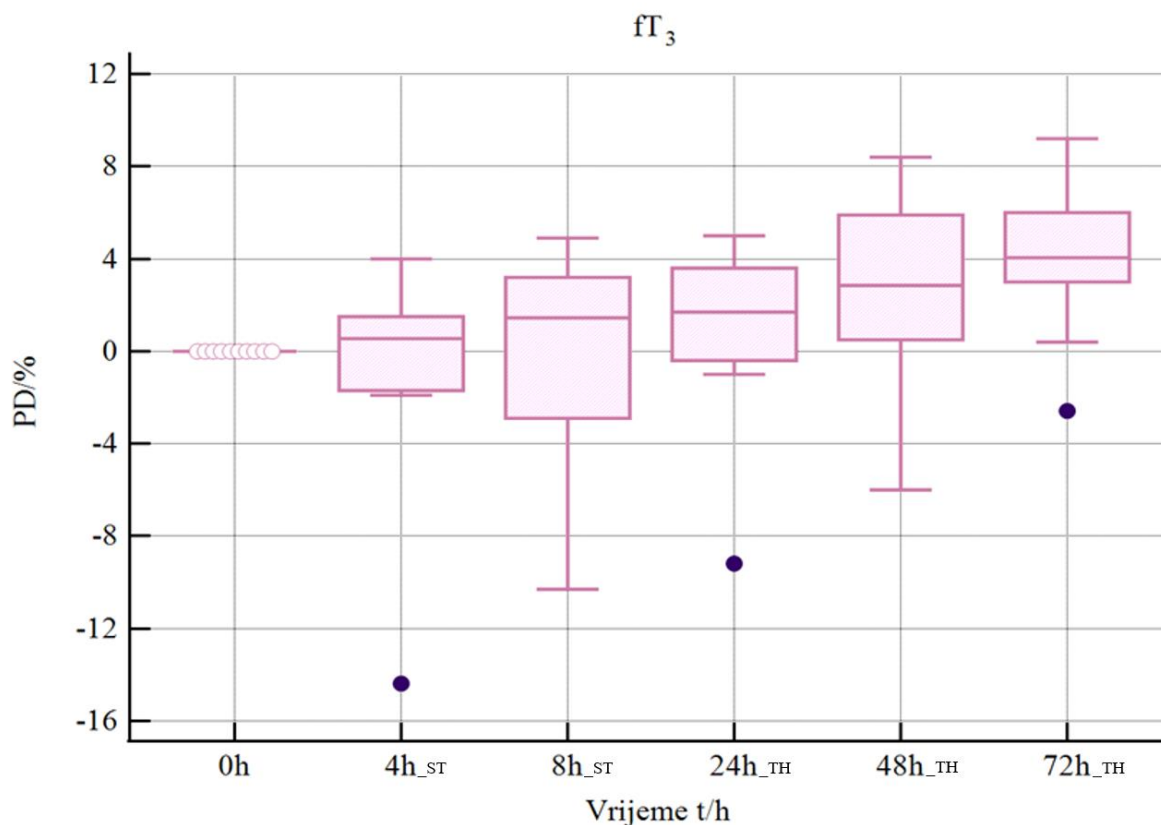
Slika 24: Detekcija stršećih vrijednosti za ukupni trijodtironin (tT_3) uporabom kutijastog dijagrama (engl. Box and Whisker Plot). Stršeće vrijednosti su na dijagramu označene tamnijom bojom. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 24 prikazano je sedam detektiranih stršećih vrijednosti za tT_3 pomoću kutijastog dijagrama, kod ispitanika 5 PD = 11,6 % u vremenskoj točki 24 h_{TH}, PD = -6,9 % u vremenskoj točki 48 h_{TH}, PD = -5,5 % u vremenskoj točki 72 h_{TH}, kod ispitanika 6 PD = -8,3 % u vremenskoj točki 48 h_{TH}, PD = -7,6 % u vremenskoj točki 72 h_{TH}, kod ispitanika 7 PD = 12,5 % u vremenskoj točki 72 h_{TH} te kod ispitanika 8 PD = 10,2 % u vremenskoj točki 48 h_{TH}.



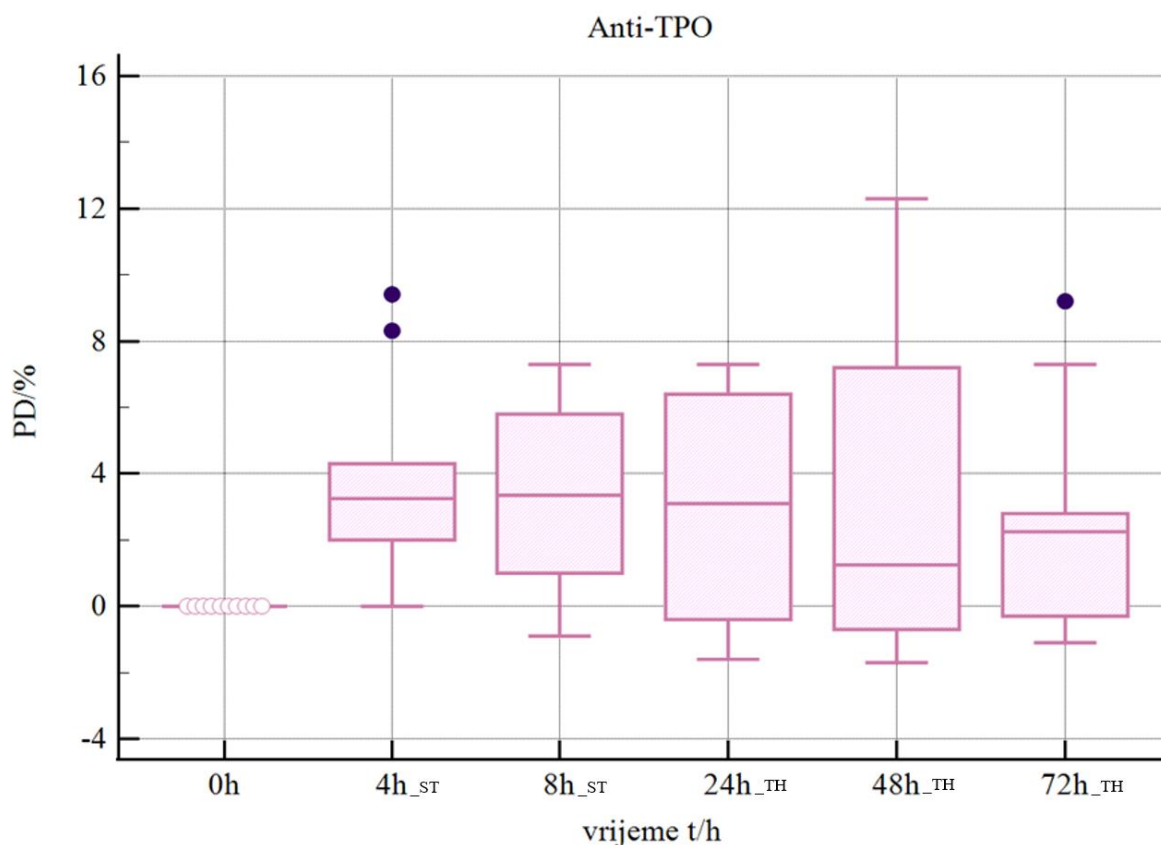
Slika 25: Detekcija stršećih vrijednosti za slobodni tiroksin (fT_4) uporabom kutijastog dijagrama (engl. Box and Whisker Plot). Stršeće vrijednosti su na dijagramu označene tamnijom bojom. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 25 prikazane su tri detektirane stršeće vrijednosti za fT_4 pomoću kutijastog dijagrama, kod ispitanika 1 PD = -9,5 % u vremenskoj točki 72 h_{TH}, kod ispitanika 2 PD = 10,2 % u vremenskoj točki 72 h_{ST} te kod ispitanika 9 PD = 17,4 % u vremenskoj točki 24 h_{TH}.



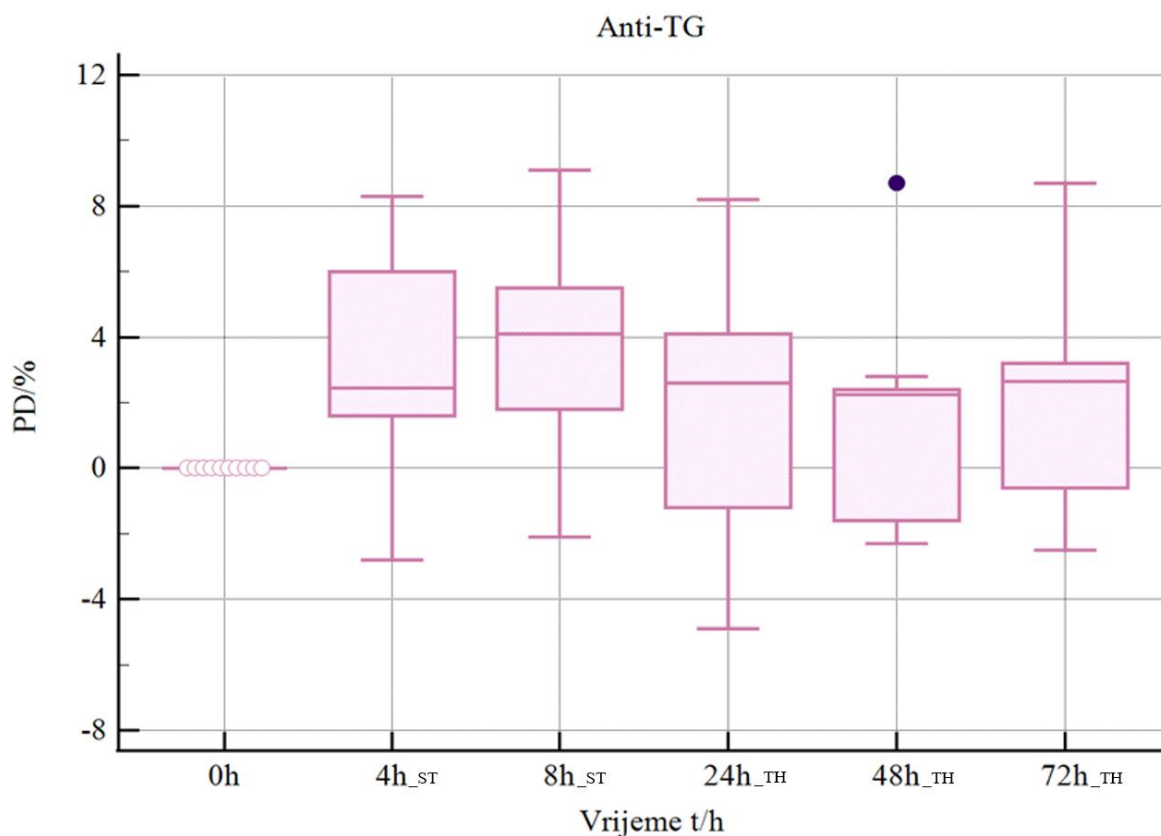
Slika 26: Detekcija stršećih vrijednosti za slobodni trijodtironin (fT_3) uporabom kutijastog dijagrama (engl. Box and Whisker Plot). Stršeće vrijednosti su na dijagramu označene tamnijom bojom. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 26 prikazane su tri detektirane stršeće vrijednosti za fT_3 pomoću kutijastog dijagrama, kod ispitanika 9 PD = -14,4 % u vremenskoj točki 4 h_{ST}, PD = -9,2 % u vremenskoj točki 24 h_{TH} te PD = -2,6 % u vremenskoj točki 72 h_{TH}.



Slika 27: Detekcija stršećih vrijednosti za antitijela na tiroidnu peroksidazu (anti-TPO) uporabom kutijastog dijagrama (engl. Box and Whisker Plot). Stršeće vrijednosti su na dijagramu označene tamnijom bojom. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 27 prikazane su tri detektirane stršeće vrijednosti za anti-TPO pomoću kutijastog dijagrama, kod ispitanika 1 PD = 8,3 % u vremenskoj točki 4 h_{ST} i PD = 9,2 % u vremenskoj točki 72 h_{TH} te kod ispitanika 9 PD = 9,4 % u vremenskoj točki 4 h_{ST}.



Slika 28: Detekcija stršećih vrijednosti za antitijela na tireoglobulin (anti-TG) uporabom kutijastog dijagrama (engl. Box and Whisker Plot). Stršeće vrijednosti su na dijagramu označene tamnijom bojom. 0 h - mjerenje u nultom trenutku (odrađeno unutar dva sata od uzorkovanja); 4 h_{ST}-mjerenje četiri sata nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 8 h_{ST}-mjerenje osam sati nakon nultog mjerenja - epruveta odčepljena na sobnoj temperaturi; 24 h_{TH}-mjerenje 24 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 16 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 48 h_{TH}- mjerenje 48 sati nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 40 sati začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)); 72 h_{TH}-mjerenje 72 sata nakon nultog mjerenja (epruveta 8 sati na sobnoj temperaturi odčepljena i 64 sata začepljena u hladnjaku (2 – 8 °C)).

Na slici 28 prikazana je jedna definirana stršeća vrijednost za anti-TG pomoću kutijastog dijagrama, kod ispitanika 2 PD = 8,7 % u vremenskoj točki 48 h_{TH}.

4.2. Rasprava

Funkcijski testovi štitnjače obuhvaćaju laboratorijsko određivanje TSH, tT_4 , tT_3 , fT_4 , fT_3 , anti-TPO i anti-TG, a koriste se za dijagnostiku i praćenje terapije kod poremećaja funkcije štitnjače. Budući da je danas, prema 80 % kliničkih smjernica, za postavljanje dijagnoze ključna laboratorijska dijagnostika, laboratorij ima odgovornost osigurati pouzdane rezultate testova (Sikaris, 2016). Uz preciznost, točnost i reproducibilnost jedan od bitnih analitičkih parametara koji mora biti jasno definiran je stabilnost. Kako bi se izbjeglo ponovno uzorkovanje krvi kod pacijenata, naknadna određivanja pojedinih testova mogu se odraditi i do nekoliko dana od uzorkovanja uz odgovarajuće uvjete skladištenja, a da to ne utječe na pouzdanost rezultata (Lippi i sur., 2008).

U ovom istraživanju ispitivana je stabilnost funkcijskih testova štitnjače (TSH, tT_4 , tT_3 , fT_4 , fT_3 , anti-TPO i anti-TG) u serumu u epruvetama s gelom tijekom 72 sata u različitim temperaturnim uvjetima kako bi se uvidjelo mogu li se analize funkcijskih testova štitnjače odgoditi ili naknadno zatražiti unutar 3 dana od uzorkovanja krvi. Prvih 8 h uzorak seruma stajao je na sobnoj temperaturi u odčepjenoj epruveti s gelom, a nakon toga do 72. sata začepljen u hladnjaku.

Svaki od navedenih testova određivao se u 10 ostalih uzoraka pacijenata u definiranim vremenskim točkama (4 h, 8 h, 24 h, 48 h, 72 h). Za dizajn protokola i obradu rezultata te definiranje maksimalnog dopuštenog odstupanja od nultog mjerenja u ovom istraživanju, vodili smo se uputama Radne grupe za predanalitiku EFLM-a (Cornes i sur., 2020).

Obradom rezultata detektirane su i stršeće vrijednosti za funkcijske testove štitnjače (TSH, tT_4 , tT_3 , fT_4 , fT_3 , anti-TPO i anti-TG) (Slike 22 - 28), ali su one, također prema uputama Radne grupe za predanalitiku EFLM-a, uključene u statistiku. (Cornes i sur., 2020).

Tijekom prvih osam sati, dok je uzorak seruma stajao u odčepjenoj epruveti s gelom na sobnoj temperaturi, uočava se minimalni srednji postotak odstupanja (\overline{PD}) za TSH, fT_4 i fT_3 (TSH: 4 h PD = 3,0 %; 8 h PD = 4,8 %; fT_4 : 4 h PD = 1,2 %; 8 h PD = 0,1 %; fT_3 : 4 h PD = -0,9 %; 8 h PD = -0,3 %). Srednji postoci odstupanja $\overline{PD}/\%$ za TSH, fT_4 i fT_3 ne dosežu izračunata maksimalna dopuštena odstupanja (TSH $\pm 17,38$ %; $fT_4 \pm 16,25$ %; $fT_3 \pm 12,44$ %) što govori da su TSH, fT_4 i fT_3 stabilni u serumu u epruvetama s gelom tijekom 8 h na sobnoj temperaturi. Prethodno su Guder i sur. (2010) u preporukama Radne grupe za predanalitičku kvalitetu Njemačkog društva za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu naveli da je TSH stabilan u serumu na sobnoj temperaturi tijekom tri dana, fT_4 pet dana, a fT_3 dva dana, ali nije definirana

vrsta korištene epruvete niti granice dopuštenog odstupanja. Odgoze i sur. (2012) su također dokazali da su TSH, fT_4 i fT_3 stabilni u serumu na sobnoj temperaturi tijekom 24 sata u epruvetama s gelom, a granice dopuštenog odstupanja definirali su na jednak način kao što je definirano u ovom diplomskom radu.

Isto tako, tijekom pohrane u hladnjaku ($2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$) u vremenskom periodu od 72 sata u začepljenoj epruveti (prvih osam sati od nultog mjerenja uzorak se nalazio u odčepljenoj epruveti na sobnoj temperaturi) za TSH, fT_4 i fT_3 u serumu u epruvetama s gelom opažena su neznatna odstupanja $\overline{PD}/\%$ (TSH: 24 h PD = 4,5 %; 48 h PD = 6,4 %; 72 h PD = 4,2 %; fT_4 : 24 h PD = 2,6 %; 48 h PD = 4,0 %; 72 h PD = -0,2 %; fT_3 : 24 h PD = 0,9 %; 48 h PD = 2,4 %; 72 h PD = 4,0 %). Srednji postoci odstupanja ne dosežu izračunata maksimalna dopuštena odstupanja (TSH $\pm 17,38$ %; $fT_4 \pm 16,25$ %; $fT_3 \pm 12,44$ %) što govori da su TSH, fT_4 i fT_3 stabilni u serumu u epruvetama s gelom tijekom 72 h u navedenim temperaturnim uvjetima. Odgoze i sur. (2012) su dokazali da su TSH, fT_4 i fT_3 stabilni u serumu u epruvetama s gelom tijekom pohrane u hladnjaku ($2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$). Granice dopuštenih odstupanja su definirali na isti način kao što je definirano i u ovom diplomskom radu, a novije datirani rad kojeg pišu Christian i sur. (2023) potvrđuje njihove navode, iako nisu specificirali epruvete koje su korištene, a stabilnost TSH, fT_4 i fT_3 je dokazana ANOVA statističkim testom.

Tijekom prvih osam sati dok je uzorak stajao u odčepljenoj epruveti na sobnoj temperaturi, uočava se minimalni srednji postotak odstupanja (\overline{PD}) za tT_4 i tT_3 (tT_4 : 4 h PD = -0,9 %; 8 h PD = 3,0 %; tT_3 : 4 h PD = 0,6 %; 8 h PD = 1,6 %). Srednji postoci odstupanja ne dosežu izračunata maksimalna dopuštena odstupanja ($tT_4 \pm 11,00$ %; $tT_3 \pm 11,02$ %) što upućuje da su tT_4 i tT_3 stabilni u serumu u epruvetama s gelom tijekom 8 h na sobnoj temperaturi. Guder i sur. (2010) su naveli da je tT_4 stabilan pet dana, a tT_3 dva dana na sobnoj temperaturi u serumu, pri čemu nije navedena vrsta spremnika koja je korištena niti na koji je način definirana granica dopuštenog odstupanja.

Također, tijekom pohrane u hladnjaku ($2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$) u vremenskom periodu od 72 sata u začepljenoj epruveti (prvih osam sati od nultog mjerenja uzorak se nalazio u odčepljenoj epruveti na sobnoj temperaturi) za tT_4 i tT_3 u serumu u epruvetama s gelom opažena su neznatna odstupanja $\overline{PD}/\%$ (tT_4 : 24 h PD = 1,2 %; 48 h PD = 1,9 %; 72 h PD = 3,7 %; tT_3 : 24 h PD = 4,4 %; 48 h PD = 2,2 %; 72 h PD = 3,3 %). Srednji postoci odstupanja ne dosežu izračunata maksimalna dopuštena odstupanja ($tT_4 \pm 11,00$ %; $tT_3 \pm 11,02$ %) što govori da su tT_4 i tT_3 stabilni u serumu u epruvetama s gelom tijekom 72 h u navedenim temperaturnim uvjetima.

Guder i sur. (2010) naveli su da je tT_4 stabilan u serumu u hladnjaku ($2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$) tijekom sedam dana, a tT_3 tijekom osam dana. U radu iz 2023. godine Christian i sur. dokazali su da su tT_4 i tT_3 stabilni u serumu u hladnjaku ($2-8^\circ\text{C}$) tijekom tri dana. Niti Guder i sur. (2010), niti Christian i sur. (2023) ne navode epruvete koje su korištene i uvjete u kojima je ispitivanje odrađeno, a granicu dopuštenog odstupanja Christian i sur. (2023) definiraju ANOVA statističkim testom dok Guder i sur. (2010) ne navode podatke o tome.

Tijekom prvih osam sati dok je uzorak seruma stajao u odčepljenoj epruveti s gelom na sobnoj temperaturi, uočava se minimalni srednji postotak odstupanja (\overline{PD}) za anti-TPO i anti-TG (anti-TPO: 4 h PD = 3,8 %; 8 h PD = 3,1 %; anti-TG: 4 h PD = 3,0 %; 8 h PD = 3,9 %). Srednji postoci odstupanja $\overline{PD}/\%$ za anti-TPO i anti-TG ne dosežu izračunata maksimalna dopuštena odstupanja MPD (anti-TPO: $\pm 18,08\%$ anti-TG: $\pm 12,91\%$) što ukazuje da su anti-TPO i anti-TG stabilni u serumu u epruvetama s gelom tijekom 72 h u navedenim temperaturnim uvjetima. Isto tako, tijekom pohrane u hladnjaku ($2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$) u vremenskom periodu od 72 sata u začepljenoj epruveti (prvih osam sati od nultog mjerenja uzorak se nalazio u odčepljenoj epruveti na sobnoj temperaturi) za anti-TPO i anti-TG u serumu u epruvetama s gelom opažena su neznatna odstupanja $\overline{PD}/\%$ (anti-TPO: 24 h PD = 2,7 %; 48 h PD = 3,3 %; 72 h PD = 2,5 %; anti-TG: 24 h PD = 2,0 % 48 h PD = 1,6 %; 72 h PD = 2,3 %). Srednji postoci odstupanja $\overline{PD}/\%$ za anti-TPO i anti-TG ne dosežu izračunata maksimalna dopuštena odstupanja MPD (anti-TPO: $\pm 18,08\%$ anti-TG: $\pm 12,91\%$) što upućuje da su anti-TPO i anti-TG stabilni u serumu u epruvetama s gelom tijekom 72 h u navedenim temperaturnim uvjetima. Jedini dostupni navod o stabilnosti anti-TPO i anti-TG na sobnoj temperaturi je u deklaraciji reagensa tvrtke *Abbott*. Navedeno je da su anti-TPO i anti-TG stabilni u serumu tijekom osam sati na sobnoj temperaturi i do tri dana u hladnjaku ($2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$). Guder i sur. (2010) navode da su antitijela u serumu stabilna u hladnjaku ($2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$) tijekom dva dana dok su Intan i sur. (2014) dokazali da su stabilna dulji period, čak tijekom 12 dana. Navedeni radovi ne definiraju vrstu korištene epruvete niti način na koji je određeno dopušteno odstupanje.

Rezultati dobiveni u ovom diplomskom radu u suglasnosti su s dostupnom literaturom, iako se dizajn ispitivanja i način definiranja granica dopuštenog odstupanja međusobno razlikuju. Isto tako, pregledom literature nije se naišlo na radove koji u ispitivanju kombiniraju pohranu na sobnoj temperaturi i u hladnjaku ($2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$) kao što je odrađeno u ovom diplomskom radu, a ipak su definirane stabilnosti testova podudarne.

Ograničenje ovog diplomskog rada je što je rukovanje uzorcima prilagođeno laboratoriju u kojem je istraživanje odrađeno i moguće da rezultati nisu primjenjivi u svakom laboratoriju. Svaki laboratorij bi prema načinu svog rutinskog postupanja s uzorcima trebao istražiti stabilnost testova koje određuje.

Prednost ovog diplomskog rada je to što su korišteni ostatni uzorci pacijenata kako bi se zadovoljio širi raspon koncentracija, uključujući one ispod donje te iznad gornje granice referentnog intervala dok su u ranije spomenutim radovima korišteni uzorci zdravih volontera ili nisu jasno definirani ispitanici.

S obzirom na dobivene rezultate, odnosno minimalna srednja odstupanja od nultog mjerenja, za sve funkcijske testove štitnjače tijekom 72 h u različitim temperaturnim uvjetima, s prethodnim stajanjem uzoraka 8h na sobnoj temperaturi, možemo zaključiti da je moguće odgoditi ili naknadno zadati određivanje testova tijekom 72 h.

5. ZAKLJUČCI

1. Funkcijski testovi štitnjače stabilni su u serumu u epruvetama s gelom 8 h na sobnoj temperaturi.
2. Funkcijski testovi štitnjače stabilni su u serumu u epruvetama s gelom tijekom 72 h na temperaturi 2 – 8 °C s prethodnim stajanjem uzoraka seruma 8h na sobnoj temperaturi.
3. Određivanje funkcijskih testova štitnjače u serumu moguće je odgoditi ili naknadno zatražiti unutar 8 h u epruvetama s gelom pohranjenim na sobnoj temperaturi.
4. Određivanje funkcijskih testova štitnjače u serumu moguće je odgoditi ili naknadno zatražiti unutar 72 h u epruvetama s gelom ukoliko se nakon 8 h stajanja uzoraka na sobnoj temperaturi, pohrane na temperaturu 2 – 8 °C.

6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA

Anti-TG	<i>Antitijelo na tireoglobulin</i>
Anti-TPO	<i>Antitijelo na tiroidnu peroksidazu</i>
ATP	<i>Adenozin-trifosfat</i>
cAMP	<i>Ciklički adenozin-monofosfat</i>
CMIA	<i>Kemiluminiscentna imunokemijska metoda s magnetskim mikročesticama (engl. Chemiluminescent Microparticle Immunoassay)</i>
CV	<i>Koeficijent varijacije</i>
CV _a	<i>Analitički koeficijent varijacije</i>
CV _b	<i>Intraindividualna biološka varijabilnost</i>
DIT	<i>Dijodtirozin</i>
DNA	<i>Deoksiribonukleinska kiselina</i>
EFLM	<i>The European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine</i>
fT ₃	<i>Slobodni oblik trijodtironina</i>
fT ₄	<i>Slobodni oblik tetrajodtironina, odnosno tiroksina</i>
KBCSM	<i>Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice</i>
MAPK	<i>Mitogenom aktivirana proteinska kinaza</i>
MIT	<i>Monojod tirozin</i>
MPD	<i>Maksimalno dopušteno odstupanje (engl. maximum permissible difference)</i>
PD	<i>Postotak odstupanja (engl. percentage difference)</i>
\overline{PD}	<i>Srednji postotak odstupanja</i>
RLU	<i>Relativne jedinice svjetla (engl. relative light units)</i>
T ₃	<i>Trijodtironin</i>
T ₄	<i>Tetrajodtironin, odnosno tiroksin</i>
TBG	<i>tiroksin vezujući protein (engl. thyroxine-binding globulin)</i>

TG	<i>Tireoglobulin</i>
TPO	<i>Tiroidna peroksidaza</i>
TRH	<i>Hormon koji oslobađa tireotropin</i>
TRHR	<i>receptor tireotropin otpuštajućeg hormona tipa 1 (engl. thyrotropin-releasing hormone receptor 1)</i>
TRH β -2	<i>β2 izoforma receptora za hormone štitnjače (engl. β2 isoform of thyroid hormone receptor)</i>
TSH	<i>Tireotropin</i>
tT ₃	<i>Ukupni trijodtironin</i>
tT ₄	<i>Ukupni tetrajodtironin, odnosno tiroksin</i>
TTR	<i>Transtiretin</i>

7. LITERATURA

Anti-TG [deklaracija reagensa], Green Oaks, IL, USA: Abbott; 2015.

Anti-TPO [deklaracija reagensa], Green Oaks, IL, USA: Abbott; 2015.

Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(4-5), 391-7.

Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev*, 2010, 31, 139-70.

Christian M, Minkowitz J, Gabutan E, Bluth M, Steimetz E, Coca-Guzman J, Pincus MR. Stability of Thyroid Function Test Analytes Whose Serum Levels Are Determined by Immunoassay. *Arch Med Res*, 2023, 11 (2)

Cornes M, Šimundić AM, Cadamuro J, Costelloe SJ, Baird G, Kristensen GBB, von Meyer A, Nybo M, Gómez-Rioja R. The CRESS checklist for reporting stability studies: on behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med*, 2021, 59(1), 59-69.

Devaraj S, Garnett E. Thyroid disease and laboratory assessment. U: Handbook of Diagnostic Endocrinology. Witner WE, Holmquist B, Sokoll LJ, Berthof RL, urednici, Chennai, India, 2020, str. 69-103.

Flores CFY, de Las Mercedes Hurtado Pineda Á, Bonilla VMC, Sáenz-Flor K. Sample Management: Stability of Plasma and Serum on Different Storage Conditions. *EJIFCC*. 2020, 31(1), 46-55.

Gillroy AM, MacPherson BR, Ross LM. Anatomski atlas s latinskim nazivljem. Zagreb, Medicinska naklada, 2011, str. 574.

Gómez-Rioja R, Segovia Amaro M, Diaz-Garzón J, Bauçà JM, Martínez Espartosa D, Fernández-Calle P. A protocol for testing the stability of biochemical analytes. Technical document. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). *Clin Chem Lab Med*, 2019, 57(12), 1829-1836.

Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, Schmitt Y, Töpfer G, Wisser H, Zawta B. Quality of Diagnostic Samples. Recommendations of tthe Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Oxford, BD Diagnostic, 2010.

Guyton CA, Hall EJ. Medicinska fiziologija – udžbenik. Zagreb, Medicinska naklada, 2017, str. 939-963.

Hirigo AT. Effect of Storage Time and Temperature on the Stability of Serum Analytes. *Health Sci J*, 2020, 15(7).

Intan NS, Thambiah S, Hannah P, NorBaizurah B, Baizurah MH. Performance characteristics of anti-thyroid peroxidase and anti-thyroglobulin assays on Roche Cobas E411 Immunoassay system., *Int J Med Sci Public Health*, 2014, 1(2).

Kusić Z, Jukić T, Franceschi M, Dabelić N, Rončević S, Lukinac Lj, Labar Ž, Mateša N, Solter M, Dodig D, Koršić M, Bence-Žigman Z. Smjernice Hrvatskog društva za racionalnu dijagnostiku poremećaja funkcije štitnjače. *Liječnički Vjesnik*, 2009; 131.

Lippi G, Fostini R, Guidi GC. Quality improvement in laboratory medicine: extra-analytical issues. *Clin Lab Med*, 2008, 28(2), 285-94.

Nikolac N, Šupak-Smolčić V, Šimundić AM, Čelap I. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: National recommendations for venous blood sampling. *Biochem Med*, 2013, 23(3), 242-54.

Oddoze C, Lombard E, Portugal H. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clin Biochem*, 2012, 45(6), 464-9.

Ortiga-Carvalho TM, Chiamolera MI, Pazos-Moura CC, Wondisford FE. Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis. *Compr Physiol*, 2016, 6(3), 1387-428.

Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. Sjedinjene Američke Države, Elsevier, 2018, str. 1572-1730.

Tank AW, Lee Wong D. Peripheral and central effects of circulating catecholamines. *Compr Physiol*, 2015, 5(1), 1-15.

Schussler GC. The thyroxine-binding proteins. *Thyroid*. 2000, 10(2), 141-9.

Sikaris KA. Enhancing the Clinical Value of Medical Laboratory Testing. *Clin Biochem Rev*, 2017, 38(3), 107-114.

Štraus B, Plavšić V. Hormoni. U: Štrausova medicinska biokemija. Čvorišćec D, Čeplak I, urednice, Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 354-360.

Šupak-Smolčić V, Franin L, Horvat M, Šonjić P, Svatić R, Antončić D, Aralica M, Metzner D, Šimac M, Bilić-Zulle L. Serum bicarbonate stability study at room temperature - influence of time to centrifugation and air exposure on bicarbonate measurement reported according to the CRESS checklist. *Clin Chem Lab Med*, 2023, 61(6),1046-1053.

8. SAŽETAK / SUMMARY

8.1. Sažetak

Poremećaji funkcije štitne žlijezde u sve su većem porastu. Laboratorij, uz ultrazvučnu dijagnostiku, ima ključnu ulogu u dijagnozi i diferencijaciji poremećaja te praćenju terapije. U tu svrhu, određuju se funkcijski testovi štitnjače TSH, tT₄, tT₃, fT₄, fT₃, anti-TPO i anti-TG.

U rutinskom radu laboratorija, ponekad je potrebno odgoditi ili naknadno odrediti pojedine testove, zbog čega je važno znati vremenske okvire i temperaturne uvjete u kojima su testovi stabilni.

Ciljevi ovog istraživanja bili su ispitati stabilnost funkcijskih testova štitnjače u serumu u epruветama s gelom tijekom 8 h na sobnoj temperaturi te tijekom 72 sata na 2 – 8 °C, s prethodnim stajanjem uzoraka seruma 8 h na sobnoj temperaturi.

Ispitivanje je provedeno u Endokrinološkom laboratoriju KBC Sestre milosrdnice, a dizajn istraživanja prilagođen je prema uputama Radne grupe za predanalitiku EFLM-a. Na automatskom analizatoru *Abbott Architect i2000* određivale su se koncentracije TSH, tT₄, tT₃, fT₄, fT₃, anti-TPO i anti-TG u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h, 8 h, 24 h, 48 h i 72 h). Stabilnost pojedinog testa je određena uspoređivanjem srednjeg postotka odstupanja (\overline{PD}) u definiranim vremenskim točkama i maksimalnog dopuštenog odstupanja (MPD/%), a rezultati su prikazani grafički.

Dobiveni rezultati pokazali su kako, za niti jedan funkcijski test, srednji postotak odstupanja u definiranim vremenskim točkama ne premašuje maksimalno dopušteno odstupanje te je time dokazano da su funkcijski testovi štitnjače stabilni u serumu u epruветama s gelom 8 h na sobnoj temperaturi te tijekom 72 h na temperaturi 2 – 8 °C s prethodnim stajanjem uzoraka seruma 8 h na sobnoj temperaturi. Sukladno tome, određivanje funkcijskih testova štitnjače iz seruma je moguće odgoditi ili naknadno odraditi unutar 72 h.

8.2. Summary

Nowadays, the number of thyroid gland disorders is rapidly rising. Laboratory together with ultrasound diagnostics has a key role in diagnosis, differentiation of disorders and therapy monitoring. Thyroid function tests TSH, tT₄, tT₃, fT₄, fT₃, anti-TPO i anti-TG are determined for this purpose.

In the routine work of the laboratory, it is sometimes necessary to postpone or subsequently determine certain tests, which is why it is important to know the time frames and temperature conditions in which the tests are stable.

The aims of this study were to study the stability of thyroid function tests in serum in tubes with gel during 8 h at room temperature and during 72 h at 2 – 8 °C, with previous storage of serum samples for 8 h at room temperature.

The study was conducted in the Endocrine Laboratory of KBC Sestre milosrdnice, and the research design was adapted according to the instructions of the Working Group for Preanalytics of EFLM. The concentrations of TSH, tT₄, tT₃, fT₄, fT₃, anti-TPO and anti-TG were determined on the *Abbott Architect i2000* automatic analyzer at defined time points (0 h, 4 h, 8 h, 24 h, 48 h and 72 h). The stability of an individual test is determined by comparing the mean percentage of difference (\overline{PD}) at defined time points and the maximum allowed difference (MPD/%). The results of the study are presented graphically.

The obtained results showed that, for any functional test, the mean percentage of difference at the defined time points did not exceed the maximum allowed difference, which proves that the functional tests are stable in serum in test tubes with gel for 8h at room temperature and for 72 h at a temperature of 2 – 8 °C with previous storage of the serum samples for 8 h at room temperature. Therefore, the determination of thyroid function tests in serum can be postponed or subsequently performed within 72 hours.

9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Temeljna dokumentacijska kartica

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

Diplomski rad

Određivanje stabilnosti funkcijskih testova štitnjače

Rea Takač

SAŽETAK

Poremećaji funkcije štitne žlijezde u sve su većem porastu. Laboratorij, uz ultrazvučnu dijagnostiku, ima ključnu ulogu u dijagnozi i diferencijaciji poremećaja te praćenju terapije. U tu svrhu, određuju se funkcijski testovi štitnjače TSH, tT_4 , tT_3 , fT_4 , fT_3 , anti-TPO i anti-TG. U rutinskom radu laboratorija, ponekad je potrebno odgoditi ili naknadno odrediti pojedine testove, zbog čega je važno znati vremenske okvire i temperaturne uvjete u kojima su testovi stabilni. Ciljevi ovog istraživanja bili su ispitati stabilnost funkcijskih testova štitnjače u serumu u epruvetama s gelom tijekom 8 h na sobnoj temperaturi te tijekom 72 sata na $2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$, s prethodnim stajanjem uzoraka seruma 8 h na sobnoj temperaturi. Ispitivanje je provedeno u Endokrinološkom laboratoriju KBC Sestre milosrdnice, a dizajn istraživanja prilagođen je prema uputama Radne grupe za predanalitiku EFLM-a. Na automatskom analizatoru *Abbott Architect i2000* određivale su se koncentracije TSH, tT_4 , tT_3 , fT_4 , fT_3 , anti-TPO i anti-TG u definiranim vremenskim točkama (0 h, 4 h, 8 h, 24 h, 48 h i 72 h). Stabilnost pojedinog testa je određena uspoređivanjem srednjeg postotka odstupanja (\overline{PD}) u definiranim vremenskim točkama i maksimalnog dopuštenog odstupanja (MPD/%), a rezultati su prikazani grafički. Dobiveni rezultati pokazali su kako, za niti jedan funkcijski test, srednji postotak odstupanja u definiranim vremenskim točkama ne premašuje maksimalno dopušteno odstupanje te je time dokazano da su funkcijski testovi štitnjače stabilni u serumu u epruvetama s gelom 8 h na sobnoj temperaturi te tijekom 72 h na temperaturi $2 - 8\text{ }^\circ\text{C}$ s prethodnim stajanjem uzoraka seruma 8 h na sobnoj temperaturi. Sukladno tome, određivanje funkcijskih testova štitnjače iz seruma je moguće odgoditi ili naknadno odraditi unutar 72 h.

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

Rad sadrži: 63 stranica, 28 grafičkih prikaza, 8 tablica i 25 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Štitnjača, stabilnost, tiroksin, trijodtironin, antitijela

Mentor: **Dr. sc. Donatella Verbanac**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Sanja Goreta, *spec. med. biokemije i lab. medicine, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Donatella Verbanac**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Karmela Barišić, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: srpanj 2023.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medical biochemistry
Department of Medical biochemistry and Hematology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

The stability study of thyroid function tests

Rea Takač

SUMMARY

Nowadays, the number of thyroid gland disorders is rapidly rising. Laboratory together with ultrasound diagnostics has a key role in diagnosis, differentiation of disorders and therapy monitoring. Thyroid function tests TSH, tT_4 , tT_3 , fT_4 , fT_3 , anti-TPO i anti-TG are determined for this purpose. In the routine work of the laboratory, it is sometimes necessary to postpone or subsequently determine certain tests, which is why it is important to know the time frames and temperature conditions in which the tests are stable. The aims of this study were to study the stability of thyroid function tests in serum in tubes with gel during 8 h at room temperature and during 72 h at 2 – 8 °C, with previous storage of serum samples for 8 h at room temperature. The study was conducted in the Endocrine Laboratory of KBC Sestre milosrdnice, and the research design was adapted according to the instructions of the Working Group for Preanalytics of EFLM. The concentrations of TSH, tT_4 , tT_3 , fT_4 , fT_3 , anti-TPO and anti-TG were determined on the *Abbott Architect i2000* automatic analyzer at defined time points (0 h, 4 h, 8 h, 24 h, 48 h and 72 h). The stability of an individual test is determined by comparing the mean percentage of difference (\overline{PD}) at defined time points and the maximum allowed difference (MPD/%). The results of the study are presented graphically. The obtained results showed that, for any functional test, the mean percentage of difference at the defined time points did not exceed the maximum allowed difference, which proves that the functional tests are stable in serum in test tubes with gel for 8 h at room temperature and for 72 h at a temperature of 2 – 8 °C with previous storage of the serum samples for 8 h at room temperature. Therefore, the determination of thyroid function tests in serum can be postponed or subsequently performed within 72 hours.

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

Thesis includes: 63 pages, 28 figures, 8 tables and 25 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Thyroid gland, stability, thyroxine, triiodthyronine, antibodies

Mentor: **Donatella Verbanac, Ph.D.** Associate professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Sanja Goreta, European Specialist in Laboratory Medicine, University Hospital Center Sestre milosrdnice, Zagreb

Reviewers: **Donatella Verbanac, Ph.D.** Associate professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Karmela Barišić, Ph.D. Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Lidija Bach-Rojecky, Ph.D. Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July, 2023.