



# LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry  
Časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

**Číslo 1/2013**

Ročník XVIII.

**LABKVALITA 2013**

20. výročie/*20th anniversary*

1993—013

Hotel Patria\*\*\*\*

Štrbské Pleso, Slovakia

October 6–October 8, 2013

Vydáva Slovenská spoločnosť klinickej biochémie pre SLS  
Povolené Ministerstvom Kultúry SR pod reg. č. 1531/96

ISSN 1335-2644



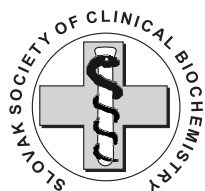
# Abbott Laboratories

Ideálny  
partner  
pre  
spoľahlivé  
a presné  
laboratórne  
výsledky



**Abbott Laboratories Slovakia s.r.o**  
Diagnostic Division  
Karadžičova 10, CBC I  
821 08 Bratislava 2  
[www.abbottdiagnostics.sk](http://www.abbottdiagnostics.sk)

 **Abbott**  
A Promise for Life



# LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry

Časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 1/2013

Ročník XVIII.

## PRESEDA REDAKČNEJ RADY

Katarína Daňová

## VÝKONNÝ REDAKTOR

Oliver Rácz

## ODBORNÝ REDAKTOR

Ján Mocák

## REDAKČNÁ RADA

Anna Stecová, bývalá predsedkyňa redakčnej rady

Ján Balla, bývalý výkonný redaktor

Pavol Blažíček, bývalý výkonný redaktor

Denisa Maceková, korektorka

Roman Alberty

Peter Božek

Ladislav Cebecauer

Jozef Čársky

Ivan Čižmár

Michal Farkaš

Drahošlav Gábor

Ján Lepej

Tomáš Lipšic

Vladimír Kohút

Peter Kubisz

Ivan Pecháň<sup>†</sup>

Hedviga Pivovarníková

Viera Spustová

Dagmar Syrová

Katarína Šebeková

Helena Šeboková

Ivana Šidlíková

Božena Švecová

Rastislav Valko

Juraj Volmut

Vydáva Slovenská spoločnosť klinickej biochémie pre SLS

Povolené Ministerstvom Kultúry SR pod reg. č. 1531/96

ISSN 1335-2644

# OBSAH

## PREDNÁŠKY

SIMUNDIC, A. M.: Quality indicators in the pre-analytical phase.....	17
COSTIGLIOLA, V., GOLUBNITSCHAJA, O.: Perspectives for application of new guidelines in PPPM healthcare in Europe .....	18
GOLUBNITSCHAJA, O., KAPALLA, M.: Clustered PPPM centres as cornerstones of Common-Sense-Based Healthcare .....	19
GÁBOR, D., DAŇOVÁ, K., SEČNÍK, P.: Očakávania laboratórných pracovísk od uplatnenia DRG systému .....	20
HERIBAN, V.: SEDMA – ciele a úlohy Asociácie pre najbližšie obdobie .....	21
STÖCKL, D.: Quality in the medical laboratory – What has been achieved?.....	23
THIENPONT, L. M.: New trends in monitoring the quality of laboratory tests .....	24
BALLA, J.: Kvalita v medicínskych laboratóriách. Monitoring alebo manažment. Stará sa niekto? .....	25
TIKKAINEN, U., RAUVO, P.: Focus on Pre-analytics in EQA .....	27
PALIČKA, V.: Jak kvantifikovat kvalitu zdravotní péče? .....	28
KAPALLA, M., KUBÁŇ, J., KAPALLOVÁ, D.: Koľko stojí zdravie? Ekonomické aspekty zdravého životného štýlu z pohľadu prediktívnej, preventívnej a personalizovanej medicíny .....	29
LEPEJ, J., LEPEJOVÁ, K.: Chytí slovenské zdravotníctvo druhý dych? Alebo nekonečný seriál „čiernych“ prednášok .....	35
TRBUŠEK, J.: Nový rozměr v diagnostice akutního koronárního syndromu – high-senzitivní troponin I firmy Abbott Laboratories.....	47
MANDEL, S.: New markers in neurodegenerative diseases — are routine clinical labs ready? .....	48
KRAPFENBAUER, K.: Economic and Technical Aspects from Biomarker Identification to Companion Diagnostic — Co Development .....	49
HORNA, A., VANĚRKOVÁ, D.: Nové aplikační možnosti chromatografie, hmotnostní spektrometrie a elektrochemie v klinické diagnostice. New application possibilities of chromatography, mass spectrometry and electrochemistry in clinical diagnostics.....	50
ZIMA, T., SPRINGER, D.: Nádorové markery – současný stav a budoucnost. Tumor markers — state of the art and the future.....	52
KUBALA, J., BŮTOVÁ, Z., VILHANOVÁ, A.: Presepsin – biomarker zápalu a sepsy.....	53
DELSEITH, I.: Lp-associated PLA <sub>2</sub> — Closing the diagnostic gap in the cardiovascular risk assessment .....	55
ONDRIAŠ, F.: Patologická anatomia na prahu 21. storočia – súčasnosť a perspektívy.....	56
KOVÁČ, G., PORUBENOVÁ, A.: Outsourcing v laboratórnej medicíne: analýza dopadov .....	58
CISARIK, F.: Kvalitatívne kritériá v procese diagnostiky zriedkavých chorôb.....	60
BLAŽÍČEK, P.: Možnosti biochemických vyšetření v spresnění diagnostiky rakoviny prostaty. Etika, medicína a biznis – kto zlyháva?.....	61

RÁCZ, O., FODOR, B., MACEKOVÁ, D., VANÍK, V.: Recent progress in type 2 diabetes mellitus pathogenesis and its perspectives in the diagnosis and therapy of the disease.....	63
MATULA, P.: Štatistika v laboratórnej medicíne, alebo „kedy je 4,5 rovné 5,4“? .....	64
BLAŽÍČEK, P.: Nepoznaný feochromocytóm u pacienta: kto pochybil? .....	65
PECEN, L., KALÁBOVÁ, R., NEKULOVÁ, M., TRBUŠEK, J.: On importance of accurate definition of cutt-off limits for tumor markers. Důležitost přesného stanovení cutt-off limitů u tumorových merkerů .....	66
VYSKOČIL, L.: Possibilities of MS Excel spreadsheets for quality management of laboratory tests. Možnosti využitia matematických modulov MS Excelu priradení kvality vyšetrení.....	67
DOMBROVSKÝ, P., PIVOVARNÍKOVÁ, H., VARGOVÁ, M., RÁCZ, O.: Stanovenie vybraných parametrov lipidového a sacharidového metabolizmu metódou POCT .....	68
KRATOCHVÍLA, J., BUDINA, M.: Kvalita výsledků POCT a její srovnání s laboratořemi .....	67
TRECHOVÁ, M., FARKAŠ, M.: Laboratorna diagnostika zoči-voči novej paradigme: premena kontroly kvality na manažment rizika pacienta.....	69
BUDINA, M., KRATOCHVÍLA, J.: Jak se zlepšila analytická kvalita v ČR a SR za posledních 10 let z pohledu výsledků externího hodnocení kvality .....	72
BLAŽÍČEK, P., BARTKO, D., BUC, M., GOMBOŠOVÁ, Z., DANIHEL, L., FABČIN, J.: Pohľad na aterosklerózu sa zásadne zmenil a prešli sme od cholesterolu k zápalovým markerom. Čo na to kontrola kvality?.....	74

\* \* \*

## IN EXTENZO ČLÁNKY

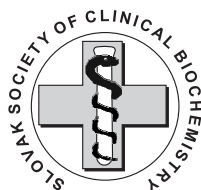
MARCELA VALKO-ROKYTOVSKÁ, BEÁTA HUBKOVÁ, MAREK STUPÁK, JANA MAŠLANKOVÁ, MÁRIA MAREKOVÁ: Možnosti fluorescenčnej spektroskopie v klinicko-biochemickej diagnostike Časť I – teoretické a metodické východiská .....	79
MARCELA VALKO-ROKYTOVSKÁ, MAREK STUPÁK, BEÁTA HUBKOVÁ, JANA MAŠLANKOVÁ, MÁRIA MAREKOVÁ: Možnosti fluorescenčnej spektroskopie v klinicko-biochemickej diagnostike Časť II – fluorescencia biologických systémov .....	87
SOŇA TKÁČIKOVÁ, MÁRIA MAREKOVÁ, BEÁTA HUBKOVÁ, MIROSLAVA NÉMETHOVÁ, JÁN SABO: Hmotnostná spektrometria a možnosti jej využitia v diagnostike .....	94
RENÁTA LENÁRTOVÁ, BEÁTA HUBKOVÁ, MARCELA VALKO-ROKYTOVSKÁ, JURAJ GUZY, MÁRIA MAREKOVÁ: Interleukín 6, prokalcitonín a C-reaktívny proteín v klinicko-biochemickej diagnostike infekcie .....	100
MARCELA VALKO-ROKYTOVSKÁ, MARIANNA ZÁBAVNÍKOVÁ, ANNA BIRKOVÁ, BEÁTA HUBKOVÁ, MÁRIA MAREKOVÁ: Metabolizmus melanínov .....	111



ODBORNÝ PROGRAM KONFERENCIE SSKB  
SCIENTIFIC PROGRAM OF THE BIENNIAL CONFERENCE OF  
THE SLOVAK SOCIETY OF CLINICAL BIOCHEMISTRY

# LABKVALITA 2013

20. výročie/20<sup>th</sup> anniversary  
1993–2013



HOTEL PATRIA\*\*\*\*

ŠTRBSKÉ PLESO, SLOVAKIA  
OCTOBER 6—OCTOBER 8, 2013



**Nedeľa, 6. októbra 2013/Sunday, October 6, 2013**  
**10:00–18:00 Registrácia účastníkov/Registration desk**

**I. IMPEMENTÁCIA DRG V SYSTÉME ZDRAVOTNEJ STAROSTLIVOSTI**  
**I. IMPLEMENTATION OF DRG IN THE HEALTHCARE SYSTEM**

**Predsedajúci:** **M. Kapalla, J. Balla, K. Daňová, D. Gábor**  
**Chairs:**

Čas a poradie Scheduled Time		Názov prednášky Lecture	Prednášajúci & spoluautori Lecturer & co-authors	Organizácia Lecturer's Affiliation
14:00–14:20	Nº	Otvorenie Labkvality 2013/ Conference Opening	K. Daňová, J. Balla, P. Blažíček, M. Kapalla	SSKB, Bratislava, Slovakia
14:20–14:50	1	Plenárna prednáška/Plenary lecture Quality indicators in the preanalytical phase	A. M. Simundic	EFLM & Univ. of Zagreb, Croatia
14:50–15:20	2	Plenárna prednáška/Plenary lecture Perspectives for application of new guidelines in PPPM healthcare in Europe	V. Costigliola & R. Danesi	EPMA, EMA, Brussels, Belgium, Univ. of Pisa, Italy,
15:20–15:50	3	Plenárna prednáška/Plenary lecture Clustered PPPM centres as cornerstones of Common-Sense-Based Healthcare	O. Golubnitschaja & R. Danesi, M. Del Re	EPMA, FW University, Bonn, Germany, Univ. of Pisa, Italy
15:50–16:40	Prestávka/Coffee Break			
16:40–16:55	4	Čo očakávajú laboratória od zavedenia DRG systému? What do laboratories expect after im- plmentation of DRG system?	D. Gábor & P. Sečník, K. Daňová	FNsP FDR B.Bystrica, SK-Lab, Lučenec, NÚSCH, Bratislava, Slovakia
16:55–17:25	5	Stav prípravy na zavedenie klasifikačného systému DRG. Implementation of DRG in Slovakia – state of the art	Z. Ďurčíková	CKS DRG, ÚDZS, Bratislava, Slovakia
17:25–17:40	6	SEDMA a jej úlohy v laboratórnej diagnostike na Slovensku. The role of SEDMA in laboratory diagnostics in Slovakia	V. Heriban	SEDMA, o.z., Bratislava, Slovakia
17:40–18:00	Diskusný blok /Discussion			

**20:00 Spoločenský večer/Social event**

Pondelok, 7. októbra 2013/ Monday, October 7, 2013

**II. VEDA, EKONOMIKA, POLITIKA, ETIKA A KVALITA V LABORATÓRIU A ZDRAVOTNEJ STAROSTLIVOSTI**  
**II. SCIENCE, ECONOMY, POLITICS, ETHICS AND QUALITY IN LABORATORY AND HEALTHCARE**

**Predsedajúci:**  
**Chairs: J. Balla, K. Lepejová**

<b>Čas Scheduled Time</b>		<b>Názov prednášky Lecture</b>	<b>Prednášajúci &amp; spoluautori Lecturer &amp; co-authors</b>	<b>Organizácia Lecturer's Affiliation</b>
8:30–8:50	7	<i>Quality in medical laboratory. What has been achieved?</i>	D. Stöckl	STTConsulting, Belgium
8:50–9:10	8	<i>New trends in monitoring the quality of laboratory tests</i>	L. Thienpont	University Gent, Belgium
9:10–9:25	9	Kvalita v medicínskych laboratóriách. Monitoring alebo manažment. Stará sa niekto? <i>Quality in medical laboratories. Monitoring and/or management? Does anyone care?</i>	J. Balla	AdLa, s.r.o., Prešov, Slovakia
9:25–9:40	10	<i>Focus on Pre-analytics in EQA Lecture sponsored by Labquality</i>	U. Tikkanen & P. Rauvo	Labquality, Finland
9:40–10:00	Diskusný blok/Discussion			
10:00–10:30	Prestávka/Coffee Break			
10:30–10:45	11	Ako kvantifikovať kvalitu systému zdravotnej starostlivosti? <i>How can we quantify the quality of healthcare?</i>	V. Palička	Ústav klin. biochémie, Hradec Králové, Czech Republic
10:45–11:00	12	Koľko stojí zdravie? Ekonomické aspekty zdravého života. <i>How much is the health? Economical aspects of healthy lifestyle</i>	M. Kapalla & J. Kubáň, D. Kapallová	EPMA, Brussels, Belgium, LF UK Bratislava, Artemeda, s.r.o. Ružomberok, Slovakia
11:00–11:15	13	Chytí slovenské zdravotníctvo druhý dych? alebo Nekonečný seriál „čiernych“ prednášok. <i>Shall Slovak healthcare system catch a second wind? or Never ending series of the "dark" lectures.</i>	J. Lepej & K. Lepejová	INMM, Košice, Cumulus, s.r.o., Košice, Slovakia
11:15–11:30	14	Možnosti posudzovania kvality internej kontroly kvality (IKK) v biochemických analyzátoroch. <i>Assessment of internal quality control (IQC) onboard of biochemical analysers Lecture sponsored by Beckman Coulter</i>	M. Bischof	Beckman Coulter, Praha, Czech Republic
11:30–11:45	15	Nový rozměr v diagnostice akutního koronárního syndromu – high-senzitivní troponin I firmy Abbott Laboratories. <i>Lecture sponsored by Abbott Laboratories</i>	J. Trbušek	Abbott Laboratories, Praha, Czech Republic
11:45–12:05	Diskusný blok/Discussion			

**12:05–13:30 Obed/Lunch Break**



Pondelok, 7. októbra 2013/ Monday, October 7, 2013

III. NOVÉ TRENDY V LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKE  
III. NEW TRENDS IN LABORATORY DIAGNOSTICS

Predsedajúci:  
Chairs: **M.Kapalla, P. Blažiček**

Čas Scheduled Time	Názov prednášky Lecture	Prednášajúci & spoluautori Lecturer & co-authors	Organizácia Lecturer's Affiliation
13:30–13:50	16 <i>New markers in neurodegenerative diseases — are routine clinical labs ready?</i>	S. Mandel & L. Molochnikov	EPMA, Belgium, Eve Topf CNDR, Technion, Haifa, Sackler School of Medicine, Tel Aviv Univ., Israel
13:50–14:10	17 <i>Economic and Technical Aspects from Biomarker Identification to Companion Diagnostic— Co Development</i>	K. Krapfenbauer	EPMA, Vienna, Austria
14:10–14:25	18 Nové aplikační možnosti chromatografie, hmotnostní spektrometrie a elektrochemie v klinické diagnostice. <i>New application possibilities of chromatography, mass spectrometry and electrochemistry in clinical diagnostics</i>	A. Horna	Radanal s.r.o., Pardubice, Czech Republic
14:25–14:45	Diskusný blok/ <i>Discussion</i>		
14:45–15:15	Prestávka/ <i>Coffee Break</i>		
15:15–15:30	19 Nádorové markery – současný stav a budoucnost. <i>Tumor markers — state of the art and the future</i>	T. Zíma	LF UK, Praha, Czech Republic
15:30–15:45	20 Presepsín – biomarker zápalu a sepsy <i>Presepsin – biomarker of inflammation and sepsis</i>	J. Kubala & Z. Bútová, A. Vilhanová	ÚVN Ružomberok, NsP Lučenec, Slovakia
15:45–16:00	21 <i>Lp-associated PLA<sub>2</sub> – Closing the diagnostic gap in the cardiovascular risk assessment</i>	I. Delseith	DiaSys Diagnostic Systems, Germany
16:00–16:15	22 Patológia na počiatku 21. storočia – súčasnosť a perspektívy. <i>Pathology at the beginning of the 21<sup>st</sup> century – state of the art and perspectives</i> <i>Lecture sponsored by ROCHE</i>	F. Ondriaš	Alpha medical patológia, s.r.o., Bratislava Slovakia
16:15–16:35	Diskusný blok/ <i>Discussion</i>		

**20:00 Spoločenský večer/Social event**

**IV. KEĎ/KDE ZLYHÁVA LABORATÓRIUM/LEKÁR/DODÁVATEĽ/MY VŠETCI**  
**IV. WHEN/WHERE THE LABORATORY/PRACTICE/SUPPLIER FAILS**

**Predsedaajúci:** J. Lepej, M. Kapalla  
**Chairs:**

Čas Scheduled Time		Názov prednášky Lecture	Prednášajúci & spolu- autori Lecturer & co-authors	Organizácia Lecturer's Affiliation
8:30–8:45	23	Koncentrácia a outsourcing laboratórnej diagnostiky: Analýza dopadov. <i>Concentration and outsourcing of laboratory diagnostics: Analysis of the consequences</i>	G. Kováč & A. Porubenová	ÚCHKBaLM, SZÚ, Bratislava, Slovakia
8:45–9:00	24	Kvalitatívne kritériá v procese diagnostiky zriedkavých chorôb. <i>Qualitative criteria in the diagnostics of rare diseases</i>	F. Cisárik	FNsP Žilina, Slovakia
9:00–9:15	25	Možnosti biochemických vyšetrení v spresnení diagnostiky rakoviny prostaty. Etika, medicína a biznis - kto zlyháva? <i>Potential of biochemical tests for improving the prostate cancer diagnostics. Ethics, medicine and business — Who does fail?</i>	P. Blažíček	Alpha medical, a.s. Bratislava, Slovakia
9:15–9:35	Diskusný blok/Discussion			
9:35–9:50	Prestávka/Coffee Break			

**V. PREDNÁŠKY PRE PRAX  
V. QUALITY-RELATED EDUCATION**

**Predsedajúci:  
Chairs: O. Rácz, P. Blažíček**

Čas Scheduled Time		Názov prednášky Lecture	Prednášajúci & spolu- autori Lecturer & co-authors	Organizácia Lecturer's Affiliation
9:50–10:05	26	Nové poznatky o patogenéze diabetes mellitus 2. typu a ich perspektívny dopad na diagnostiku a liečbu choroby. <i>Latest knowledge about pathogenesis of diabetes mellitus type 2 and its potential impact on diagnostics and therapy</i>	O. Rácz	LF ÚPJŠ, Košice, Slovakia
10:05–10:20	27	Štatistika v laboratórnej diagnostike: Kedy sa 4,5 rovná 5,4? <i>Statistics in laboratory diagnostics: When does 4.5 equal 5.4?</i>	P. Matula	UNLP, Košice, Slovakia
10:20–10:35	28	Nepoznaný feochromocytóm u pacienta. Kto pochybil? <i>Undiagnosed pheochromocytoma - case study: Who did fail?</i>	P. Blažíček	Alpha medical a.s., Bratislava, Slovakia
10:35–10:50	Prestávka/Coffee Break			
10:50–11:05	29	Dôležitosť presného stanovenia cut-off limitov u tumorových markerov. <i>On importance of accurate definition of cut-off limits for tumor markers</i>	L. Peceň, & M. Nekulová	MOÚ, Brno, Czech Republic
11:05–11:20	30	Možnosti využitia matematických modulov MS Excelu pri riadení kvality vyšetrení. <i>Possibilities of MS Excel spreadsheets for quality management of laboratory tests</i>	L. Vyskočil	Slov. metrologický ústav, Bratislava, Slovakia
11:20–11:35	31	Stanovenie vybraných parametrov lipidového a sacharidového metabolizmu metódou POCT. <i>Determination of the particular parameters of metabolism of lipids and sugars by POCT method</i>	P. Dombrovský & H. Pivovarníková, M. Vargová, O. Rácz	ÚPF, LF UPJŠ, Košice, Synlab Slovakia, s.r.o. Interdia, s.r.o., Prešov, Slovakia
11:35–11:50	Diskusný blok/Discussion			
11:50–12:10	Prestávka/Coffee Break			

**VI. PROBLÉMY, RIEŠENIA A VÍZIE V KVALITE LABORATÓRIÍ**  
**VI. PROBLEMS, SOLUTIONS AND VISIONS IN THE QUALITY OF CLINICAL LABORATORIES**

**Predsedajúci:** P.Blažíček, M. Trechová  
**Chairs:**

Čas <i>Scheduled Time</i>		Názov prednášky <i>Lecture</i>	Prednášajúci & spoluautori <i>Lecturer &amp; co-authors</i>	Organizácia <i>Lecturer's Affiliation</i>
12:10–12:25	32	Kvalita výsledků POCT a její srovnání s laboratořemi. <i>Lecture sponsored by SEKK</i>	J. Kratochvíla	SEKK, Pardubice, Czech Republic
12:25–12:40	33	Laboratorná diagnostika zoči-voči novej paradigme: premena kontroly kvality na manažment rizika pacienta. <i>Laboratory diagnostics is facing new paradigm : transformation of quality control into patient risk management</i>	M. Trechová	SKIZP, Bratislava Slovakia
12:40–12:55	34	Ako sa zlepšila analytická kvalita v ČR a SR za posledných 10 rokov z pohľadu výsledkov externého hodnotenia kvality. <i>Improvements from EQA standpoint in analytical quality in the Czech Republic and Slovakia in the course of last ten years</i>	M. Budina	SEKK, Pardubice, Czech Republic
12:55–13:10	35	Pohľad na aterosklerózu sa zásadne zmenil a prešli sme od cholesterolu k zápalovým markerom. Čo na to kontrola kvality? <i>Our view of atherosclerosis has substantially changed and we moved from cholesterol to inflammation markers. How does IQA and EQA respond?</i>	P. Blažíček	Alpha medical, a.s., Bratislava, Slovakia
13:10–13:30		Diskusný blok/ <i>Discussion</i>		
13:30–13:40		Záver konferencie/ <i>Concluding Remarks</i>	K. Daňová	SSKB, Bratislava, Slovakia

**od 13:10 Obed/Lunch**

## **PARTNERI**

\*\*\*

Abbott Laboratories  
Slovakia, s.r.o.

Beckman Coulter  
Slovenská republika, s.r.o.

Roche Slovensko, s.r.o.

## **VYSTAVOVATELIA**

\*\*\*

Bio G, spol. s r.o.

Biogema, v. d.

Biomedica Slovakia, s.r.o.

BioRad, spol. s r.o.

Erba Lachema, s.r.o.

Eurolab Lambda, a.s.

Jemo Trading spol. s r.o.

Radiometer, s.r.o.

Randox, s.r.o.

Siemens, s.r.o.

Stapro Slovensko, s.r.o.

Sysmex Slovakia, s.r.o.

# LABKVALITA 2013

20. výročie/*20th anniversary*  
1993—2013

Hotel Patria\*\*\*\*  
Štrbské Pleso, Slovakia  
October 6–October 8, 2013

**P**REDNÁŠKY

# QUALITY INDICATORS IN THE PRE-ANALYTICAL PHASE

**Simundic, A. M.**

Clinical Institute of Chemistry  
Clinical Hospital center SESTRE MILOSRDNICE  
Zagreb, Croatia

E-mail: am.simundic@gmail.com

## ABSTRACT

The key goal of implementing the Total Quality Management in medical laboratories is to provide its customers (patients, physicians, nurses, clinical staff etc.) with products and services that fully meet their needs. Basic feature of such systems is the concept of continuous quality improvement and implementation of quality indicators. Quality indicators are objective and measurable indicators of the quality of a system. It is very important that quality indicators address all three key processes in the laboratory: preanalytical, analytical and postanalytical. Quality indicators in the preanalytical phase of the laboratory testing may quantify the number of erroneous requests, errors in patient identification, test order (in)appropriateness, inadequate sample (hemolytic, lypemic, clotted etc.), missing sample (sample lost or not received), needle

stick injuries etc. Some authors have even suggested the hemolysis index as a measure of the quality of pre-analytical phase. When implementing quality indicators, there are many issues to be addressed, such as: what exactly will be measured, can the data be collected and analyzed easily, how and when are indicators going to be reported, are acceptance limits for the indicator known, what is the meaning of one bad result etc. Unfortunately, there is still no universal agreement on the core set of quality indicators for preanalytical phase. Several professional bodies, such as IFCC Working group on Laboratory errors and patient safety (WG-LEPS) and EFLM Working group on Preanalytical phase (WG-PA) are currently working on the harmonization of the use of the preanalytical quality indicators. Until such agreement has been reached, each laboratory needs to define its own indicators and way to implement it into its quality system.

---

**Poznámka vydavateľa:** ďalšie s témou súvisiace články sú dostupné na dole uvedených adresách chorvátskeho časopisu *Biochemia Medica*.

**Editor's note:** further related articles by AM Simundic are available at the respective links of the Croatian journal *Biochemia Medica* (see below):

Ana-Maria Simundic, Giuseppe Lippi. Preanalytical phase – a continuous challenge for laboratory professionals. *Biochemia Medica* 2012;22(2):145-9. <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2012.017>

Ana-Maria Simundic. Practical recommendations for statistical analysis and data presentation in biochemical journal. *Biochemia Medica* 2012;22(1):15-23. <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2012.003>

Ana-Maria Šimundić, Elizabeta Topić. Quality indicators. *Biochemia Medica* 2008;18(3):311-19. <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2008.027>

# PERSPECTIVES FOR APPLICATION OF NEW GUIDELINES IN PPPM HEALTHCARE IN EUROPE

Costigliola, V.<sup>1</sup>, Golubnitschaja, O.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>The “European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine”

Brussels, Belgium, Avenue des Volontaires 19

1160 Bruxelles-Brussels, Belgique – Belgium

<sup>2</sup>Department of Radiology, Rheinische Friedrich-Wilhelms-University of Bonn, Germany

E-mail: vincenzo@epmanet.eu, golubnitschaja@epmanet.eu

## ABSTRACT

Current trends in medical services and health economy clearly demonstrate that **without innovation in healthcare** we can expect, in about 20 years from now, **an enormous economical pressure** within healthcare systems due to dramatic increase of the most common diseases such as diabetes mellitus, neurodegenerative pathologies (Alzheimer’s and Parkinson’s diseases, glaucoma and macular degeneration) and some cancer types.

On the other hand, effective utilisation of advanced early/predictive diagnostics, targeted prevention and medical services tailored to the person could enable a significant portion of population to reach the 100-year age limit while remaining vibrant and actively contributing members of the society and in excellent physical and mental health.

This task requires **intelligent political regulations and creation of new guidelines to advance current healthcare systems**. Targeted preventive measures should be well regulated by **innovative reimbursement programmes** introduced by policy-makers. This is considered as preventive medicine of future to effective costs. The overall concept in the field is conducted by the “European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine” (EPMA).

Global research and implementation programmes in bio/medicine, communication among scientific societies, healthcare-providers, policy-makers, educators and organised patient groups and, finally, a consolidation of professional groups in the branch will play a decisive role to drive the situation in favour of either optimistic or pessimistic scenario over the next 5–10 years.

**The legislation related to predictive, preventive and**

**personalised medicine (PPPM) would play a key role in the adequate regulation for the positive scenario.**

The stakeholders realise that without a correct juristic platform in healthcare, the global market cannot be created for a spectrum of PPPM related technological innovations and advances medical services; global industry is not motivated to bring corresponding products to the market; patenting of PPPM-related innovation remains unrequested which, altogether, leads to a stagnation of the validation of novel disease-specific biomarkers and unutilised research data. As long as the PPPM related legislation does not promote the implementation of innovative technologies in healthcare systems, the stakeholders are decoupled from each other and the concomitant activities are blocked. Indeed, our current large-scaled project (incl. all countries of the European Union and others worldwide) supported by the AvHumboldt-Foundation has clearly demonstrated a strongly handicapped process of the current policy making in healthcare systems, when the professional position and knowledge accumulated by the healthcare providers and relevant scientific institutions remains separated from/not requested by the legislation-responsible bodies.

PPPM related legislation was the central issue of the EPMA Summit in the EU-Parliament, held in Brussels on September 19<sup>th</sup> 2013 and of concomitant consultation of our experts group with the legislation relevant bodies in the Europe and worldwide. Issue-related innovative European and intercontinental projects, which EPMA introduces for further consideration at the EU-Commission, European Parliament and UNO are elaborated by the consortium of the world-leading professionals and professional groups.



# CLUSTERED PPPM CENTRES AS CORNERSTONES OF COMMON-SENSE-BASED HEALTHCARE

Golubnitschaja, O., Kapalla, M.

European Association for Predictive, Preventive and  
Personalised Medicine (EPMA), Brussels, Belgium

E-mail: Olga.Golubnitschaja@ukb.uni-bonn.de

## ABSTRACT

Systems of healthcare worldwide spend 7–12 % of GDPs, which resulted in approx. 7 trillion USD of total healthcare expenditures in 2011 [1]. The sad fact is that this amount of financial resources covers treatment of mostly preventable diseases and has limited, if any, impact on rising number of people suffering of the diseases which can be prevented if particular effort is exerted in this respect. The common sense and an elementary logic tells us that we should change philosophy from **unbalanced disease-oriented healthcare**, which, if left unchanged, can be expected to collapse sooner or later with probability very close to one, to the **new health-oriented healthcare** as an economically sustainable, logical, **common-sense-based** and progressive alternative and inevitable counter-balance.

European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine (EPMA) as a leading organisation in the field of predictive, preventive and personalised medicine (PPPM) recognises the complexity of the factors and inter-related influences that have impact on health of each particular person and having this complexity in mind EPMA has presented its vision of clustered PPPM centres which will support innovation, open mind, expertise, interdisciplinary and international cooperation, health-related frontier science, real-time application of health-related findings in healthcare and, most importantly, **health education for the benefit of the particular person** who wants to stay healthy through the lifetime. With support from EU legislation the visioned PPPM centres will become the cornerstones of new health-oriented and advanced healthcare, while, on the other hand, they will coop-

erate with current disease-oriented healthcare **for the benefit of the patient** [2, 3].

EPMA finds presented vision of PPPM centres the only logical and inevitable alternative to advance healthcare in European Union and to prevent collapse of the current healthcare systems. Since we are aware that practical realization of our visions is nothing close to an easy mission, we find it encouraging that EPMA- developed PPPM strategies worldwide get more and more acknowledged [4].

## REFERENCES

- [1] **World Bank** <http://data.worldbank.org/indicator/SH.XPD.TOTL.ZS/countries?display=graph>, Accessed, June 1, 2013.
- [2] **Golubnitschaja, O., Costigliola, V. & EPMA:** General Report & Recommendations in Predictive, Preventive and Personalised Medicine 2012: White Paper of the European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine. *The EPMA Journal* 2012, 3: 14.
- [3] **Golubnitschaja, O., Watson, I. D., Topic, E., Sandberg, S., Ferrari, M., Costigliola, V.:** Position paper of the EPMA and EFLM: A global vision of the consolidated promotion of an integrative medical approach to advance health care., *EPMA Journal* 2013, 4: 12, doi: 10.1186/1878-5085-4-12.
- [4] **Andrews, R. J.:** Global Knowledge, Local Medical Implementation: Predictive, Preventive and Personalised Medicine. In *“Too Big to Succeed. Profiteering in American Medicine”*, 2013, iUniverse, ISBN: 978-1-4759-7128-6 (sc); 978-1-4759-7130-9 (e).

# OČAKÁVANIA LABORATÓRNYCH PRACOVÍSK OD UPLATNENIA DRG SYSTÉMU

Gábor, D.<sup>1</sup>, Daňová, K.<sup>2</sup>, Sečník, P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>OKB FNsP F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

<sup>2</sup>OLM NÚSCH, a. s. Bratislava

<sup>3</sup>SK-Lasb, s. r. o, Lučenec

e-mail: dgabor@nspbb.sk

## ABSTRACT

DRG (Diagnoses Related Groups) je základom pre jeden zo spôsobov financovania činnosti zdravotníckych zariadení, V súčasnosti väčšina krajín EU má zavedený, alebo zavádza práve tento spôsob financovania svojho zdravotníctva. Konceptiu zabezpečenia a zavádzania DRG systému, ktorú vypracoval ÚDZS schválila vláda SR na svojom zasadaní 6. júla 2011. Z viacerých variant bol vybraný nemecký systém a postupne prebiehajú prípravné práce na jeho spustenie, ktoré bolo plánované na rok 2013 a postupne sa jeho termín oddialuje. Zatiaľ je jasné, že sa tento systém financovania bude týkať ústavnej zdravotnej starostlivosti. Pre zdravotné poisťovne, poskytovateľov zdravotnej starostlivosti I poisťencov by mal tento systém, priniesť lepší obraz o klinickej i ekonomickej náročnosti starostlivosti v rámci jednotlivých DRG, cena platby by mala byť stanovená na základe kalkulácie, úhrady by mali mať stanovené pravidlá. Od zavedenia DRG sa očakáva zlepšenie podmienok pri poskytovaní ústavnej zdravotnej starostlivosti, zlepšenie kvality z pohľadu materiálno-technických aj personálnych podmienok na základe objektívnejšieho hodnotenia jednotlivých poskytovateľov.

Laboratórne odbory sa problematike ekonomickej stránky svojej činnosti venujú sústavne s rovnakou vážnosťou, ako venujú aj ostatným stránkam svojej činnosti. Vďaka tomu boli laboratórne odbory pripravené po zavedení bodového systému na serióznu oponentúru, čo viedlo k relatívne prijateľnému finančnému ohodnoteniu ich práce, ale na druhej strane aj

upriamilo pozornosť budúcich privatizérov na činnosť SVLZ pracovísk. Všetci prežívame na vlastnej koži, aký dopad na všetky stránky našej činnosti mala „slovenská realizácia odštátnenia pracovísk SVLZ“.

Preto aj pri zavádzaní DRG systému vnímame na jednej strane sľubované pozitívne stránky tohoto kroku, na druhej strane sa nám ale vynárajú otázky, ktoré chceme v našom vystúpení sformulovať. Popri rekapitulácii, čo urobila SSKB v etape výberu a zavádzania DRG systému v SR by sme radi nastolili, čo dobré môže laboratóriám poskytnúť spustenie DRG systému v SR, sformulovať otázky, problémy a úlohy na riešenie, ktoré bude musieť SSKB riešiť podľa možnosti ešte v etape prípravy systému, prípadne v etape jeho kalibrácie (úvodnom zbieraní hodnoverných podkladov). Radi by sme získali auditorium pre aktívny prístup sformulovania pravidiel, ktoré povedú k prerozdeleniu balíka „ceny za prípad“. SSKB – klinickobiochemické laboratóriá by mali mať miesto v systéme laboratórnej činnosti, v systéme poskytovania zdravotníckej starostlivosti aj v prípade spustenia DRG. Tento okamih by nás mal nájsť pripravených a nemalo by dôjsť k ďalšej personálnej, odbornej devastácii činnosti laboratórnych odborov. Toto je úloha súčasných klinických biochemikov, pracovníkov laboratórnych pracovísk, ktorú za nich neurobí nik iný a ak ju nezvládneme, alebo urobíme nedostatočne, prípadne zle, budúce generácie nám budú vytýkať chyby a omyly tak, ako sa nás terajší mladí spolupracovníci majú právo pýtať, kam sme to vlastne doviedli náš odbor.

# SEDMA – CIELE A ÚLOHY ASOCIÁCIE PRE NAJBLIŽŠIE OBDOBIE

Heriban, V.

SEDMA, o.z., Bratislava, Slovakia

E-mail: Vladimir.Heriban@gmail.com

## ABSTRAKT

Asociácia SEDMA je členom Európskej asociácie výrobcov diagnostiky EDMA ([www.edma-ivd.eu](http://www.edma-ivd.eu)) so sídlom v Bruseli, ktorá má 43 korporátnych členov – celosvetovo najvýznamnejšie firmy segmentu – a 22 národných členov vrátane slovenskej SEDMA. V rámci týchto 22 národných členov pôsobí viac ako 500 na diagnostiku špecializovaných firiem. EDMA reprezentuje na úrovni Európskej únie záujmy segmentu diagnostiky *in vitro* v Európe. K hlavným aktivitám EDMA patrí:

- propagácia zdravotných a ekonomických benefitov diagnostiky pre zdravotníctvo a stratégiu manažmentu ochorení, pretože včasná a správna diagnóza je kľúčovou pre efektívnu zdravotnú starostlivosť a prevenciu nesprávnej liečby a vysokých nákladov na zdravotnú starostlivosť;
- legislatívne aktivity na úrovni Európskej únie realizované v Európskom parlamente, ktorých cieľom je poskytovať odborné stanoviská a informácie pre tvorbu legislatívy EÚ tak, aby zabezpečovali na trhu diagnostiky kvalitu, bezpečnosť a najmodernejšie metodiky;
- prieskum trhu diagnostiky *in vitro* v Európskej únii s cieľom poskytovať priebežný aj recipročný pohľad na vývoj všetkých segmentov trhu diagnostiky *in vitro* a z nej plynúcich možností analýzy trendov a vývoja vrátane metód Health Technology Assessmentu.

Asociácia SEDMA je občianske združenie firiem vyrábajúcich a dodávajúcich na slovenský trh laboratórnou diagnostiku *in vitro*. K dnešnému dňu má **10 korporátnych členov**: Abbott Laboratories, Beckman-Coulter, Biomedica Slovakia, biomérieux, MEDESA SK, OXOID

CZ, RANDOX, Roche Slovensko, Siemens a SYSMEX Slovakia. K základným cieľom, ktoré si Asociácia vytýčila, patrí posilňovanie postavenia laboratórnej diagnostiky v povedomí odbornej aj laickej verejnosti, aktívna účasť na slovenskom legislatívnom procese týkajúcom sa laboratórneho segmentu i zdravotnej starostlivosti v širšom zmysle slova, angažovanie sa v zásadách ekonomických pravidiel laboratórneho segmentu a podľa možností prispievať k presadzovaniu používania kvalitnej diagnostiky podľa štandardných postupov.

**SEDMA má pre najbližšie obdobie stanovené tieto hlavné aktivity:**

- **Fórum laboratórnej diagnostiky** – neinštitucionálna platforma združujúca na dobrovoľnej a neformálnej báze každého z oblasti laboratórnej diagnostiky na Slovensku, kto má záujem a možnosť aktívne pracovať v prospech segmentu.

Fórum má za sebou významný počin – zjednotenie segmentu vo vzťahu k úrovni preplácania laboratórných výkonov, kedy pod hlavičkou Fóra vznikla diskusná a pracovná skupina pre optimalizáciu Pravidiel uznávania laboratórných výkonov navrhnutými VŠZP v júli 2012. Vďaka mimoriadnemu pracovnému nasadeniu a mravčej práci sa namiesto pôvodného výrazne redukovaného zoznamu výkonov podarilo do praxe presadiť jeho racionálnu formu ako obojstranný (odborný a ekonomický) kompromis. Na jeseň tohto roku Fórum zorganizuje ďalšie stretnutie so všetkými zdravotnými poisťovňami s cieľom vyhodnotiť efektivitu týchto pravidiel a ich dopad na zdravotnú a ekonomickú efektivitu laboratórných výkonov.

## EKONOMICKÉ ZÁZEMIE SEGMENTU

- a) **mapovaním pohľadávok** členskej základne voči trhu v ich základnej štruktúre i časovej súslednosti poukazovať na dlhodobú nedofinancovateľnosť segmentu a potrebu systémového riešenia ako podklad pre spravodlivé ohodnotenie laboratórných výkonov v blízkej budúcnosti. Integrovať tieto údaje s informáciami zo segmentu zdravotníckych pomôcok aj liekov tak, aby vznikol komplexnejší obraz o finančnom stave zdravotnej starostlivosti. Zvýrazňovať podiel diagnostiky *in vitro* na výkonoch SVaLZ a upozorňovať na nepomer nákladov vynakladaných na diagnostiku *in vitro* a *in vivo*;
- b) **analýzou konkrétnych princípov DRG** poukazovať na mnohé stále otvorené otázky, ktoré v prípade ne(vy)riešenia môžu negatívne vplyvať na financovanie činnosti laboratórií:
- problematiku vzťahu externých laboratórií k nemocniciam, ktoré (a iba ktoré) budú v systéme DRG partnermi zdravotnej poisťovne pri úhrade;
  - prístup týchto diagnostických jednotiek k nákladovej matici v období kalibrácie;
  - miesto a význam kvalitatívnych kritérií v systéme (možný negatívny vplyv nekvalitných, a tým aj lacných diagnostických postupov a techník, ktoré môžu negatívne ovplyvniť mapovanie nákladov laboratórnej časti jednotlivých skupín DRG);
  - jednotnosť metodiky pri stanovovaní oprávnených nákladov laboratórných výkonov ako esenciálneho predpokladu realite zodpovedajúcich výsledkov;
  - heterogenita laboratórií z hľadiska veľkosti aj vlastníckych vzťahov ako možnosť rôzneho prístupu k stanovovaniu nákladov na jednotlivé laboratórne výkony;
  - existencia arbitra v systéme DRG pre prípad sporu medzi nemocnicou a nákupcom zdravotnej starostlivosti – zdravotnou poisťovňou ako aj pre prípad, že dôjde k problémom medzi externým laboratóriom a jeho odberateľom – nemocnicou.

## LEGISLATÍVNE PROSTREDIE

Aktívnou účasťou na legislatívnom procese presadzovať oprávnené záujmy svojej členskej na slovenskom trhu v súlade s legislatívnym prostredím Európskej únie:

- návrhmi a pripomienkovaním nových a nove-

lizácií existujúcich zákonovpresadzovať záujmy členskej základne do reálnej praxe;

- dostať do slovenskej legislatívy nový spôsob preukazovania zhody nadväzujúci na celoeurópsku databázu diagnostických zdravotníckych pomôcok *in vitro* EUDAMED a zabrániť tak možným komplikáciám, ktoré vyplývajú z nesúladu Zákona o verejnom obstarávaní a postupmi preukazovania zhody pre segment diagnostiky *in vitro*;
- v spolupráci s Komorou, odbornými spoločnosťami, hlavnými odborníkmi a ďalšími mienkotvornými osobnosťami segmentu hľadať konkrétne formy presadzovania objektívnych ukazovateľov kvality do slovenskej legislatívy týkajúcej sa laboratórneho segmentu.

## EDUKAČNÉ AKTIVITY

V spolupráci s Komorou, odbornými spoločnosťami, hlavnými odborníkmi a mienkotvornými špecialistami rozvinúť vzdelávacie aktivity pre odbornú verejnosť a dostávať tak do povedomia lekárov v PAS aj ŠAS najnovšie diagnostické metódy a postupy a ich benefity pre pacientov, lekárov aj nákupcov zdravotnej starostlivosti. Voliť pritom formy špecializovaných regionálnych seminárov, účasti na seminároch odborných spoločností aj nemocníc či participácii na celonárodných konferenciách.

**Participácia na ťažiskovej odbornej akcii roka (Zjazd SSKB, Labkvalita)** – svojou prítomnosťou aj aktívnou účasťou vo forme prezentácie/poetra prinášať informácie o aktuálnych aktivitách Asociácie a hľadať najefektívnejšie formy spolupráci v aktuálnych otázkach segmentu.

SEDMA považuje túto prezentáciu za ponuku na spoluprácu a je otvorená každému, kto k jej aktivitám chce prispieť: nápadmi, prácou, podporou. Veríme, že svojou činnosťou a jej výsledkami budeme prispievať k dobrému chodu, rozvoju a perspektívam odboru tak, aby mu aj v slovenskej zdravotnej starostlivosti patrilo adekvátne miesto z hľadiska odborného aj ekonomického. Na prospech všetkým: pacienta, lekára aj nákupcu zdravotnej starostlivosti.

# QUALITY IN THE MEDICAL LABORATORY – WHAT HAS BEEN ACHIEVED?

Stöckl, D.

STT Consulting, Belgium

e-mail: dietmar@stt-consulting.com

## ABSTRACT

I will present my personal thoughts about the “theoretical” and real quality achievements that have been made in the medical laboratory and will end with some considerations of what the future may require.

First, I will give an overview about what has been achieved in the regulatory field. This comprises the European Directive for *In Vitro* Diagnostic Medical Devices. In that connection, I will address the relevant ISO documents 15193, 15194, and 15195 which, together, define the reference measurement system in clinical chemistry/laboratory medicine. Further, I will give an overview about the elements of the traceability chain as described in ISO 17511 and touch on the Joint Committee for Traceability in Laboratory Medi-

cine (JCTLM). Last, not least, the status of laboratory accreditation and External Quality Assurance will be addressed. The topic will be concluded by the status of what has been achieved with regard to analytical quality specifications.

In the second part, I will give examples of what has been achieved in reality in terms of method precision, stability, and comparability. I will also address the importance of sample quality and the relevance of statistical education.

The last part of my lecture will be devoted to the requirements needed when some of the fundamental goals of the discipline are to be achieved. Those comprise, consensus about analytical quality, standardization, sample quality, regulation, and statistical expertise.

# NEW TRENDS IN MONITORING THE QUALITY OF LABORATORY TESTS

Thienpont, L. M.

Laboratory for Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences  
Ghent University, Harelbekestraat 72, Ghent, Belgium

E-mail: linda.thienpont@ugent.be

## ABSTRACT

This presentation will deal with new trends for external quality assessment (EQA). It is based on the “empower concept” recently designed at STT-Consulting in cooperation with University Ghent. Indeed, we believe that EQA is on the verge of transformation. The focus should be on establishing a bottom-up cooperation with laboratories and manufacturers with the aim to empower them for future tasks related to emerging global health-care policies. The empower concept has 4 pillars: (i) master comparisons with panels of single donation sera (ii) virtual EQA-1 and (iii) virtual EQA-2 based on monitoring of patient percentiles and internal quality control (IQC) data across laboratories and manufacturers, and (iv) conceptual/statistical education to share a common vision on analytical quality. Note that the term virtual refers to services based on data readily available in the laboratory, not necessarily generated from EQA samples. To put these pillars into practice, modern EQA systems need a decent IT-surrounding and connectivity to customers.

We see the following direct internal benefits from the empower project: master comparisons give laboratories

a calibration fix-point and information on basic quality of their assays and own performance; patient percentile monitoring serves as a real-time quality indicator for their daily performance; patient- and IQC-monitoring establish evidence about mid- to long-term variation of the instrument-calibrator-reagent combination, backed-up by information from other laboratories of the peer group; in case of unacceptable lot-to-lot variation, laboratories have a basis for factorizing; the link patient/IQC data strengthens the quality management/assurance system of laboratories. Long-term benefits are: the possibility to build evidence about the reasons for assay variation, strengthening laboratories’ position in claims versus manufacturers; creation of a tool for developing realistic quality goals and for strengthening the physician/laboratory interface by transparent communication on performance; data on the performance of assays from other manufacturers may help laboratories in decisions on the acquisition of new instruments. Last but not least, the education on analytical quality, backed-up by evidence created from the empower project, will allow a common understanding between manufacturers and laboratories about realistic performance specifications and the needed quality management/assurance activities.

# KVALITA V MEDICÍNSKYCH LABORATÓRIÁCH. MONITORING ALEBO MANAŽMENT. STARÁ SA NIEKTO?

**Balla, J.**

Analyticko-diagnostické laboratórium a ambulancie, s. r. o., Prešov

E-mail: jan.balla@mail.t-com.sk

Základnou požiadavkou zabezpečenia laboratórnych služieb v najvyššej možnej kvalite je, aby laboratória mali zavedený systém manažérstva kvality. Nástrojom najvyššej garancie dôveryhodnosti zavedenia manažérstva kvality je akreditácia. Je to nestranné a nezávislé posúdenie a osvedčenie spôsobilosti klinického laboratória akreditačnou autoritou o tom, že laboratórium je spôsobilé vykonávať činnosti špecifikované v osvedčení a trvalo plniť požiadavky spôsobilosti určené medzinárodnými normami ISO/IEC 17025 alebo ISO 15189. Udelenie akreditácie sa viaže na úspešnú previerku kvality (audit). Audit vykonáva úradne poverená a oprávnená osoba, ktorú poveruje k tejto činnosti akreditačná autorita (SNAS v SR). Akreditácia znamená pre klinické laboratórium uznanie jeho odbornej spôsobilosti a pre klientov (pacientov, lekárov, zdravotné poisťovne, UDZS) záruku vysokej kvality poskytovaných služieb. Akreditácia zahŕňa zavedenie a trvalé udržiavanie procesov riadenia kvality, riadenej dokumentácie, vnútorných auditov a sústavného zlepšovania prvkov kvality. Obsahuje indikátory kvality, ktoré sú pravidelne podrobované auditu. Z uvedeného vyplýva, že akreditácia je najvyššia forma preukázania komplexnej starostlivosti o kvalitu a jej váha nemôže byť menšia alebo rovná súčtu váh iba niektorých indikátorov kvality.

Dosiahnutie vysokej kvality v klinickom laboratóriu vyžaduje použitie mnohých nástrojov. Klinické laboratórium má mať jasne definované všetky prvky riadenia kvality a program zabezpečovania a riadenia kvality. Samozrejmosťou je interná kontrola kvality a monitorovanie jej priebehu a taktiež účasť na regulárnych programoch medzilaboratórneho porovnávania.

Súbor činností, ktoré vykonáva personál laboratória na priebežné sledovanie úrovne a presnosti laboratórne-

ho procesu s cieľom zaistiť spoľahlivosť laboratórnych výsledkov sa nazýva interná kontrola kvality (IKK). Laboratórium musí mať vypracované dokumenty, ktoré: (a) formulujú politiku IKK, (b) popisujú postupy pri plnení politiky IKK, (c) slúžia na prevenciu a detekciu chýb a elimináciu príčin nedostatkov. Laboratórium musí viesť záznamy o: (a) pracovných postupoch, (b) výsledkoch IKK, (c) zistených nedostatkoch a ich odstránení, a (d) validácii a verifikácii metód.

Na hodnotenie porovnateľnosti laboratórnych výsledkov slúži medzilaboratórna porovnávací skúška, ktorá prebieha na základe porovnávania výsledkov dosiahnutých analýzou identických vzoriek v rôznych laboratóriách súčasne. Externé hodnotenie kvality sa organizuje za vopred definovaných a harmonizovaných podmienok na tento účel akreditovanou organizáciou. Laboratórium musí splniť program minimálnej účasti a preukázať nielen doklad o účasti v programe EHK – Osvedčenie o účasti za predchádzajúce obdobie (spravidla jeden kalendárny rok), ale aj dokumenty o výsledkoch hodnotenia úspešnosti v programoch externého hodnotenia kvality a dokumenty o minimálnej frekvencii a minimálnom počte skúšok EHK.

Interpretácia laboratórnych výsledkov závisí od použitých referenčných intervalov. Laboratória používajú rôzne komerčné sety, ktoré nie sú nadviazané na rovnaký referenčný systém a majú odlišné referenčné intervaly. Hoci teória referenčných hodnôt bol vyvinutá pred viac ako 30 rokmi, jej využitie pre klinické laboratória je stále nedostatočné. Najrelevantnejším dôvodom je nedostatok štandardizácie analytických metód, čo má za následok referenčné hodnoty závislé na použitej metóde. Transfer referenčných hodnôt z literatúry spôsobuje ťažkosti pri interpretácii výsledkov ba až ich úplne znehodnotenie.

Referenčný merací systém predstavuje základ pravdivosti merania. Použité metódy môžu poskytovať porovnateľné výsledky, ak sú pre daný analyt nadviazané na rovnaký referenčný merací systém. Nadväznosť merania je vlastnosť **výsledku merania**, pomocou ktorej sa výsledok môže vzťahovať na určenú referenciu prostredníctvom dokumentovaného neprerušeného reťazca **kalibrácií**, z ktorých každá prispieva k určenej **neistote merania**. Je charakterizovaná hlavnými prvkami:

- a) neprerušeným reťazcom porovnávaní,
- b) neistotou merania,
- c) dokumentáciou,
- d) technickou spôsobilosťou laboratória,
- e) referenciou na SI jednotky,
- f) rekalibráciami.

Dôležitým predpokladom zaistenia nadväznosti merania v klinickom laboratóriu je prístrojová technika. Ak má technické vybavenie garantovať úroveň kvality, potom nestačí iba CE značka, ale je nutné preukázať kompletnú starostlivosť o techniku, vrátane inštalácií, zaškolenia obsluhy, záručného a pozáručného servisu, pravidelných technických prehliadok a pravidelnej preventívnej údržby. Laboratórium má mať vypracované pracovné postupy obsluhy (vrátane skrátených), plán a rozsah údržby a plán kalibrácií, dodržiavať ich a riadiť sa nimi.

Za celkový chod a správu laboratória je zodpovedný riaditeľ laboratória. Aj keď riaditeľ laboratória má právo delegovať niektoré zo svojich povinností, je aj naďalej plne zodpovedný a musí zabezpečiť, aby všetky prvky systému manažérstva kvality boli vykonávané správne a laboratórium vyvíjalo a používalo taký systém kvality, ktorý zaisťuje vo všetkých fázach laboratórneho vyšetrenia (pred-analytická, analytická a post-analytická fáza) presné a spoľahlivé výsledky. Jednotlivé prvky systému riadenia a monitorovania kvality majú byť zverené iba kvalifikovanému, v danej oblasti vzdelanému a erudovanému personálu.

## REFERENCES

- [1] **Ján Balla, Gustáv Kováč, Pavel Blažíček, Michal Farkaš, Eleonóra Varmusová, Katarína Homzová, Branko Balla:** Kritériá analytickej kvality. Požiadavky na národné štandardy akosti v laboratórnej medicíne. *Laboratórna diagnostika*, 2–3, 45–60, 2003.
- [2] **Wytze P. Oosterhuis, David E. Bruns, Joseph Watine, Sverre Sandberg, Andrea R. Horvath:** Evidence-Based Guidelines in Laboratory Medicine: Principles and Methods. *Clinical Chemistry*, 50: 5, 806–818 (2004).
- [3] **Robert H. Christenson, Susan R. Snyder, Colleen S. Shaw, James H. Derzon, Robert S. Black, Diana Mass, Paul Epner, Alessandra M. Favoretto, Edward B. Liebow:** Laboratory Medicine Best Practices: Systematic Evidence Review and Evaluation Methods for Quality Improvement. *Clinical Chemistry*, June 2011, Vol. 57, No. 6, 816–825.
- [4] Správna laboratórna prax a zabezpečenie kvality. MSA G-04. SNAS, Jún 2012.
- [5] **James O. Westgard:** Need for a system of quality standards. <http://www.westgard.com/essay22.htm>
- [6] **Mauro Panteghini, Ferruccio Ceriotti:** Obtaining reference intervals traceable to reference measurement systems: is it possible, who is responsible, what is the strategy? *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2012; 50(5): 813–817, 2012.
- [7] Traceability, Harmonization and Standardization in Laboratory Medicine: Why It Matters – and Why Labs Need to Participate. sten westgard, 2011, <http://www.westgard.com/traceability-matters.htm>
- [8] **Pal Rustad, Gun Berit, Berge Kristensen:** Errors in an EQA result – what is a cause? *Labquality News*, 1, 18–20, 2013.



# FOCUS ON PRE-ANALYTICS IN EQA

Tiikkainen, U., Rauvo, P.

Labquality, Finland

e-mail: ulla.tiikkainen@labquality.fi

Clinical laboratories and reagent manufacturers have worked systematically to improve their analytical quality already for decades and remarkable improvements have been achieved. Participation in external quality assurance schemes (EQA) has been one of the tools laboratories have used in their quality work. The traditional EQA has concentrated on bias and imprecision of the analytical results and hardly any services have been provided to laboratories to help them assess the quality of the whole process from laboratory requests to decisions in patient treatment. In the recent years the whole analytical process has been taken into focus and demands for pre- and post-analytical quality have been emphasized. International studies have shown that most of the errors in the total testing process occur during the pre-analytical phase, even more than 50 % [1].

Phlebotomy is the source of most pre-analytical errors. These errors include missing sample and/or test request, wrong/missing identification, *in vitro* haemolysis, undue clotting, insufficient sample etc. The pre-analytical mistakes influence the results and might cause severe mistakes in patient care and safety. In addition several milder pre-analytical mistakes leading to repeated sample requests can be directly transferred into money and loss of resources.

The International standards and guidelines directing laboratory quality and competence and setting the requirements for the proficiency testing providers clearly demonstrate the importance of monitoring the laboratory process beyond the analytical phase.

The ISO/IEC 17043 [3] states that the external quality assessment programmes should check the entire examination process, including pre- and post-examination procedures. In such EQA programmes, the nature of the proficiency test item may differ significantly from

that used in traditional proficiency testing schemes. The “proficiency test item” may be a questionnaire or case study circulated by the EQA provider to each participant requesting them to return specific answers. Alternatively, pre-analytical information may accompany the proficiency test item, requiring the participant to select an appropriate approach to testing or interpretation of results, not only perform the test.

Such international pre/post-analytic EQA schemes are still rare and although accreditation bodies have not yet asked or required laboratories to participate in pre/post-analytic EQA, we at Labquality have chosen to start regular pre-analytical schemes for clinical chemistry laboratories, phlebotomy, point-of care units and microbiology in 2014. In addition pre- and post-analytical questions will be included to several traditional EQA schemes.

To guarantee the basis for the best possible treatment and adequate patient care modern EQA schemes can help laboratories in assessing their performance in pre-analytical and post-analytical phases of testing, as well as the analytical phase.

It is impossible to know your laboratory’s real quality without continuous and through-the-process evaluation.

## REFERENCES

- [1] **Plebani M.:** Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006; 44(6): 750–9.
- [2] **ISO/IEC15189:2012. Medical laboratories – Particular requirements for quality and competence.**
- [3] **ISO/IEC 17043:** 2010 Conformity assessment — General requirements for Proficiency testing.

# JAK KVANTIFIKOVAT KVALITU ZDRAVOTNÍ PÉČE?

**Palička, V.**

Lékařská fakulta UK v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové  
Ústav klinické biochemie a diagnostiky

E-mail: palicka@lfhk.cuni.cz

## ABSTRAKT

Systematické snižování rozpočtu laboratorních oborů se týká nejen České či Slovenské republiky, ale i Velké Británie, Spojených států a mnoha dalších zemí. Všichni organizátoři zdravotní péče ale současně trvají na tom, že kvalita práce laboratoří nesmí poklesnout a musí se neustále zvyšovat. Přístup jednotlivých zemí k tomuto dilematu je zcela rozdílný. Zásadní rozdíl je především v tom, zda:

- a) laboratorní obory přistupují k řešení tohoto problému aktivně a sehrávají významnou (někdy rozhodující) roli v redukci počtů prováděných vyšetření, jejich spektra, a stratifikace,
- b) aktivní role laboratorních oborů spočívá především ve snaze zachovat finanční prostředky a ponechat rozhodování o indikacích na klinických partnerech,
- c) jsou laboratorní obory pasivní ve smyslu snahy o zachování rozpočtu („není šance na úspěch“) a hledají úspory uvnitř provozu – a často i v kvalitě prováděných testů či redukci kvalifikovaných pracovníků a jejich nahrazení „lacinější pracovní silou“.

I přístup organizátorů zdravotní péče se může lišit v mnoha směrech, velmi významný rozdíl je v tom, zda jsou ochotni platit za kvalitnější práci více než za méně kvalitní.

Všechny obory, shrnované pod pojem „laboratorní medicína“ musí trvat na kvalitě práce a kvalitě výsledků, s důrazem na všechny tři složky činnosti, tedy preanalytiku, analytiku i postanalytiku. Rezignace na kteroukoli část systému laboratorní práce je pro obor likvidační, i když s rozdílným časovým pohledem.

Aby mohly laboratorní obory prosadit kvalitní práci, je třeba předem specifikovat odpovědi na otázky, zda je možné:

- a) kvalitu definovat – systémy EQA jsou velmi pečlivě zpracované pro analytickou fázi, prakticky chybí pro postanalytickou fázi a preanalytické fáze máme tendenci se zbavovat
- b) kvalitu kvantifikovat – máme vypracované systémy pro analytickou fázi ale chybí pro obě fáze další
- c) kvalitu měřit
- d) náklady na kvalitu specifikovat a vyčíslit.

Pouhé soustředění se na analytickou fázi a její kvalitu je krátkozraké, naprosto nedostačující a pro perspektivu oborů likvidační.

# KOLKO STOJÍ ZDRAVIE? EKONOMICKÉ ASPEKTY ZDRAVÉHO ŽIVOTNÉHO ŠTÝLU Z POHLADU PREDIKTÍVNEJ, PREVENTÍVNEJ A PERSONALIZOVANEJ MEDICÍNY

Kapalla, M.<sup>1,2</sup>, Kubáň, J.<sup>1</sup>, Kapallová, D.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine (EPMA),  
Brussels, Belgium

<sup>2</sup>Institute of Medical Chemistry, Biochemistry and Clinical Biochemistry,  
Faculty of Medicine, Sasinkova 2, Comenius University, 811 08 Bratislava, Slovakia

<sup>3</sup>Negentropic Systems, s. r. o., Ružomberok, Slovakia

<sup>4</sup>Artemeda, s.r.o., Ružomberok, Slovakia

E-mail: marko.kapalla(at)gmail.com, kapalla(at)epmanet.eu

## ABSTRAKT

Ekonomické aspekty zdravého životného štýlu sú témou, ktorou sa prediktívna, preventívna a personalizovaná medicína (PPPM) musí nutne zaoberať, pretože práve na základe komplexnej analýzy nákladov na všetky faktory (výživa, hygiena a kozmetika, oblečenie, prostredie, príroda, bývanie, rodina, spoločnosť, vzdelanie, filozofia, relax, spánok, šport, kultúra, sociálno-ekonomická stabilita, medicína, zdravotná starostlivosť, poisťenie a iné), ktoré pozitívne, resp. negatívne ovplyvňujú zdravie môže PPPM vypracovávať špecifické predikcie a navrhovať preventívne kroky pre konkrétneho človeka s konkrétnym ekonomickým statusom a zároveň navrhovať riešenia na globálnej úrovni, vychádzajúc pritom z podobných analýz v rôznych krajinách.

Vzhľadom na komplexnosť témy sme sa v našom príspevku zamerali na výpočet nákladov na nutrične vyváženú stravu zloženú z dvoch kvalitatívne rozdielnych druhov potravín, a to potravín v štandardnej kvalite a potravín v tzv. „biokvalite“. Na základe našich výpočtov konštatujeme, že bioprodukty sú v priemere 3-krát drahšie (SD = 1,36, n = 50). Cena za každých 1000 kJ nutrične vyvázenej stravy sa pohybuje na úrovni 0,41 eura pre stravu zloženú z výrobkov štandardnej kvality a na úrovni 1,15 eura pre stravu, zloženú z výrobkov v biokvalite.

V prepočte na 31 dní pri príjme cca 12000 kJ denne vychádzajú mesačné náklady na stravu cca 155 eur pre štandardnú kvalitu, resp. 430 eur pre biokvalitu s priemernou variáciou 15 %. Zaujímavé je, že tieto čísla sú pomerne dobre porovnateľné s údajmi z iných zdrojov, ktoré boli získané iným spôsobom.

## ÚVOD

Téma nákladov na zdravie nepochybne patrí k veľmi často spracovávaným – teda aspoň tak by to človek, denne zaplavovaný množstvom informácií, predpokladal. Pri podrobnejšom skúmaní však zistíme, že skutočne relevantných údajov, ktoré by v celej šírke pokrývali túto oblasť a dali na otázku z názvu tohto príspevku konkrétnu odpoveď je naozaj veľmi málo, a to nielen na Slovensku, ale aj globálne (**Tab. 1**)

Z pohľadu prediktívnej, preventívnej a personalizovanej medicíny (PPPM), ktorá kladie dôraz na včasnú preventívne opatrenia, ktoré sa opierajú o včasnú predikciu, vypracovanú na základe komplexnej analýzy všetkých dostupných údajov o konkrétnom človeku, je analýza ekonomických aspektov zdravého životného štýlu nevyhnutná, pretože sa bezprostredne a osobne týka každého človeka, ktorý má záujem sa o svoje zdravie

staráť. Je celkom pochopiteľné, že pokiaľ sa človek o svoje zdravie nestará, tak jeho zdravotný stav sa určite výrazne zhorší oveľa skôr ako sa dožije výrazne vysokého veku, ktorý so zhoršeným zdravím akosi štandardne spájame, napriek tomu, že to tak vôbec nemusí byť.

V našom príspevku sa pokúšame načrtnúť spôsob výpočtu celkových nákladov na všetky zložky resp. faktory, ktoré majú pozitívny vplyv na udržiavanie zdravia človeka, alebo, naopak, je nutné ich minimalizovať či odstrániť.

Primárne vychádzame z definície zdravia podľa Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO), ktorá hovorí, že „*Health is a state of complete physical, mental and social well-being and not merely the absence of disease or infirmity*“ [1] a tiež z WHO definovaných determinantov zdravia [2].

**Tab. 1** Vyhľadávané frázy a ich variácie na tému „koľko stojí zdravie“. Z nízkych počtov nájdených relevantných odkazov vyplýva, že táto téma nie je dostatočne spracovaná ani v odbornej ani populárnej literatúre, a to nielen v slovenskom informačnom priestore, ale, zdá sa, že aj v globálnom meradle. Z relatívne vysokého počtu odkazov na stránkach v ruštine môžeme odhadovať, že pri rozsiahlejšej analýze vo viacerých jazykoch by sa možno našlo viac relevantných informácií. Pre ruštinu

sa nám nepodarilo nájsť také kľúčové slová, ktoré by, podobne ako v angličtine, zredukovali vysoký počet odkazov na relatívne prehľadateľnú množinu. Podobné výsledky ako pre scholar.google.com sme pozorovali aj pri prehľadávaní databázy PUBMED/Medline.

## NAVRHOVANÝ VZOREC

Ak vychádzame z komplexného prístupu k samotnému pojmu „zdravie“, potom pre výpočet nákladov navrhujeme nasledujúci vzorec, ktorý sumarizuje konkrétne faktory, majúce vplyv na zdravie človeka. Samozrejme za predpokladu, že budeme počítat náklady na udržanie, resp. zlepšenie zdravotného stavu človeka, ktorý netrpí nijakými zdravotnými problémami. Dá sa predpokladať, že výška jednotlivých nákladov nebude vždy odrážať mieru skutočného vplyvu na zdravie a tiež si musíme uvedomiť, že niektoré náklady sú závislé na hmotnosti, veku a pohlaví.

Vzorec:

**Náklady na udržiavanie zdravia =**

**N + H + C + E + F + R + S + M + O**

kde jednotlivé písmená označujú nasledujúce faktory:

Tab. 1.

Vyhľadávaná fráza dňa 11. 6. 2013	Počet nájdených odkazov na www.google.com	Počet nájdených odkazov na scholar.google.com
„koľko stojí zdravie“	18	0
„kolik stojí zdraví“	28	
„koľko stojí zdravie“ bez slov: facebook, popec, citáty, poisťovňa, poistenie	14 relevantných 0	0
„náklady na zdravý životný štýl“	1 relevantných 0	0
„how much is the health“	26 500 000	8 relevantných 0
„how much is the health“ bez slov: insurance, obama, obamacare, care, facebook	20, relevantných 0	0
„healthy living costs“ bez slov: insurance, obama, obamacare, care, facebook	10 relevantných 0	2 relevantných 2
„healthy living expenses“ bez slov: insurance, obama, obamacare, care, facebook	7, relevantných 0	0
„сколько стоит здоровье“	259 000, relevantných >0	38

### **Výživa (N)**

- náklady na nutrične vyváženú stravu (ovocie, zelenina, mäso, cestoviny, obilniny, atď) s ohľadom na odporúčané výživové dávky [3] a s ohľadom na vek, pohlavie aj celkovú telesnú aktivitu. Pričom rozlišovať by sme mali potraviny v tzv. „bio“ kvalite (certifikované výrobky) a potraviny z bežných obchodov s potravinami bez označenia „bio“.

### **Hygiena a kozmetika (H)**

- náklady na všetky potrebné produkty štandardnej hygieny a kozmetiky. Pričom rozlišovať by sme mali medzi certifikovanými výrobkami (tzv. eko/bio/organické) a výrobkami bežnej kvality a zloženia, ktoré je z pohľadu vplyvu na zdravie veľmi dôležité

### **Oblečenie (C)**

- náklady na potrebné oblečenie, opäť s ohľadom na jeho kvalitu a potenciálny vplyv na zdravie a rovnako aj vplyv na životné prostredie (napr. biobavlna, bambus, merino vlna, syntetické tkaniny rôznych vlastností a kvality)

### **Prostredie, príroda, bývanie (E)**

- Náklady na bývanie v priemernej mestskej časti, náklady na „eko“ bývanie (dom, netoxický nábytok, elektromagnetické tienenie, potlačenie hluku, tma v noci, čerstvý vzduch, primeraná vlhkosť, a pod.), všetky prevádzkové náklady spojené s bývaním ako je vykurovanie, voda, elektrina, plyn, kanalizácia, likvidácia odpadov, blízkosť prírody, dopravné náklady, samotné náklady kúpu domu alebo bytu, automobilu a pod.

### **Rodina, spoločnosť, vzdelanie a filozofia (F)**

- náklady spojené s rodinou a priateľmi, náklady na vzdelávanie, získavanie informácií a komunikáciu (televízia, internet, knihy, časopisy, telefón), náklady spojené so životnou filozofiou (napr. pravidelné príspevky pre vybranú nadáciu alebo cirkev a pod.)

### **Relax, spánok, šport, wellness, kultúra (R)**

- náklady na rôzne oddychové aktivity, cestovanie, masáže, saunu, bazén, dovolenku, divadlo, kino, galérie, múzeá a ďalšie aktivity spojené s aktívnym aj pasívnym oddychom.

### **Sociálna a ekonomická stabilita (S)**

- náklady spojené so sociálnym zabezpečením, rôzne druhy poistenia, náklady spojené so zamestnaním (odvody a dane), podpora/nepodpora zo strany štátu, iné dane (auto, dom, cesty, atď), vlastné úspory, ktoré majú vplyv na psychickú pohodu – v závislosti od ich výšky (nie na Cypre:-)

### **Medicína, na zdravie orientované zdravotníctvo, zdravotné poistenie (M)**

- tieto náklady by mali odrážať náklady súvisiace s menšími zdravotnými problémami, úplne vyliečiteľnými chorobami, ošetrenia drobných poranení a pod., zdravotné poistenie, preventívne opatrenia

### **Iné náklady (O)**

• do tejto položky musíme zahrnúť všetky ďalšie hore neuvedené faktory, ktoré môžu mať na zdravie vplyv, ale sú menej frekvencované a z pohľadu dlhšieho časového úseku by nepredstavovali výraznejšie zvýšenie nákladov.

Po úprave vstupnej definície tohto vzorca by sme do tejto položky mohli zahrnúť náklady na zlepšenie zdravotného stavu človeka, ktorý trpí nejakým ochorením, ktorého vyliečenie resp. liečba je spojená s nákladmi, ktoré v mnohých prípadoch môžu byť vyššie ako suma všetkých ostatných nákladov.

## **VÝSLEDKY A POROVNANIA**

Vzhľadom na rozsiahlosť témy a náročnosť spracovania údajov sme sa v tomto príspevku primárne zamerali na výpočet nákladov na nutrične vyváženú stravu, ako na faktor, ktorý považujeme za jeden z najdôležitejších a zároveň za relatívne jednoducho ovplyvniteľných, a to práve v závislosti na finančných možnostiach každého človeka.

Pri výpočtoch sme vychádzali z odporúčaných výživových dávok (OVD), uvedených vo vestníku MZ SR [3]. Vybrali sme cca 85 rôznych základných potravín v celom spektre (ovocie, zelenina, cestoviny, múka, mäso, ryby, orechy, mliečne výrobky, a ďalšie) a urobili sme prehľad cien jednotlivých produktov vo viacerých obchodných reťazcoch. Pre 50 položiek sme porovnali ceny potravín v štandardnej kvalite s cenami v tzv. „biokvalite“, ktorej označovanie je predmetom európskej smernice EC No 834/2007 [4].

Zo zistených údajov vyplýva, že ceny biovýrobkov, ktoré by sme z pohľadu vplyvu na zdravie mohli po-

važovať za vhodnejšie, sú v priemere **3-krát drahšie** (1SD = 1,36; n = 50) ako rovnaké potraviny, ktoré nie sú označené ako „bio“.

Vychádzajúc z údajov o nutričnom zložení jednotlivých potravín, ktoré je možné získať z online Potravinovej banky dát [5] sme zostavili jedálne lístky v rozsahu raňajky – obed – večera, pričom každý jedálny lístok spĺňal odporúčané výživové dávky čo do obsahu proteínov, tukov a sacharidov, ako aj jednotlivých minerálnych látok a vitamínov (výnimku tvoril vitamín D, ktorý bol vždy pod odporúčanú hodnotu a už len na základe tejto analýzy je možné predpokladať deficit tohto vitamínu v slovenskej populácii, čo sa aj reálne konštatovalo na základe nameraných hodnôt [6]). Denný energetický príjem sme počítali pre muža v stredom veku s celkovým brutto denným energetickým príjmom cca **12 000 kJ**. Pri výpočtoch sme vždy počítali s tzv. jedlým podielom a podľa toho bola prepočítaná aj cena každého uvažovaného produktu.

Na základe všetkých vyhodnotených údajov konštatujeme, že **cena za 1000 kJ** nutrične vyváženej stravy je **cca 0,41 eura**, ak používame štandardné potraviny a **cca 1,15 eura**, ak používame potraviny v tzv. „biokvalite“. Treba pripomenúť, že ide iba o ceny surovín, bez nákladov na samotnú prípravu, varenie, energie, priestory a pod. Ak dáme do pomeru „bio“ vs. „nebio“ jedálny lístok, tak dostaneme hodnotu **2,80**, ktorá je v dobrej zhode s našim prvým tvrdením, že biopotraviny sú v priemere 3-krát drahšie, ako sme zistili iba spriemerovaním získaných cien, bez väzby na nutričné zloženie, váhu, celkový energetický príjem a možnosti vzájomných kombinácií pri zostavovaní jedálneho lístka.

Pre vyššiu objektivizáciu a kontrolný výpočet sme zobrali údaje zo základného modelu odporúčaných dávok potravín v kg na obyvateľa SR za rok, ktorý je platný od roku 2000 [7] a k tomuto modelu sme doplnili údaje o cenách **bežných potravín** a pripočítali cenu za nápoje a multivitaminové doplnky, ktoré v ňom nie sú zahrnuté. Spolu ročné náklady predstavovali cca 1720 eur v cenách z januára až júna 2013. Podľa daného modelu by malo ísť o odporúčané dávky pre priemerného obyvateľa s brutto energetickým príjmom cca 11 750 kJ/deň. Keď uvedené hodnoty pre porovnatelnosť prepočítame na cenu **za každých 1000 kJ** dostávame sa k sume:  $1720 / (11750 * 365 / 1000) = 0,401$  eura, čo je v pomerne dobrej zhode s nami nezávisle vypočítanými 0,41 eura za každých nutrične vyvážených 1000 kJ.

**Mesačné náklady** na nutrične vyváženú stravu pre jedného človeka sa teda pri energetickom príjme cca 12 000 kJ pohybujú okolo **155 eur pri používaní**

**bežných potravín** a okolo **430 eur pri používaní potravín v „biokvalite“**.

Ako sme už naznačili v úvode, získať z dostupných zdrojov konkrétne čísla, ktoré by bolo možné porovnať s nákladmi, ktoré sme sa snažili spočítať naozaj nie je jednoduché. Podarilo sa nám nájsť **údaje z Veľkej Británie z roku 2005**, kde tím autorov pod vedením J.N. Morrisa [8] zisťoval tzv. minimálne náklady na zdravý život **pre ľudí nad 65 rokov** (v angl. MIHL – **Minimum Income for Healthy Living**) a dospel k nasledujúcim číslam (prepočítané podľa platného kurzu 1,47 EUR za 1 GBP z novembra 2005, aktuálny kurz z júna 2013 je 1,17 EUR za 1 GBP [9]) pre **nutrične vyváženú zdravú stravu**: 47,33 eur (32.20 £) na týždeň t.j., ak zoberieme do úvahy 31 dní v mesiaci tak náklady boli  $47,33 / 7 * 31 = 209,6$  eura mesačne, ale autori publikácie tiež zistili, že niektorí z dôchodcov s **nižším príjmom minuli na stravu** len okolo 34,40 eur (23.40 £) týždenne, t.j. cca  $34,4 / 7 * 31 = 152,3$  eura mesačne, čo je suma, ktorá je až prekvapujúco porovnateľná s nami vypočítanou sumou na základe slovenských cien z roku 2013. Autori v článku uvádzajú aj vypočítané **minimálne náklady na zdravý život** (v angl. *healthy living costs*) pre samostatne bývajúceho človeka nad 65 rokov vo výške 180,37 eur (122.70 £) týždenne t.j. prepočítané na 31 dní je to suma  $180,37 / 7 * 31 = 798,8$  eur mesačne, kde do týchto nákladov započítali stravu, návštevu relaxačných centier, náklady na domácnosť, náklady na stomatológa a očného lekára a členstvo v rôznych spoločenských kluboch, ktoré združujú seniorov. Rovnaké náklady **pre dospelého človeka pod 65 rokov**, žijúceho vo Veľkej Británii boli vyčíslené na cca 213 eur (190 £) týždenne, podľa cien z roku 2009 (prepočítané podľa platného kurzu 1,12 EUR za 1 GBP podľa priemeru kurzu z roku 2009), čo predstavuje  $213 / 7 * 31 = 945,3$  eur mesačne, pričom do nákladov boli započítané náklady na stravu, pohybové aktivity, bývanie, psychosociálne aktivity, cestovné náklady, zdravotná starostlivosť, hygiena, oblečenie a veci pre domácnosť, iné mimoriadne výdavky. **Náklady na stravu** boli vypočítané vo výške 36 £ týždenne, čo po prepočítaní kurzom z roku 2009 predstavuje cca 179 eur mesačne [10]. Pri týchto prepočte vidíme, že silný kurz libry voči euru v roku 2005 výrazne skreslil porovnanie s rokom 2009, preto sa domnievame, že pre účely vzájomného porovnania by bolo lepšie všetky ceny v librách prepočítat aktuálnym kurzom cca 1,17 EUR za 1 GBP, tak ako sme to uviedli do sumárnej tabuľky pre zjednodušenie porovnania (Tab. 2.)

Keď zoberieme do úvahy, že hovoríme o nákladoch na stravu vo Veľkej Británii, tak musíme konštatovať,

že tieto čísla sú až v prekvapujúcej zhode s našimi výpočtami pre Slovensko. Z údajov tiež vyplýva, že autori nepočítali s cenami potravín v biokvalite, ale iba s cenami bežne dostupných potravín.

Ďalší zaujímavý, aj keď nie vedecký zdroj poskytla diskusia z februára 2013 na jednom internetovom blogu [11], kde sa uvádza odhad nákladov **na zdravú stravu** (podľa Tamar Najarian, autorky daného príspevku) **v kanadskom Toronte** vo výške 150–300 kanadských dolárov za týždeň, s tým, že sa nestravujete v reštauráciách. Po prepočítaní kurzom 1 EUR = 1,35 CAD to predstavuje čiastku cca 111–222 eur týždenne, t.j. **491–983 eur mesačne**. Dolná hranica tohto odhadu je opäť v prekvapujúcej zhode s nami uvádzanými 430 eurami mesačne pre potraviny v biokvalite.

A ako posledný uvedieme ešte jeden údaj zo slovenského internetového magazínu z júla 2012 [12], v ktorom autor V. Zlatoš uvádza vlastné ročné náklady na optimálnu zdravú stravu pre muža vo výške 5094 eur a pre ženu 2547 eur, ktoré získal spočítaním odkladaných účtov za celý rok. V uvedených nákladoch je podľa autora započítaná aj občasná strava v reštauráciách. Po prepočítaní dostávame **mesačné náklady na zdravú stravu pre muža cca 424,5 eur a pre ženu 212,3 eur**. Opäť konštatujeme veľmi dobrú zhodu s nami uvádzanou sumou 430 eur mesačne, ktorú sme počítali práve pre muža v strednom veku.

V Tab. 2 tabuľke uvádzame všetky získané a vypočítané údaje, týkajúce sa nákladov na stravu a minimálne náklady na zdravý život (MIHL – Minimum Income for Healthy Living), ktoré uvádzajú autori z Veľkej Británie [8,10]. Ceny v librách sú prepočítané na euro kurzom, platným pre jún 2013 podľa zdroja [9]. Na základe uvedených hodnôt konštatujeme prekvapivo porovnateľné náklady v rôznych krajinách, v rôznom čase a vypočítané rôznym spôsobom. Údaje, ktoré by sa

dali porovnať s britskými MIHL pre Slovensko zatiaľ nemáme. Odporúčaná dávka spotreby (ODS) vychádza z oficiálnych údajov podľa Vestníka MP SR [7], pričom ceny sme pre každú položku počítali podľa priemerných cien z januára až júna 2013). Vzhľadom na rôznorodosť cien, kvalitu a zloženie jedálnych lístkov je potrebné počítať s približne 15 % variáciou nami vypočítaných hodnôt.

## DISKUSIA A ZÁVER

Na základe našich prvých výpočtov a získaných údajov na ich porovnanie konštatujeme, že je nutné aby sa odhad nákladov urobil na najmenej troch úrovniach, ako napríklad: „**základná**“ úroveň, kde by sa zobrali do úvahy iba štandardné produkty a služby, čo by zodpovedalo spomínaným minimálnym nákladom na zdravý život (MIHL), potom „**stredná**“ úroveň, kde by bola kombinácia štandardných produktov a produktov a služieb veľmi vysokej kvality s pozitívnym účinkom na zdravie (napr. certifikované biopotraviny, eko-certifikovaná kozmetika, bio-oblečenie, atď) a „**vysoká**“ úroveň, kedy by sa všetky jednotlivé faktory zobrali do úvahy iba vo vysokej kvalite s príslušnou certifikáciou, alebo iným objektívne hodnotiteľným dokladom. Ako autori sa tejto téme chceme ďalej venovať a podrobne ju spracovať v celej naznačenej šírke.

Získané údaje aj vypracovaná metodika hodnotenia nutričného zloženia stravy má vo väzbe na klinickú prax a aplikáciu PPPM v ambulancii praktického lekára veľký význam a potvrdzuje potrebu úzkej spolupráce so všetkými zložkami laboratórnej diagnostiky a analytiky.

Na záver musíme konštatovať, že pri výpočte celkových nákladov na zdravie nejde len o „zdravú stravu“ alebo „ekologické poľnohospodárstvo“, ako

Tab. 2.

Ceny	Naše výpočty, 2013			Veľká Británie [8,10]		Kanada, Toronto, 2013 [11]	Slovensko, Bratislava, 2012 [12]
	vyvážená strava	vyvážená strava v biokvalite	ODS na obyvateľa	vyvážená strava, 2009	vyvážená strava, 2005	„zdravá strava“	„zdravá vyvážená strava“
Špecifikácia	12 000 kJ, muž	12 000 kJ, muž	11 750 kJ obyvateľ	do 65 r	nad 65 r	ndef.	stredný vek
Mesačne strava (31 dní)	155 €	430 €	149 €	187 € (160 £)	167 € (143 £)	491 – 983 €	425 € muž 212 € žena
MIHL	–	–	–	984 € (841 £)	635 € (543 £)	–	–

by sa mohlo zdať z pohľadu, často prezentovaného v odbornej literatúre, ale je to naozaj komplexná téma, ktorá si vyžaduje multidisciplinárny a integratívny prístup, ktorý jednoznačne preferuje aj prediktívna, preventívna a personalizovaná medicína. Zložitosť tejto témy sa nepochybne dotýka samotnej podstaty slova „zdravie“ a má veľký vplyv na celú spoločnosť a jej filozofický základ.

## LITERATÚRA

- [1] Preamble to the Constitution of the World Health Organization as adopted by the International Health Conference, New York, 19–22 June, 1946; signed on 22 July 1946 by the representatives of 61 States (Official Records of the World Health Organization, No. 2, p. 100) and entered into force on 7 April 1948. <http://www.who.int/about/definition/en/print.html>, Accessed June 1, 2013.
- [2] <http://www.who.int/hia/evidence/doh/en/>, “The determinants of Health”, Accessed June 1, 2013.
- [3] MZ SR, Odporúčané výživové dávky pre obyvateľstvo v Slovenskej republike, *Vestník MZ SR*, ročník 45, apríl 1997, čiastka 7–8, s. 58.
- [4] Council Regulation (EC) No. 834/2007 of 28 June 2007 on organic production and labelling of organic products and repealing Regulation (EEC) No 2092/91. *Official Journal of the European Union*, 20.7.2007, L 189/1-L189/23.

- [5] Výskumný ústav potravinársky (VÚP), Online potravinová databáza, <http://pbd-online.sk>, Accessed June, 19, 2013.
- [6] Matysová G., Huba P., Mesjarová L., Dobáková M.: Hladina vitamínu D3 ako potenciálny prediktívny marker viacerých ochorení. *Laboratórna diagnostika*, 1, 2012, 9–18.
- [7] MP SR, Základný model odporúčaných dávok spotreby potravín s platnosťou od 1. 1. 2000, *Vestník MP SR*, ročník 31, december 1999, čiastka 22, s. 1–3.
- [8] Morris, J. N., Wilkinson, P., Dangour, A. D., Deeming, C., Fletcher, A.: Defining a minimum income for healthy living (MIHL): older age, England, *Int. J. Epidemiol.*, 2007, 36 (6): 1300–1307. doi: 10.1093/ije/dym129.
- [9] <http://www.x-rates.com/average/?from=GBP&to=EUR&amount=1&year=2005>.
- [10] Morris, J. N., Deeming, C., Wilkinson, P., Dangour, A. D.: Action towards healthy living — for all, *Int. J. Epidemiol.*, 2010, 39 (1): 266–273. doi: 10.1093/ije/dyp403.
- [11] Najarian, T.: Web discussion of February 2013, <http://ditord.com/2013/01/28/average-monthly-wage-in-armenia-lowest-among-caucasus-states/>, Accessed June 16, 2013.
- [12] Zlatoš, V., Zlatoš Turnerová, T.: Kolko stojí zdravá výživa na celý rok, 19.07. 2012, <http://diva.aktuality.sk/clanok/34046/kolko-stoji-zdrava-vyziva-na-cely-rok/>, Accessed June 16, 2013.



# CHYTÍ SLOVENSKÉ ZDRAVOTNÍCTVO DRUHÝ DYCH? ALEBO NEKONEČNÝ SERIÁL „ČIERNYCH“ PREDNÁŠOK

Lepej, J.<sup>1,2</sup>, Lepejová, K.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Inštitút nukleárnej a molekulárnej medicíny, Košice

<sup>2</sup>FZ KU Ružomberok, <sup>3</sup>Cumulus, s. r. o., Košice

E-mail: lepej@inmm.sk

## Motto:

*Ak niekto zastáva názor, že peniaze dokážu urobiť všetko, je s najväčšou pravdepodobnosťou ochotný urobiť všetko pre peniaze.*

*Benjamin Franklin (1706–1790)*

## ÚVOD

**Labkvalita** je fórum, na ktorom sa snažíme poukázať na možné zdroje nekvality a kde hľadáme účinné nástroje ako zlepšovať našu prácu. V tomto kontexte nám nedalo nereagovať aj na vývoj v zdravotníctve v ostatných 2 rokoch od poslednej Labkvality, na súčasný stav a niektoré vyhlásenia našich politikov. Pokračujeme tak v sérii našich „čiernych prednášok“ pre hŕstku zainteresovaných, ktorí možno veľa nezmenia, ale aspoň sa dozvedia niekoľko faktov, ktoré verejno-prospešné aj súkromno-prospešné médiá, pravdepodobne cielene, neuvádzajú.

### Čo sa udialo od poslednej Labkvality

Za dva roky od Labkvality '11 sa v zdravotníctve odohralo viacero zmien. Rozdiely v odmeňovaní lekárov v nemocniciach a privatej sfére dospeli do toho stavu, že lekári v nemocniciach podávali hromadné výpovede. Isté riešenie sa našlo, ale spôsobilo problémy financovania ostatných činností v nemocniciach. Sestry išli pokojnou cestou vyjednávania a žiaľ, boli menej úspešné. Ako sa ukázalo **oprávnené mzdové nároky** lekárov, sestier ale aj iných zdravotníckych pracovníkov nemôžu byť naplnené, čím sa „trochu“ **porušujú zákony** (na Slovensku nič nové...). Jediný dobrý počin pravice bolo uzákonenie povinnosti zverejňovania zmlúv. To bola dobrá správa. Naopak zlá

správa bola výhra súkromných ZP na ústavnom súde, čo im **umožňuje vytvárať zisky z verejných zdrojov povinného zdravotného poistenia** (deje sa to, aj keď si neplnia pohľadávky voči poskytovateľom). Naša profesia je založená na analýze údajov, pátraní do detailov až na podstatu javov pri hľadaní chýb v systéme. Naša profesia nenávidí lož. Vieme, že omyl, nedajbože klamstvo – prekrucovanie faktov vo svojom konečnom dôsledku prináša viac problémov ako prospechu. Preto sú naše názory (či glosy) poukazaním na reálne fakty v snahe dopátrať sa chyby v systéme, ktoré treba napraviť.

### Slovensko – malá, veľká krajina

Sme krajina relatívne malá počtom obyvateľov (na svete je v súčasnosti 56 miest, ktoré majú väčší počet obyvateľov, ako má celé Slovensko) [1]. Napriek tomu sme veľkí napríklad svojimi experimentmi v zdravotníctve a v zahadzovaní šancí pri jeho múdrej správe. Každá zmena vládnej garnitúry sa snažila priniesť svoj „jedinečný vklad“, ktorým posúvala stav zdravotníctva do dnešnej situácie a likvidovala niekedy aj užitočné projekty, len preto, že ich vykonal niekto iný alebo sa nehodili do ich strategických (dobře utajovaných) zámerov. Pre tých, čo celý proces nezažili, ho pripomenuli prednášky Ing. Farkaša [2] a históriu financovania laboratórií a SVLZ krásne opísal na zjazde SSKB v Banskej Bystrici nestor zavádzania systému oceňovania výkonov Ing. Balla (2012) [3]. S týmito kolegami možno len súhlasiť, pretože za nich hovorí ich dlhoročná práca a široké skúsenosti.

Naopak, len veľmi nezainteresovaný, či naivný človek dokáže veriť veľmi múdrym pánom, ktorí si platia televízny čas na stopercentne kvalifikované vyhlásenia. Aby obhajovali politiku v zdravotníctve zastupujúcu

finančné skupiny prepojené na ich medzinárodne znejúcu „expertnú“ inštitúciu. Jej riaditeľ, ktorý dnes vehementne obhajuje Holandský systém financovania zdravotníctva, ako poradca ministra Zajaca, je zodpovedný za likvidáciu projektu SNOLAMED. Zmarenie entuziastickej práce vyše stovky špecialistov z celého Slovenska je len malá „nehanebnosť“ tých, ktorí si uzurpovali ten správny názor servírovaný verejnosti, cez moc peňazí.

Ak si spomenieme na SNOLAMED ako najväčšiu premárnenú šancu na prehľadné financovanie najkomplikovanejšej zložky zdravotného systému – SVALZov, je nám do plaču. Systém mohol pracovať už 13 rokov, ktoré uplynuli od nášho článku v BLL. [4] Projekt, ktorý obdivovali v zahraničí, zničili pred jeho implementáciou ľudia, ktorí nepotrebovali seriózne ceny výkonov, pretože na nich sa nedá zbohatnúť, ale len slušne a spokojne žiť. Je nehorázne, ako si štát vtedy aj dnes „cení“ prácu špecialistov. V projekte, na ktorom pracovalo 145 expertov v rokoch 1998–2001 sa na cestovné a režijné výdavky minulo 2 mil. Sk (cca 60 000 €). Spolu s MUDr. Lipšicom sme projekt predstavili poradcom ministra Zajaca. Niekoľkoročná práca expertov bola znehodnotená, nedostali sme ani písomné vyrozumenie o jeho osude (asi pre istotu).

Na konci ministerskej kariéry MUDr. Zajaca bol naštartovaný „nový“ projekt, ktorý viedol MUDr. Findo. Tento (zoznam) zahŕňal prakticky všetky medicínske profesie a sľuboval prebrať SNOLAMED. Znovu veľa pracovníkov urobilo veľa práce, entuziazmus sa ešte celkom nevyčerpal... Nemali sme žiadne zmluvy na dodanie údajov za rozumnú cenu. Koľko sa naň minulo peňazí, neviem, akurát niekoľko manažérov sa bolo učiť vo Švédsku. Projekt skončil fiaskom pre tisícky duplicitných výkonov, ktoré nikto nedokázal utriediť... Nuž čo, nekvalitný softvér v neskúsených rukách.

Ďalšia vláda po čase projekt oprášila. Projekt zmenil meno, niektorých aktérov, ale vychádzal z predchádzajúcej práce. Do tejto databázy malo milióny dát o detailoch jednotlivých výkonov vkladať viac ako 300 expertov. Títo síce neboli zaplatení, ale zato softvérová firma, ktorá pripravila jednoduchý zberný program na tieto dáta dostala slušné prostriedky (Jeho skúšobná verzia fungovala len pri predvádzaní). O stave projektu sme referovali na konferencii laboratórnej medicíny v 2008. [5]

Uplýnulo ďalších 5 rokov zatiaľ zoznam výkonov prešiel schvaľovaniami aj vďaka húževnatému prístupu vedúcej projektu MUDr. Vívodovej. Pretože vláda na takúto maličkosť nevyčlenila špeciálne peniaze, špecialisti z celého Slovenska za hodiny práce nedostali ani cent.

Mala to byť pre nich pocta, že boli odporúčaní na tom pracovať. Zoznam (zatiaľ bez konkrétnych cien) momentálne čaká na spustenie DRG... Boh (a ešte niekto) vie ako dlho. Na tento projekt sa našli peniaze z EÚ, čo je istou zárukou, že ho musíme uviesť do praxe, inak by sme ho museli zaplatiť z daní (alebo, že by z troch mesačných plátov všetkých aktérov?) Dozvieme sa viac na našej konferencii od Ing. Ďurčíkovej z ÚDZS, kde sa zoznam výkonov práve nachádza.

Je skutočne veľmi smutné, na čo všetko sa vyhadzujú peniaze, ale za vrchol je možné považovať informáciu o tom, koľko zase pôjde „skutočným“ odborníkom, ktorí síce o zdravotníctve veľa nevedia, ale vedia ako na to. Sú to pochopiteľne právnicki... Poradenská firma za prípravu prechodu na 1 zdravotnú poisťovňu má podľa vyjadrenia médií dostať 3 milióny Eur [6]. Chápete to? Zaplatíme túto sumu za to, aby sme sa dostali do stavu pred rokom 1993, keď sa zaviedlo pluralitné zdravotné poistenie [7].

Dnes by sa možno našiel človek, ktorý dokáže spočítať straty, ktoré vznikli zavedením viacerých poisťovní. Na perspektívy systému súkromných zdravotných poisťovní poukázala vytunelovaná ZP Perspektíva v roku 1999 s dlhom 2,2 mld. Sk. Vtedy minister Zajac ústami svojho poradcu Ing. Pažitného sľuboval ďalšiu inštitúciu Úrad pre finančný trh [8]. To, že napriek ďalšej inštitúcii, miliardy z našich dávok do ZP nešli na skvalitňovanie zdravotnej starostlivosti, ale na budovy, prémie pre manažérov, ich drahé autá a súkromné zisky je u nás samozrejmosťou. Nieкто bude oponovať, že systém viacerých ZP zlacnil zdravotnícke služby, zvýšením konkurencieschopnosti medzi poskytovateľmi a poisťovňami. Tento fakt však vyvracajú údaje OECD o nízkej efektivite nášho zdravotníctva. Ako ukázala jedna z analýz, súkromné poisťovne majú relatívne vysoký zisk. V uplynulých piatich rokoch dosiahol v priemere 10,4 percenta, napríklad v Holandsku je to 0,8 percenta [9]. Kto mal z týchto zmien najväčší prospech? Skúste porozmýšľať... ale jedno vám prezradím vopred... pacient to nebol. Takto vytunelované, na zbytočný marketing použité peniaze pochopiteľne chýbali v procese skvalitňovania systému, poctivého riadenia a hlavne kontroly jeho fungovania, zvýšenie motivácie za kvalitnú prácu, zmysluplné granty na vyhľadávanie a odstraňovanie problémov dostupnosti zdravotnej starostlivosti (ako napríklad: počas 10 rokov boli z 3 PET/CT zariadení všetky len na západnom Slovensku!). Malý príklad nevýhody viacerých poisťovní je dobre zrozumiteľný každému, kto pracuje v laboratóriu. Časové nároky na spracovanie dávky pre ZP (informácie

o pacientovi a výkone, ktoré slúžia ako podklad pre preplatenie výkonov) a jednania so ZP sú pre viacero ZP neúmerne dlhšie, ako by boli pri práci len pre jednu ZP. Obzvlášť, keď každá ZP má svoj softvér, svoje kritéria na preplácanie výkonov, svoje limity... Možno aj naša trpezlivosť bude mať svoje LIMITY.

Koľko práce a nervov sme si mohli ušetriť, keby tu bola 20 rokov len jedna (alebo žiadna) ZP?! Možno viete, možno nie, ale aj znovu vytvorenie jednej ZP má svoje úskalía, na ktorých sa dá zarobiť. Ako v dnešnom svete prakticky na všetkom. Kto chce vedieť viac, pozrie si reakcie na článok v SME zo dňa 30.4.2013 „Jedna zdravotná poisťovňa mešká už päť mesiacov“ [10] (ak to tam ešte bude).

Podľa jedného autora reagujúceho na článok, predaj súkromnej ZP štátu nebude stratou pre predajcu, ale pre štát, ktorý kúpi len predražené mačacie zlato (alebo mačku vo vreci). Takže uvidíme...

## MODELY FINANCOVANIA ZDRAVOTNEJ STAROSTLIVOSTI

Keďže viacerí z nás sa asi necítíme byť expertmi v organizácii zdravotníctva a teóriách jeho financovania, dovolíme si vysvetliť niekoľko pojmov. Od 18. storočia boli postupne vytvorené viaceré modely financovania zdravotnej starostlivosti, nahrádzajúce priame platby a charitatívne kresťanské princípy.

**BISMARCKOV** systém sociálneho poistenia bol vytvorený už 18. st. v Prusku. Dnes funguje v Holandsku, Nemecku, Francúzsku, Rakúsku, Švajčiarsku, má ho Česká republika aj Slovensko. Môže mať jednu alebo viacero zdravotných poisťovní, ktoré môžu byť štátne alebo súkromné organizácie. Príjem vychádza zo stanoveného príspevku pre poisťovňu, formou pravidelných mesačných odvodov, väčšinou s príspevom zamestnávateľa alebo štátu, za nezárobkovo činné obyvateľstvo. Môže fungovať tak, že priame platby sú refundované jednou zdravotnou pokladňou (za 1. ČSR – Krankasa) najčastejšie až po zaplatení výkonu lekárovi, alebo platby lekárovi prepláca priamo poisťovňa za pacienta (ako teraz u nás).

Administratívu zjednodušoval nový **BEVERIDGEOV** model štátneho zdravotníctva (Dánsko, Švédsko, Nórsko, Fínsko, Veľká Británia), ktorý vznikol po 1945. Občan (zamestnanec, zamestnávateľ) platí jednotnú daň z nej sa časť odvádza na fondy pre financovanie zdravotnej starostlivosti.

Z neho vychádzal aj **SEMAŠKOV** model – štátom garantovaná starostlivosť viazaná na štátny rozpočet a s plne zoštátnenými poskytovateľmi, ktorých zamestnávajú štátne (rozpočtové organizácie. U nás existoval od roku 1951 do 1990, keď skončil so socializmom. Používa sa ešte na Kube.

Tieto modely majú spoločnú: solidárnosť (t.j. ekonomicky aktívni občania platia aj všetkým ostatným skupinám, deťom aj dôchodcom obvykle ako príspevok zo štátneho rozpočtu); rovnoprávnosť – výška príspevkov je stanovená na základe mzdy, a nie podľa výšky zdravotného rizika konkrétnej poistenej osoby (ako je to napríklad v novom Holandskom systéme); rovnosť, t.j. všetci majú nárok na rovnaký typ a rozsah zdravotných služieb, bez ohľadu na to, koľko do systému vložili.

Posledný typ je **LIBERÁLNY** systém starostlivosti o zdravie – z rozvinutých krajín existuje len v USA. V Európe skončil v roku 1996, keď Švajčiarsko prešlo na systém poisťovní. Poistenie je dobrovoľné a štát sa zbavuje zodpovednosti za zdravie obyvateľstva, až na niektoré granty a výskumné projekty. Hlavnou požiadavkou je zodpovednosť občana za svoje zdravie a právo zisku na každej úrovni. Liberálny tržný systém, typický pre USA sa neosvedčil. 17 % nepoistených 1,2 milióna rodín vyhlasujúcich bankrot pre nutnosť platenia zdravotnej starostlivosti, nižšia úroveň zdravia v porovnaní s podobnou populáciou vo Veľkej Británii. Extrémne vysoké náklady a nízka výkonnosť. [11]

Ako sa to odzrkadľuje na výdavkoch, vidno z porovnania dvoch extrémov. V roku 2000 výdavky v ZS na jedného obyvateľa sa v USA pohybovali na úrovni 5400 USD, na Kube boli 180 USD. Odhadovaná dĺžka života v obidvoch krajinách vtedy bola 79 rokov! [12]

Tabuľka ukazuje zmeny indikátorov zdravotníckeho systému v závislosti na type zdravotníctva [13]

Indikátory zdravotníckeho systému	Tržné zdravotníctvo	Národné zdravotné poistenie	Štátne zdravotníctvo NZS
Dostupnosť	+	+++	++
Kvalita	+++	++	+
Nákladnosť	+++	++	+
Výkonnosť	-	+	++
Rovnosť	-	++	+++
Akceptabilita	+	+++	++

Z hľadiska prepočtu kvality na jednotku ceny (teda efektivity zdravotných systémov, čiže nielen z pohľadu pacienta, ale aj z pohľadu platiteľa) sa v Top 5 umiestnili Slovinsko, Estónsko, Maďarsko, Poľsko, teda krajiny s jednou poisťovňou a Švédsko, kde je systém platený priamo z daní.

Výroky viacerých odborníkov konštatujú, že s konkurenciou poisťovní sú zmiešané skúsenosti a nedá sa jednoznačne posúdiť, ktorý systém je lepší.

Ale vráťme sa k diskusii... jedna štátna verzus veľa (obvykle neštátnych) ZP. Aký model je lepší? Ukážme si príklady dvoch najčastejšie ospevovaných.

### **Holandský model zdravotného poistenia – privatizácia aj zodpovednosti?**

Po jeho reforme v minulých rokoch ho môžeme nazvať ako úplne privátny Bismarckov model s viacerými výlučne súkromnými ZP. Zanietenými propagátormi tohto modelu boli „nezavislí“ experti z HPI (Health Policy Institute), z ktorých materiálu uverejnenom na ich stránke v minulom roku vyberáme niektoré údaje [14].

V **HOLANDSKU** 1. januára 2006 vstúpil do platnosti Zákon o zdravotnom poistení, ktorý zjednotil základné zdravotné poistenie z pôvodného kombinovaného štátneho a súkromného na jednotný čisto súkromný systém. Cieľom zmeny bolo zníženie vplyvu štátu na zdravotníctvo. Úloha štátu sa z nákupcu a poskytovateľa zdravotnej starostlivosti zmenila na regulátora, ktorý stanovuje základné pravidlá a dohliada na ich dodržiavanie. Vznikli 3 úrovne a zdroje zdravotného poistenia

- 1. úroveň – zdravotné poistenie mimoriadnych nákladov na zdravotnú starostlivosť**, povinné pre všetkých obyvateľov Holandska, je financované solidárne (odvody ako percento z príjmov) a spoluúčasťou pacienta; pokrýva náklady na dlhodobú zdravotnú a ošetrovateľskú starostlivosť; cieľom je ochrana voči katastrofickým finančným dopadom závažných dlhodobých ochorení alebo porúch (najmä ťažké vrodené fyzické alebo psychické postihnutia), ktorých výskyt je relatívne malý, avšak pri ich vzniku takmer nikto nedokáže tieto náklady znášať sám.
- 2. úroveň – základné zdravotné poistenie** je povinné pre všetkých obyvateľov Holandska; je financované kombináciou solidárneho príspevku (odvod ako percento príjmu), nominálnym poistným (fixná suma stanovená poisťovňou rovnaká pre všetkých jej poistencov) a spoluúčasťou pacientov; pokrýva „starostlivosť s výhľadom na uzdravenie“.
- 3. úroveň – doplnkové individuálne zdravotné poistenie** zdravotnú starostlivosť, ktorá nie je pokrytá

základným zdravotným poistením ani poistením mimoriadnych nákladov na zdravotnú starostlivosť; je financované poistným, ktoré na základe rizikového profilu stanovuje poisťovňa individuálne pre každého poistenca. Je dobrovoľné.

Tieto tri úrovne sú financované z troch základných zdrojov:

**Zdroj č.1: Nominálne poistné** – všetci poistenci vo veku 18 a viac rokov sú povinní platiť nominálne poistné svojej zdravotnej poisťovni, pričom výška poistného nie je závislá na výške príjmu poistenca. Každá zdravotná poisťovňa si stanovuje výšku poistného samostatne. Poistné môže byť rôzne v závislosti od typu poistného plánu, ale musí byť rovnaké pre každého, kto si zvolí určitý poistný plán v danej poisťovni. **Je to v priemere 1100 € ročne.** Existencia nominálneho poistného poskytuje motív na poskytovanie efektívnej starostlivosti z dvoch dôvodov: zdravotná poisťovňa má možnosť odlíšiť sa od svojich konkurentov na základe ceny a ak dokáže fungovať a nakupovať zdravotnú starostlivosť efektívne, môže ponúknuť atraktívnejšie ceny pre poistencov. Navyše výška zaplateného nominálneho poistného zlepšuje predstavu poistenca o výške nákladov za zdravotnú starostlivosť. Štát financuje zo štátneho rozpočtu nominálne poistné z verejných zdrojov pre poistencov do 18 rokov (ako u nás).

**Zdroj č. 2: Odvody závislé na výške príjmu** – odvody závislé na výške príjmu sú povinné platiť všetci, ktorí majú povinnosť uzavrieť zdravotné poistenie. Tieto odvody pokrývajú 50 % celkových poistných zdrojov. Odvody závislé na výške príjmu sú v súčasnosti stanovené na **6,5 %** z príjmu (u nás 14 %), pričom sa týkajú aj príjmov ako sú sociálne dávky.

**Zdroj č. 3: Excedentná spoluúčasť** – znamená, že všetky náklady na zdravotnú starostlivosť do stanovenej výšky 150 EUR za rok uhradza poistenc a poisťovňa hradí len náklady nad touto hranicou.

Väčšina **poskytovateľov zdravotnej starostlivosti** v Holandsku je v **súkromnom vlastníctve**. Väčšina organizácií, ktorá poskytuje zdravotnú starostlivosť, sú **neziskové organizácie**, pričom individuálni poskytovatelia zdravotnej starostlivosti zvyčajne pracujú s cieľom tvorby zisku. V Holandsku pracuje v zdravotníctve približne 1 milión ľudí na 16 miliónov Holanďanov. Zdravotné poisťovne nemajú povinnosť uzatvoriť zmluvy so všetkými poskytovateľmi zdravotnej starostlivosti – môžu sa rozhodnúť nekontrahovať poskytovateľov s nízkou kvalitou. Na trhu povinného zdravotného poistenia

dnes v Holandsku pôsobí približne **30 zdravotných poisťovní**, pričom 4 najväčšie zdravotné poisťovne pokrývajú až 80 % trhu.

Dôležité je, že **dohľad nad zdravotným systémom** v Holandsku vykonáva viac inštitúcií ako u nás (a asi svedomitejšie a objektívnejšie): Rada pre zdravotné poistenie dohliada nad manažmentom rozsahu hradenej zdravotnej starostlivosti, poskytuje interpretáciu hradeného balíka a vydáva odporúčania pre poskytovateľov. Rada upozorňuje ministra o aktuálnom vývoji v medicíne, ktorý môže viesť k potrebe zmeniť rozsah balíka manažuje Fond zdravotného poistenia a Fond pre mimoriadne náklady na zdravotnú starostlivosť; poskytuje štátne granty a manažuje výdavky hradenej starostlivosti. Úrad pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou, Centrálna banka Holandska, Úrad pre finančný trh, Holandský protimonopolný úrad si povinnosti štátu pri kontrole financovania a zisku ZP plnia razantnejšie ako u nás. Inšpektorát zdravotnej starostlivosti – vykonáva dohľad nad kvalitou zdravotnej starostlivosti, nad existujúcimi reguláciami a ako sú vnímaní poskytovatelia zdravotnej starostlivosti. Inšpektorát monitoruje kvalitu zdravotnej starostlivosti poskytnutej zdravotníckymi pracovníkmi ako napríklad kontrola kompetentnosti vykonávaných medicínskych procedúr. Zároveň monitoruje napĺňanie kritérií kvality zameraných na efektívne poskytovanie adekvátnej starostlivosti v dostatočnom štandarde, ktoré napĺňajú pacientove potreby. Tento prepotrebný kontrolný mechanizmus u nás nemáme.

Pravým opakom tohto systému je:

#### **Dánsky model - postará sa o nás štát?**

O dánskom modeli sa môžete dočítať na stránkach The Commonwealth Fund, kde písali o medzinárodných systémoch zdravotníctva[15]. V Dánsku zdravotné poistenie nemajú. Zdravotné služby sú prevažne bezplatné a všeobecne dostupné pre všetkých obyvateľov (aj ľudí s pracovným pobytom v Dánsku). Ide o plne funkčný **Beverigov model**. Verejné financovanie zdravotnej starostlivosti (ZS) je realizované približne z 80 % priamo zo štátneho rozpočtu. Ostatné príjmy predstavujú priame platby – 20 % (spoluúčasť). Dane v Dánsku sú vysoké a predstavujú až 46 % mzdy, z čoho je 8 % vyčlenené na ZS. Toto číslo je relatívne nižšie ako u nás (14 % ceny práce), ale v absolútnych hodnotách to v roku 2008 bolo USD na obyvateľa. Existuje ale aj privátne pripoistenie, ktoré zabezpečujú výlučne neziskové organizácie. Toto využívalo v roku 2007 – 36 % populácie; zahŕňa nadštandardnú starostlivosť a niektoré poplatky za služby, ktoré si pacienti musia doplácať. Liberálno/

konzervatívna vláda podporovala rozvoj privátnej ZS a tohto typu pripoistenia. Hoci väčšina zdravotnej starostlivosti sa poskytuje bezplatne, za niektoré úkony sa platia poplatky, napríklad životne dôležité lieky sa preplácajú do výšky 75% a iné predpísané lieky do výšky 50 %. Chronicky chorí, ktorí si priplácajú na lieky len do výšky US\$ 658 nad túto sumu všetky náklady hradí štát. Ošetrovanie zubov sa refunduje iba čiastočne. Vlastného lekára si vyberá občan starší 15 rokov. Za pobyt v nemocnici sa neplatí.

**Organizácia:** Regionálna správa (5 oblastí) je zodpovedná za vlastníctvo a prevádzku nemocníc a centier prenatálnej starostlivosti. Regióny tiež financujú všeobecných lekárov a špecialistov, zubné ambulancie, fyzioterapiu a farmáciu. Municipality (98) sú zodpovedné za domácu ošetrovateľskú starostlivosť, zdravotné návštevy, a municipálnych zubárov, ale aj domácu zubnú starostlivosť pre hendikepovaných pac., školských lekárov, domácu pomoc a starostlivosť o narkomanov a alkoholikov. Zamestnanci týchto služieb dostávajú mzdu od Municipality. Lekári (súkromní všeobecní lekári zabezpečujú sekundárnu zdravotnú starostlivosť a sú platení len 30 % formou kapitácie a zvyšok na základe platby za výkon (na rozdiel u nás je to opačne). Ambulantní špecialisti sú odmeňovaní platbou za výkon (rovnako ako u nás).

**Nemocnice** sú z 99 % vo verejnom vlastníctve. Sú financované fixnými rozpočtami, ktoré sú upravované kontraktmi s regiónmi a čiastočne formou platby za výkon. (My verejné nemocnice aj ako NO dávame finančným skupinám.

V mnohom je podobný systém, ktorý bol u nás do roku 1989. **Riadenie a kontrolu** zabezpečuje hierarchický systém inštitúcií: Ministerstvo vnútra a zdravotníctva – plní poradnú a kontrolnú úlohu a riadi inštitúcie na miestnej úrovni, ktoré poskytujú služby v oblasti zdravotníctva. Národná rada zdravia – National Board of Health – politicko-odborný poradný orgán v rámci ministerstva, zložený z externých odborníkov a z permanentných zamestnancov. Národný ústav verejného zdravotníctva – National Institute of Public Health – odborný a nezávislý inštitút ministerstva so zameraním na výskum a prieskumy v oblasti verejného zdravia, epidemiológie, štatistiky, podpory zdravia. Zabezpečuje plánovanie, konzultačné služby vláde a samosprávam. Odbory zdravotníctva na krajských úradoch a v mestách (municipality). Hygienická služba – separátne pod ostatnými ministerstvami na životné prostredie, potraviny, služby, pracoviská.

So zdravotníctvom je spokojných 90 % Dánov čo predstavuje najvyššie % spokojnosti v EÚ.

Keďže sme začali hovoriť o spokojnosti a kvalite, nie je od veci porovnať kvalitu oboch zdravotníckych systémov navzájom a s nami. Na všetko dnes existujú rebríčky, hodnotiace škály, tak je divné, že všetko nefunguje perfektne ako hodinky vo Švajčiarsku.

## MEDZINÁRODNÉ POROVNANIA KVALITY ZDRAVOTNÍCKYCH SYSTÉMOV

Existuje rebríček švédskej mimovládnej organizácie **Health Consumer Powerhouse** (HCP). V roku 2009 porovnával kvalitu zdravotnej starostlivosti v krajinách Európy. **Slovensko** sa umiestnilo na **28 mieste** za ČR (je pred nami o 11 miest). To nás neprekvapuje. Ale že sa budeme nachádzať aj za Poľskom a Maďarskom, ktoré majú nižšie rozpočty na ZS na obyvateľa ako my, to stojí za zamyslenie. HCP hodnotil zdravotníctvo 33 európskych štátov. Umiestnenie v rebríčku je výsledkom hodnotenia 38 indikátorov kvality zdravotníctva zameraných na práva a informovanosť pacientov, e-Health, dĺžku čakacích dôb, výsledkov liečby, rozsahu a dostupnosti poskytovanej liečby a liekovú politiku. V porovnaní s 2008 Slovensko v rebríčku kleslo z 22. na 28. miesto.

Príčinou je najmä **zaostávanie v elektronickej komunikácii a prenose dát** (tzv. e-Health systém), ale aj klesajúca rovnosť v prístupe k zdravotnej starostlivosti a **nárast neformálnych platieb lekárom** (ako pekne pomenované)! Je veľmi divné, že pacient platí za služby a nedostane bloček z pokladne.

### Najlepší sme boli v:

- Reflektovaní práv pacientov v zdravotnej legislatíve a prístupe patientskych organizácií do rozhodovania pri tvorbe legislatívy
- Prístupe k všeobecnému lekárovi do 24 hodín
- Očkovaniu novorodencov (neviem či sa to s opatreniami ministra nezhoršilo)
- Financovaní zubného lekárstva z verejných zdrojov
- Úhrade liekov na predpis s verejných zdrojov a existencii aj laikom zrozumiteľného zoznamu

**V čom sme boli najhorší**, ani nechcete vedieť (dozviete sa na odkaze na [www](#) [16]): Možnosti poistenia voči chybným lekárskeým zákrokom a dostupnosť kompenzácie; rebríčky lekárov špecialistov (dostupnosť informácií o ich kvalite); vyhľadávanie liečby v zahraničí; **rebríčky nemocníc a iných poskytovateľov zdravotnej starostlivosti s dostupnosťou rebríčkov kvality; elektronický prenos dát medzi poskytovateľmi; elektronický prenos dát z laboratórnych testov priamo pacientovi**; on-line objednávanie a prístup pacientov

k osobným nákladom na liečbu v poisťovni, elektronické predpisovanie liekov, čakacie doby na vážne neakútne operácie, úmrtnosť na infarkt, úmrtnosť novorodencov, úmrtnosť na rakovinu, počet stratených rokov života v dôsledku úmrtí, ktorým sa dalo vyhnúť; **rovnosť v prístupe k zdravotnej starostlivosti**; počet operácií šedého zákalu na 100-tis obyvateľov nad 65-rokov, počet mamografických vyšetrení; neformálna platba lekárom; dĺžka času od registrácie po rozhodnutie o úhrade časti z jeho ceny z verejných zdrojov.

Z toho len **vyznačené boldom** sa týkajú **laboratórnej diagnostiky**... Ale všetky ostatné sa týkajú nás všetkých.

Čo myslíte, kde v tomto rebríčku skončili dva diametrálne odlišné modely – holandský a dánsky? Na prvých dvoch miestach. Z toho vyplýva, nezáleží na tom, ako model funguje. Dôležité je, aby fungoval. Žiadny systém ZS nie je samospasiteľný, každý dokáže fungovať zle v zlých rukách a pri nekalých úmysloch. Najpodstatnejšie je, aká kultúra panuje v krajine pri dodržiavaní pravidiel, aby nedochádzalo k zneužívaniu jednej alebo druhej organizačnej formy. My sme roky presviedčali občanov, že stačí systém viacerých poisťovní zaviesť a ostatné sa utrasie samo. Ako vidíme neutriaslo sa, ba naopak.

Pre to, aby sme si vybrali nejaký systém financovania, je potrebné splniť veľa predpokladov. Nestačí vybrať si ten „najdokonalejší“, ale zvážiť, či dokonalosť so sebou neprináša aj administratívnu náročnosť a „neefektívne“ vynakladanie zdrojov na fakt, že nezískame nové zdroje, ale zavedieme istý model z pohľadu relatívnej spravodlivosti.

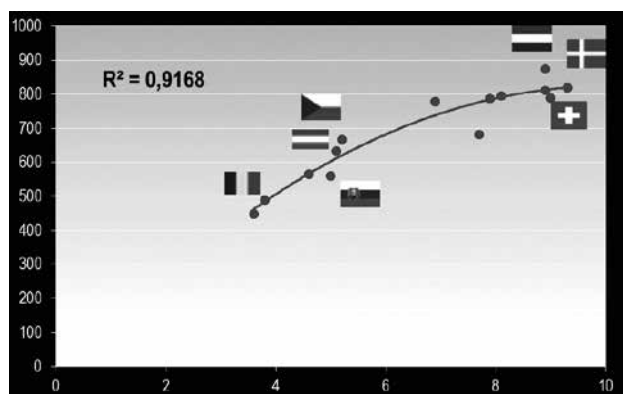
Akokoľvek rozdeľovanie – napríklad platby za výkony v nemocnici – prinášajú zo sebou druhú stránku a to snahu systém oklamať. Tak sme sa pokúsili urobiť analýzu, od čoho závisí miera kvality ZS v niektorých štátoch Európy. Získali sme závislosť o našej závislosti na metóde ako si nepoctivo uľahčiť čo sa dá – KORUPCII na kvalite zdravotnej starostlivosti. Ako vidíme, zručnosti, ktoré mnohým pomohli predbehnúť suseda a pestovali si ich účinne za socializmu, sa oplácajú inou nevýhodou.

### Korupcia a vzťah ku kvalite zdravotnej starostlivosti

Porovnanie indexu hodnotenia kvality zdravotníckych systémov Health Consumer Index (os Y) a Indexu ktorý hodnotí mieru korupcie v krajine (CPI – Corruption Perceptions Index na osi X) v 2009. Žiaľ, v porovnaní s rokom 2009 nám tento index klesol z 5,0 na 4,0 v roku 2011 Z krajín Eurozóny sú na tom horšie už len Taliansko a Grécko.

Pozor, nižšie uvedené konštatovania sa neviažu na korupciu obmedzenú iba na zdravotníckych pracovníkov, ale na akceptáciu tohto javu verejnosťou (občanmi) v štátnej správe, justícii, polícii, pracovných záležitostiach – celkovo v spoločnosti.

Tento index sleduje medzinárodná organizácia – **Transparency international**. Mali sme sklon jej veriť, dokiaľ 16. 6. 2013 v TA3 na vyzvanie MF SR nepriznali, kto ich na Slovensku financuje. Určite neuhádnete, tak si pozrite ich stránku [17]. Že by si niektoré firmy podnikajúce v zdravotníctve kupovali čisté svedomie?



### Porovnanie tých najlepších so Slovenskom

V tabuľke vidíme porovnanie Holandska a Dánska s nami z rôznych pohľadov. Poukazuje na veľké rozdiely, ale aj určité podobnosti medzi týmito dvomi krajinami.

Jediná podobnosť týchto krajín so Slovenskom je, že máme takmer rovnaký počet obyvateľov ako Dánsko. A akcionárov súkromných ZP z Holandska. História, zvyky a zloženie obyvateľstva, tradície demokratického myslenia a vzťah ku korupcii sú oproti nám diametrálne odlišné.

Takže, akýkoľvek systém zavedieme, vždy bude fungovať len podľa nás. Každý systém dáva možnosti obohacovať sa na úkor iných, nielen legálnymi aj keď neserióznymi ziskami súkromných ZP. Prečo nepocitívými, lebo pochádzajú s neuhradených výkonov (vyšetrení, liečby), ktoré zdravotnícke zariadenia pre ich poistencov vykonali.

Čím sa dnes ešte líšia zdravotné poisťovne na Slovensku? Potrebujeme vôbec ich pluralitu, keď všetky poskytujú prakticky rovnaké podmienky? Pluralita je drahšia. Prečo sa stále nezavádza toľko avizované **dobrovoľné voliteľné pripoistenie**? Koľko desaťročí budeme o tom ešte debatovať? Prečo sa u nás volajú zdravotné poisťovne poisťovňami, keď jediné, čo istia, je neistota?

Index	Holandsko	Dánsko	Slovensko
Model zdravotníctva	privátne ZP	štátny systém	štátna + privátne ZP
Počet poisťovní	30	0	1 + 2
Náklady ZS na občana/rok USD (2009)	5164	6273	1373
% priamych platieb z celkových nákladov	23%	20%	33%
Odhadovaná dĺžka života (roky)	81	79	75
Vzťah obyvateľov k liberalizmu	veľmi liberálne	liberálne	málo liberálne
Počet obyvateľov/ Monarchia/ Republika	16,8 mil. M	5,3 mil. M	5,4 mil. R
Počet lekárov/ sestier na 10 000 obyv.	28,7/152,0	34,7/145,4	30,0/65,8
Priemerná mzda v € (nezamestnanosť%)	3520 (4,4%)	3552 (7,6%)	751 (13,5%)
Vnímanie korupcie poradie (CPI – 2011)	7 (8,9)	2 (9,4)	66 (4,0)
Rebríček kvality (počet bodov 2009)	1 (875 b)	2 (817 b)	28 (560 b)

Problém je, že žiadna z poisťovní si neplní svoje úlohy a rozdeľovanie (či úsporu) robí NETRANSPARENTNE a s jediným cieľom, čo najviac ušetriť, aby mala čo najväčšie zisky. Metódy ako to dosahujú pri laboratóriách dobre poznáme.

#### **10 neseriózných postupov poisťovní voči laboratóriám:**

- Zdravotné poisťovne v zmluvách vynucujú limity na počet výkonov, napriek tomu, aj keď vedia že laboratórium nevie ovplyvniť počet výkonov. Naopak niektoré laboratóriá od niektorých poisťovní problém s limitmi nemajú; prečo asi?
- Laboratórium dodané vzorky nemôže vrátiť lekárovi nevyšetrené. Keď má prekročené limity, nepriamo je nútené k práci zadarmo.
- ZP nie sú ochotné preplácať nové, pre kliniku potrebné výkony, ak nie sú v zozname výkonov. Pretože nové výkony sa tam dostanú až pri zavedení nového zoznamu alebo jeho novelách, tento proces je zo strany ZP zámerne bojkotovaný – znamenal by pre nich extra náklady na laboratórnu diagnostiku;
- Odmietajú preplatiť výkony, ktoré boli ordinované lekárom inej odbornosti, ako je v zozname, aj v úplne logicky odôvodnených prípadoch u pacientov s viacerými diagnózami.
- Odmietajú preplatiť výkon, ktorý laboratórium urobilo u pacienta predtým vyšetreného inde. Laboratórium si nemá ako overiť predchádzajúce vyšetrenie pacienta, keď dostane len vzorku krvi. Niektorí lekári si beztrešne overujú výsledky v iných laboratóriách, napriek tomu, že je to neefektívne plynutie.
- ZP nepreplatia výkon urobený pacientovi, zle zadanému do systému (na základe zlej informácie od lekára) alebo u pacienta, ktorý medzičasom zomrel (nie vinou laboratória);
- Poisťovne si rozdielne určujú frekvenciu s akou môžu byť výkony vykonávané – porušenie periodicity je častý argument, a aj keď laboratórium pravidlá dodrží, výkony nie sú preplatené;
- Poisťovne majú rôzny názor väzby na diagnózy, pričom jeden pacient môže mať aj viacej diagnóz, ale poisťovne uznávajú len prvú v poradí, takže sa často stáva, že sú nepreplatené vyšetrenia, ktoré boli plne indikované;
- Niektoré poisťovne majú zastaraný názor na niektoré vyšetrenia a v moderných indikáciách ich nepreplácajú.

Nerovnoprávne ekonomické aj právne postavenie poskytovateľa a poisťovne a spoliehanie sa poisťovní na nevyožiteľnosť práva.

Pretože nejde o nič viac ani menej ako o zisk, zo vzťahu LABORATÓRIUM – ZDRAVOTNÁ POISŤOVŇA sa namiesto partnerstva, stáva boj.

Stráca sa cieľ našej práce, ktorým je chorý človek a nahrádza sa bojom o peniaze. Je to ako zbrojenie dvoch znepriatelených strán. Keď jedna vymyslí novú zbraň, druhá vymyslí účinnú obranu, na čo prvá vymyslí niečo, čo ju prekoná... Zo vzťahu, ktorým by malo byť PARTNERSTVO zamerané na prospech pre pacientov, sa stáva zbrojenie na intelektuálnej úrovni. Takýto prístup nemá koniec... Súboj, ktorý má len porazených.

Dovtedy sa chodí z džbánom po vodu až sa ucho odtrhne... Aké je riešenie? Myslíme si, že nás spasi prechod na jednu poisťovňu? Ak nebude pristupovať k laboratóriám z pohľadu partnerstva, tak nie.

#### **Čo by poisťovne (skôr jedna) mala robiť (dosiaľ nerobí) vo vzťahu k laboratórnej diagnostike?**

- Výkony (vyšetrenia) nesprávne alebo nadbytočné indikované by mali účtovať tomu, kto ich indikoval a nie tomu, kto ich v dobrej vôli pre pacienta kvalitne vykonal.
- Odstrániť všetky ostatné neseriózne prístupy k laboratóriám (uvedené vyššie)
- Zriadiť stály kontrolný orgán (inštitút) v ktorom by boli zástupcovia komôr (lekárskej a špecialistov), ZP, UDZS pod vedením MZSR. Táto by sledovala dodržiavanie kvality, analyzovala sortiment vyšetrení laboratórií a porovnávala ho s výsledkami štatistík, riešila spory medzi laboratóriami a ZP, dohliadala na novelizáciu zoznamu výkonov a tvorbu cien.
- Z ušetrených prostriedkov v segmente laboratórnej diagnostiky a SVLZ by mali financovať výskumné granty, ktoré by boli zamerané na zefektívnenie diagnostického procesu, hlavne v problémových oblastiach pred analytickej a post analytickej fázy.
- Regulovať nemedicínske, ale ekonomizujúce prístupy, ktoré zhoršujú kvalitu systému. Obmedziť transport vzoriek naprieč republikou, tam, kde to nie je odôvodnené centralizovaním vysoko špecializovaných vyšetrení.

Aj jedna zjednotená národná, či štátna zdravotná poisťovňa, ak bude zle riadená, ešte nemusí znamenať pre laboratóriá výhru. Preto môžeme očakávať ZMENY. Potešia nás?



## DRG – nová mantra ?

Ako sme už povedali, pretože nevieme žiadny systém spravovať poriadne, hľadáme nové mechanizmy, ktoré by mali vykonať zázraky. Napríklad DRG. Viac sme o tom písali v Zdravotníckych novinách [18].

Fungovanie systému DRG vyžaduje okrem odborných predpokladov aj také „maličkosti“, ako sú čestnosť, poctivosť, transparentnosť, poriadok a absolútne jasné, dopredu stanovené pravidlá... Ani najdokonalejší systém nebude fungovať bez týchto „maličkostí“. Nikto presne nestanovil administratívnu náročnosť na strane poskytovateľov, nemocníc a pracovníkov na oddelení. Nejasnosti v DRG zvýšia riziko zneužívania.

Získavanie údajov potrebných pre DRG bude komplikované pre tie zdravotnícke zariadenia, ktoré majú laboratórne výkony dodávané z neštátnych laboratórií. Tieto pravdepodobne nebudú ochotné poskytovať podrobné informácie o materiálových, mzdových a režijných nákladoch. Problém bude musieť byť vyriešený úpravou legislatívy alebo stanovením konkrétnej ceny výkonov v eurách.

Dopátrať sa skutočnej skladby nákladov v zdravotníctve nie je jednoduché. Vykazované sú veľmi rôzne, napríklad poisťovne vo svojich správach uvádzajú skladbu výdavkov podľa jednotlivých kapitol. Len sa odhaduje koľko z nákladov tvoria mzdy. SVLZ v ambulantnej časti tvorí asi 10 % (laboratóriá < 4 %) ale sú aj SVLZ pracoviská v ÚZS – nemocnice (nevedno aký % podiel).

Preto aby sme si vybrali nejaký systém financovania je potrebné splniť veľa predpokladov. Nestačí vybrať si ten kvázi „najdokonalejší“, ale zvážiť, či dokonalosť so sebou neprináša aj administratívnu náročnosť a „neefektívne“ vynakladanie zdrojov na fakt, že nezískame nové zdroje, ale zavedieme istý model z pohľadu relatívnej spravodlivosti. Akékoľvek rozdeľovanie – napríklad platby za výkony v nemocnici – prinášajú zo sebou druhú stránku a to snahu systém oklamať.

Čo dodať k tejto novej „mantré“, ktorá má zachrániť financovanie Slovenského zdravotníctva? – DRG bude rozhodovať, ako sa prerozdeli 17,7 % výdavkov v zdravotníctve v rámci ÚZS, žiaľ za cenu vysokej náročnosti na prácu, ktorá nebude dodatočne zaplatená. Alebo sa príjmu noví pracovníci?

## FUNDHOLDING – tragédia čo postihla poľské laboratóriá

Reprezentanti všeobecnej zdravotnej poisťovne sa netajú úvahami o zavedení pomerne starej metódy **Fundholdingu** (držanie rozpočtu na každého pacienta jeho ošetrojúcim, praktickým lekárom. Táto metóda

má pomôcť získať úspory prostriedkov ZP na SVLZ výkony, teda aj laboratóriá.

Fundholding bol zavedený v Anglicku v roku 1991 konzervatívnou vládou Margaret Thatcher ako súčasť reformy Národnej zdravotnej služby a bol zrušený počas Labouristickej vlády v 1998. Systém financovania zdravotnej starostlivosti, ktorý umožňoval praktickým lekárom (general practitioners – GP) získať fixný fond na platenie primárnej zdravotnej starostlivosti, liekov, a neurgentnej liečby v nemocniciach pre pacientov. Účasť v systéme bola dobrovoľná a nepokrývala všetkých pacientov aj keď postupne narastal počet lekárov, ktorí sa do neho zapájali. U nás (pretože sme pápežskejší ako pápež) by sme ju zaviedli isto celoplošne (poznámka autorov). Systém bol zavedený veľmi rýchlo (po diskusii 50 dní) bez hlbších analýz a zrušený bol bez vyhodnotenia prínosov a nedostatkov pre pacientov a ekonomiku ZS [19].

Podobný experiment v Maďarsku bol tiež predčasne ukončený, pretože tento princíp sa považuje za veľmi kontroverzný. Po zavedení v Poľsku došlo k poklesu výkonov laboratórnej diagnostiky na tretinu.

Je jednoznačné, že všeobecný lekár dostáva do rúk veľmi veľkú zodpovednosť za osud pacienta ale aj za rozhodovanie o veľkej časti financií v zdravotníctve. Model vyzerá veľmi jednoducho, ale ak niekomu slúbime finančný efekt za uspokojené výkony, musíme ich podmieniť aj tvrdým postihom za chybné rozhodnutia.

**Sú naši všeobecní lekári naozaj pripravení na túto situáciu?** Je v primárnej zdravotnej starostlivosti kvalita dostatočne preverovaná? O vysokom priemernom veku, nízkom vzdelávaní a nedostatku mladých lekárov v tejto profesii sa vedú diskusie aj v médiách.

Každá akcia vyvoláva reakciu. Ak sa vžijeme do pozície poisťovní potom chápeme, že hľadajú **metódy ako znížiť neúčelné indikácie vyšetrení**. (...Topiaci sa aj slamky chytá). Všeobecne známe „marketingové“ aktivity niektorých komerčne orientovaných laboratórií prispeli k tomuto stavu, ktorý sa stále zhoršuje a preto vyššie uvedené metódy sú len ďalším kolom v zbrojení, či hre na mačku a myš.

Odmeňovanie lekárov za neindikovanie vyšetrení je podobne amorálne ako odmeňovať ich za to, že indikujú viac vyšetrení ako je nevyhnutné! Avšak neindikovanie vyšetrení viac zvyšuje riziko negatívnych dôsledkov pre pacienta!

## CHIMÉRA – nárast zdrojov do zdravotníctva, prílepšia si zdravotníci či pacient

Ak si sľubujeme nárast zdrojov v zdravotníctve na reálneho pacienta, tým že vznikne len jedna zdra-

voťná poisťovňa, budeme mať len z časti pravdu. Vy-  
kázaný zisk súkromnej zdravotnej poisťovne, prevažne  
nie sú nezaplatené lieky pre pacientov a len zriedka  
nevykonané vyšetrenia či operačné zákroky. Nie, sú  
to peniaze, ktoré ZP nezaplátili dodávateľom služieb –  
zdravotníckym zariadeniam ako celkom, organizáciám.  
Tieto sú až na pár UN a špecializovaných ústavov (ako  
je aj INMM) v súkromných rukách. A vlastníci rozho-  
dujú, kam ušetrené peniaze investujú a ako ich použijú.

Títo takmer nikdy (okrem revolúcie) nemôžu prehrať.  
Ak im poisťovňa menej zaplatí, majú menší profit (čo sa  
deje teraz). Keď prestane zisk v súkromnej ZP (naprí-  
klad lebo im budú musieť preplatiť všetky výkony a to  
seriózne) stupne zisk vlastníkom zdravotných zariadení.  
A toto je hlavný cieľ. Preto sa bledozelení už tak netrasú,  
už to stihli a prešli so svojimi investíciami prevažne na  
druhú stranu barikády. Títo ľudia vždy prejdú na tú časť  
barikády kde tečie menej krvi a viac peňazí!

Pretože sa riadia zlatým pravidlom dnešných fi-  
nančných podnikateľov, manažérov, lobistov, politikov...

### Privatizácia ZISKU a socializácia STRÁT

**Privatizácia zisku a socializácia strát** – základný  
ekonomický objav súčasnej doby ako zrýchľovať hro-  
madenie majetku a moci pre úzku skupinu vlastníkov.  
Najlepšie ciele sú zdravotníctvo a dôchodky.

Takto vyzeral **zle upečený koláč** slovenského zdra-  
votníctva na začiatku reformy (pred REF) a to ešte  
pred Zajacom. Obsahoval ziskové (zlaté) činnosti,  
zariadenia s vyrovnaným hospodárením (červené) ale  
vďaka mnohým faktorom (na jeden samostatný článok)  
aj stratové – neziskové činnosti.



...a uplynulo niekoľko vlád, koláč narástol...



Postupné privatizovanie ziskových činností zo  
**zle upečeného koláča**. Vyjednanie hrozienuk z koláča  
od začiatku reformy razantne posunul minister Zajac.

Niektoré sa odčlenili, napríklad: záchranky, dialýza,  
magnetické rezonancie, laboratória, kardiológia, on-  
kológia, nukleárna medicína. Iné zrušili, aby sa mohli  
uplatniť privátne pôrodnice, doliečovacie ústavy, očné  
oddelenia... Zostal ohryzený zvyšok, ktorý nielenže  
nebol ale ani nemohol byť ekonomicky efektívny.

Zvyšok nemocnice je na tom tak zle, že je nevy-  
hnutné ho čím skôr zachrániť, najlepšie injekciami  
od finančnej skupiny a prakticky za najnižšiu možnú  
cenu. To bol hlavný cieľ prečo platí: Dôverujte nám,  
nechceme vám zle, všetko pre naše (nie spoločné)  
DOBRO... Preto že sme Slováci, NO u nás nefungujú  
na rozdiel od Dánska. Pretože cieľ je jeden a ten sa darí  
plniť. Pretože občan je za dverami a nepočuje o čom  
sa goriely dohovárajú... Je to pravý opak toho čo ich  
(pardon naši) politici deklarujú.

Milý kolega, zamestnanec súkromného zariadenia,  
buď si istý že na svojej výplatnej páske zmenu ZP  
nepoznáš. Už ste pochopili prečo sa to deje, lebo sa  
jedná o vojnu. Tento krát nie medzi laboratóriami ale  
medzi vlastníkami niektorých zdravotníckych zariadení  
a súkromnými ZP o čierny zvyšok z nasledujúceho  
grafu, ktorý dokazuje vyššia miera privatizácie zdra-  
votníckych zariadení a možno aj rozdielna morálka  
vlastníkov amanažérov, spôsobuje väčšiu „čiernu dieru“  
v slovenskom ako českom zdravotníctve – ktorá pred-  
stavuje zisk vlastníkov v súkromných rukách.

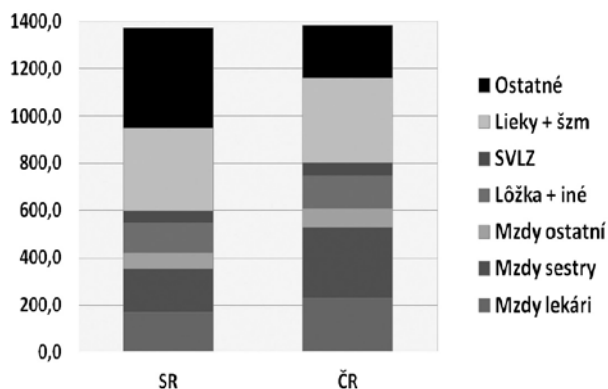
Výdaje do zdravotníctva na jedného obyvateľa Slo-  
venska a ČR sú podľa údajov OECD a WHO takmer  
rovnaké. Počet lekárov, sestier a ostatných zamestnan-  
cov, ale aj lôžok na obyvateľa bol v roku 2009 v ČR  
vyšší avyššie sú aj ich mzdy. Preto Slováci odchádzajú  
pracovať do nemocníc v ČR.

Ak predpokladáme že materiálové náklady na vy-  
šetrenia, lieky a ŠZM sú podobné. **Zostáva 30 % pou-  
žitých zdrojov, kde?** Toto je hlavne ZISK – tá veľká  
čierna diera, ktorej „nerozumel“ pán bývalý minister  
financií Mikloš?

Milý čitateľ, pochopil si prečo cesta k serióznym  
cenám za vykonané výkony a teda aj zaplatenie práce  
(nie chytráctva) na Slovensku trvá už 20 rokov?

Náklady v zdravotníctve budú rásť rovnakým tempom  
ako rastú MZDY ako následok inflácie, základného  
mechanizmu obohacovania bánk a finančnej sféry.  
Princípu na koncentráciu majetku v úzkej skupine ľudí,  
ktorí zväčša naši odvahu a majú nedostatok morálky  
na to aby to robili aj na úkor zdravia iných nie tak  
schopných, nie všetkého schopných.

Obrázok dokumentuje fakt, že výdaje na obyvateľa  
v zdravotníctve medziročne rastú prakticky vo všetkých



krajinách a prevažne kopírujú dynamiku rastu ekonomiky a rast miezd, ktoré sú hlavnou zložkou nákladov v zdravotníctve. Stagnujú v rokoch ekonomickej krízy → Maďarsko (HU). Situáciu nezmenilo v týchto krajinách ani zavedenie DRG, ktoré je označené šípku.

#### Ako sa cítime my, radoví pracovníci ?

Neustále potláčanie akýchkoľvek snáh o odborný rozvoj kvôli „šetreniu“ peňazí vedie k demotivácii a únave. Márne sa ukazuje úsilie o zachovanie aspoň akej-takej kvality, o zavádzaní nových testov a spravodlivom ohodnotení ani nehovoriac...(Aké bude Slovensko bez entuziastických ľudí?..)

Trpí naša profesionálna hrdosť. Mladší, odvážnejší, schopnejší a dynamickejší odchádzajú pracovať do zahraničia. (Aké bude Slovensko bez odborníkov?..)

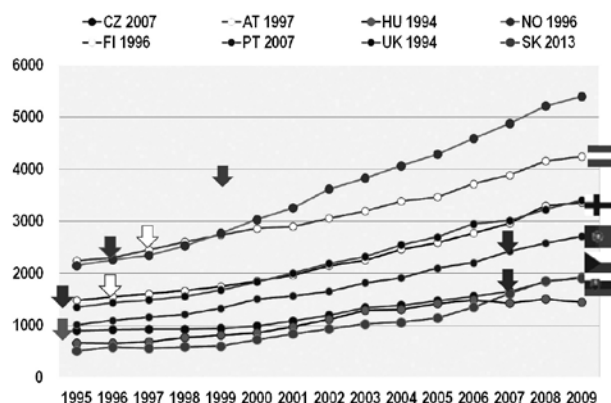
Neúmerný a hlavne neodborný tlak na šetrenie laboratórných testov zo strany poisťovní vedie paradoxne k predraženiu diagnostických procesov, lebo liečiť následky neskoro a zle diagnostikovaného ochorenia je vždy drahšie, než vhodne indikované a relatívne lacné laboratórne vyšetrenie...(Aké bude Slovensko plné chorých a frustrovaných ľudí?..)

#### Žiaľ, musíme sa opäť pýtať Zodpovednosť – a to je čo ?

Odpovedí na otázku, prečo niektoré zdravotnícke zariadenia fungujú a iné robia dlhy, je príliš veľa. Ale zhrnúť ich možno do jediného slova, ktoré by malo byť hlavným mottom nielen zdravotníckych pracovníkov – **ZODPOVEDNOSŤ!**

Zodpovednosť za svojich chorých je to, čo chýba:

- ministerstvu a poisťovniam, ktoré za 20 rokov nedospeli k systému spravodlivého oceňovania výkonov (vysvetlili sme si prečo).
- farmaceutickým korporáciám, ktoré vytvárajú ceny liekov nedostupné pre niektoré populácie



a tlačia na zvyšovanie cien bez ohľadu na stav ekonomiky.

- zdravotníckym pracovníkom, ktorí nevyužívajú dostatočne svoje schopnosti alebo dokonca sú schopní ústupu z morálnych zásad svojej stáročnej profesie a odbornosti.
- finančným skupinám, ktorým je zisk prednejší ako kvalita a ktorí zo zákona povinné odvody chápu ako príspevok na svoj osobný prospech.

#### ZÁVER?

Trend odhryznúť si čo najrýchlejšie z veľkého koláča mnohým zašpinil ústa a napchal už dosť veľké bruchá. KVALITA je pojem s ktorým sa veľa pracuje, ale v mnohých oblastiach zdravotníctva len s malým výsledkom. Používa sa žiaľ často na to ako niekoho pritlačiť k extra nákladom, ale nie kvôli merateľnému efektu.

Naše zdravotníctvo je jednoznačným príkladom upadajúcej morálky našej civilizácie s cieľom **privatizovať zisky a socializovať straty**. Ak u nás na Slovensku uplatníme aj ten najdokonalejší systém zdravotníctva, nikdy nebude fungovať. Vždy bude poznačený korupciou poháňanou bezhraničnou chamtivosťou... hlavne tých mocných. Aj keď táto prezentácia pravdepodobne nepôsobí veľmi optimisticky, bolo by veľkou škodou, upadnúť do úplnej beznádeje.

Myslíme si, že väčšina z nás si vybrala toto krásne povolanie (nie iba zamestnanie), aby mohla pomáhať chorým, resp. predlžovať a zlepšovať kvalitu života. Ale tá bez možnosti rozvíjania fyzických a duševných schopností v harmónii s vierou v pokrok, ktorý prináša zlepšovanie, v spravodlivosť, právo a dostupnosť, ktoré prinášajú istotu, nebude naplnená...

\*\*\*

### Post skriptum

Keď popremýšľame, prečo niektoré veci nefungujú, ostáva nám uvažovať len nad dvoma možnosťami:

- buď ich nevieme robiť tak, aby fungovali, alebo
- ich nechceme robiť tak, aby fungovali.

Alebo že by bola aj tretia možnosť, že ani nevieme, ani nechceme?

Zase sme sa raz odvrátili od Boha a klaniame sa zlatému teľaťu...

...a nešťastný **Mojžiš** sa na to, čo sa dnes na svete deje, díva s hrôzou.

Načo sa len trepal s tými kamennými doskami desatora z hory Sinaj, keď to takto dopadlo...

\*\*\*

### REFERENCIE

- [1] [http://sk.wikipedia.org/wiki/Zoznam\\_najv%C3%A4%C4%8D%C5%A1%C3%ADch\\_metropolitn%C3%BDch\\_oblast%C3%AD](http://sk.wikipedia.org/wiki/Zoznam_najv%C3%A4%C4%8D%C5%A1%C3%ADch_metropolitn%C3%BDch_oblast%C3%AD), citované 17. 6. 2013.
- [2] **Farkaš, M., Hvozdovičová, B.:** Etika v laboratórnej diagnostike. *Sympóziu laboratórnej medicíny*, Jasná, Nízke Tatry, 28.–30. 9. 2011.
- [3] **Balla, J.:** Cenotvorba laboratórnych výkonov v ére Eura. Qui bono? *Laboratórna diagnostika*, (17) 2/2012 str. 70–71. Prednesené na X. kongrese SSKB v Banskej Bystrici, 27.–29. 5. 2012.
- [4] **Lepej, J., Balla, J., Keleová, A.:** Nový pohľad na definovanie výkonov SVLZ-SNOLAMED, Systematická nomenklatura v laboratórnej medicíne a ostatných odboroch spoločných vyšetrovacích a liečebných zložiek. *Medicínsky monitor*, (4), 2011, s. 7–9.
- [5] **Lepej J., Lepejová K., Vivodová E.:** Ako ďalej s katalógom zdravotných výkonov – pomôže Euro vo financovaní laboratórnej diagnostiky? *1. zakladajúca slovensko-česká konferencia – laboratórna diagnostika v medicíne 2008*, Spišská Nová ves, 12.–14. 6. 2008.
- [6] <http://aktualne.atlas.sk/zvolenska-hlada-poradcu-ako-na-jednu-poistovnu-za-tri-miliony/slovensko-zdravnictvo/> dostupné na internete 24. 6. 2013.
- [7] <http://www.cas.sk/clanok/228905/navrat-pred-rok-1993-vlada-bude-iba-jedna-zdravotna-poistovna.html> dostupné na internete 24. 6. 2013.
- [8] Verejne dostupné zdroje o vytunelovaní ZP Perspektíva.
- [9] <http://ekonomika.sme.sk/c/6636422/jedna-poistovna-nic-neriesi-ukazala-statna-analyza.html>
- [10] Jedna zdravotná poisťovňa mešká už 5 mesiacov. <http://ekonomika.sme.sk/c/6785057/jedna-zdravotna-poistovna-meska-uz-pat-mesiacov.html> dostupné na internete: 24. 6. 2013.
- [11] **Martinson, M. L., Teitler, J. O., Reichman, N. E.:** *Am. J. Epidemiology*, 9/2011 a štatistiky WHO.
- [12] **Štatistiky WHO** dostupné na [www.who.org](http://www.who.org)
- [13] Spracované podľa **Suchánková, A:** Zdravotnícké systémy ve světe/internet
- [14] <http://www.hpi.sk/hpi/sk/view/2499/system-zdravotnej-starostlivosti-v-nbsp-holandsku.html>. dostupné na internete 24. 3. 2011.
- [15] International profil of Health care systems, The Commonwealth Fund 2010 dostupné na internete. [http://www.commonwealthfund.org/~media/Files/Publications/Fund%20Report/2011/Nov/1562\\_Squires\\_Intl\\_Profiles\\_2011\\_11\\_10.pdf](http://www.commonwealthfund.org/~media/Files/Publications/Fund%20Report/2011/Nov/1562_Squires_Intl_Profiles_2011_11_10.pdf)
- [16] [http://www.Health Consumer Powerhouse](http://www.HealthConsumerPowerhouse.com), Euro Health Consumer Index 2009 report, september 2009, [http://www.i-health.sk/statistiky/258\\_medzinarodne-porovnania-kvality-zdravotnickych-systemov](http://www.i-health.sk/statistiky/258_medzinarodne-porovnania-kvality-zdravotnickych-systemov)
- [17] <http://www.transparency.sk/sk/o-nas/sucasni-donori/> citované 24. 6. 2013.
- [18] **Lepej J.:** Platba za diagnózu má na Slovensku aj riziká. *Zdravotnícke noviny*, 29/2012, str. 6/7 (09. 08. 2012).
- [19] <http://www.hpi.sk>. dostupné na internete v roku 2011.

# NOVÝ ROZMĚR V DIAGNOSTICE AKUTNÍHO KORONÁRNÍHO SYNDROMU – HIGH-SENZITIVNÍ TROPONIN I FIRMY ABBOTT LABORATORIES

Trbušek, J.

e-mail: jan.trbusek@seznam.cz

## ABSTRACT

Firma Abbott Laboratories, s. r. o. přichází na trh s plně automatizovaným stanovením high-senzitivního troponinu I na imunoanalytických systémech ARCHITECT s možností statimového zpracování. Detekční technologií stanovení je chemiluminiscence. Nový test

test splňuje požadavky odborných společností na vysoce senzitivní troponiny pro časnou diagnostiku infarktu myokardu. Svými vlastnostmi také naplňuje v současné době přijímanou definici tzv. high-senzitivních troponinů, totiž že zvýšené hodnoty troponinů u zdravých jedinců nad tzv. mezí detekce mají prediktivní význam a jsou spojeny s horší prognózou.

# NEW MARKERS IN NEURODEGENERATIVE DISEASES — ARE ROUTINE CLINICAL LABS READY?

Mandel, S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine  
Avenue des Volontaire 19, 1160 Brussels, Belgium

<sup>2</sup>Eve Topf Center for Neurodegenerative Diseases Research, Faculty of Medicine  
Technion, Haifa, Israel

e-mail: mandel@tx.technion.ac.il

## ABSTRACT

Neurodegenerative diseases (NDDs) such as Alzheimer's and Parkinson's (AD and PD, respectively) are of multifactorial origin, inevitably progressive and having a long preclinical period beginning several years prior to symptoms manifestation. Recent studies have attempted to identify this "presymptomatic" phase with the use of biological markers or biomarkers (BMs).

The rapid growth of molecular genetic, imaging and laboratory technology has expanded to the point at which the application of technically advanced BMs becomes widely available and applicable. Such BMs can be useful in mapping disease pathogenesis and identifying subjects at risk. For instance, BMs derived from genes mutated in the familial cases, or from transcriptomics of sporadic brain/blood tissue studies as well as polymorphisms in sporadic cases, may assist to identify individuals "at-risk" during the asymptomatic period. Early screening, detection, and diagnosis of AD or PD may allow intervention with disease modifying therapies at earlier stages, once such drugs become available, and thus may potentially improve clinical outcome.

The strongest biomarker candidates for NDDs include brain imaging using magnetic resonance imaging (MRI) or positron emission tomography (PET), and protein concentrations in cerebrospinal fluid (CSF). Neurochemical BMs measured in the periphery by means of proteomics/metabolomics in blood plasma, cerebrospinal fluid (CSF) and other tissues may be useful adjuncts to imaging and clinical assessment tools. They may also provide valuable information about pathogenic mechanisms during clinical testing of neuroprotective/disease modifying drugs, which is especially relevant to personalized treatment.

However, at present, the available BMs are of limited value in all these respects. The attempt to use BMs in order to diagnose the existence of a disease before the very first symptoms occur has so far not materialized. There is an urgent need to further explore this field in order to have validated BMs on hand once neuroprotective interventions become available. Large multicenter studies are warranted to evaluate the diagnostic value of the combined application of BMs with multiple modalities for prediction, targeted prevention and evaluation of disease modifying therapies in NDDs.

# ECONOMIC AND TECHNICAL ASPECTS FROM BIOMARKER IDENTIFICATION TO COMPANION DIAGNOSTIC — CO DEVELOPMENT

**Krapfenbauer, K.**

European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine  
Avenue des Volontaire 19, 1160 Brussels, Belgium

e-mail: Krapfenbauer@epmanet.eu

## ABSTRACT

Molecular biology played a significant role in advancing the understanding of the molecular basis in the development of different diseases. This new biomolecular understanding has led to the identification of new biological entities, which now dominate the pharmaceuticals pipeline. New biological entities have a higher specificity as new chemical entities lead to the limitation, that the responder population is smaller and large cohort of patients being treated without any benefit. This results in the requirement for large numbers of patients to demonstrate clinical benefit and non-inferiority for new chemical entities. New tools and strategies are therefore necessary to identify the right patient (= responder) and to treat them with the right medicament at the right time. One potential solution is the implementation of treatments driven by a decision making process in which the determination of biomarkers by a diagnostic test is pivotal. A diagnostic test using a set of different biomarkers may determine whether the patient is suitable for treatment with a particular drug; determine the most effective dose for the patient; determine the underlying susceptibility of a patient for a particular side effect or group of side effects; or evaluate the course and effectiveness of a therapy. To better define the appropriate patient population for treatment, pharmaceutical companies are increasingly looking to develop a drug and diagnostic test simultaneously, in a process referred to as companion diagnostic co — development. Companion diagnostics

are increasingly important tools because they lead to reduced costs through pre-selected (smaller) patient population, improved chances of approval, significantly increased market up-take, added value for core business (late phase), and it exist a regulatory trend from different authorities to have such test mandatory. The first drug introduced using the companion diagnostic co — development — Herceptin (trastuzumab; Roche/ Genentech) — has now been on the market for several years. However, the number of drugs marketed alongside companion diagnostic co — development remains small. Regulatory and scientific hurdles as well as lack in the biomarker identification and lack in the technical diagnostic validation have been cited as one of the main reasons for the slow growth in this area. This article focus on some economics and technical factors that should be considered to successfully develop and market a companion diagnostic test, based on lessons learned from recent case studies. A proposed framework of considerations to be addressed at the various stages of developing effective companion diagnostic test is also presented.

## KEYWORDS

Personalised medicine, Pitfalls and limitation in biomarker identification, Validation strategies, Economic aspects, Companion diagnostic — Co development, Regulatory overview

# NOVÉ APLIKAČNÍ MOŽNOSTI CHROMATOGRAFIE, HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE A ELEKTROCHEMIE V KLINICKÉ DIAGNOSTICE

## NEW APPLICATION POSSIBILITIES OF CHROMATOGRAPHY, MASS SPECTROMETRY AND ELECTROCHEMISTRY IN CLINICAL DIAGNOSTICS

**Horna, A., Vaněrková, D.**

Institute of Nutrition and Diagnostics, RADANAL s.r.o.  
530 03 Pardubice, Czech Republic

e-mail: horna@radanal.cz

### ABSTRACT

HPLC has been used in clinical diagnostics since early beginnings. HPLC and/or LC-MS/MS instrumentation and diagnostics methods are very common now for urine or plasma clinical, toxicological and forensic analysis. For alcoholism, drug abuse, biogenic amines, hemoglobins, metabolic diseases, oxidative stress and vitamin status analytical separation methods are used as a preferred assays.

Therapeutic drug HPLC monitoring of antiarrhythmics, antiasthmatics, immunosuppressants, antiepileptic and psychoactive drugs features simple and quick sample preparation, a cost-efficient analysis and reliable results. New born LC-MS/MS screening allows for a quick, sensitive and reliable determination.

Complementary to conventional techniques for metabolism studies (*in vitro* and *in vivo* tests), the electrochemical study of oxidative metabolism reactions is gaining increasing attention. Electrochemistry (EC) allows the fast detection of sites labile towards oxidation and can mimic the formation of potential oxidative metabolites, with several advantages in comparison with chemical oxidation: no need to remove reagents and possibility to on-line coupling to a mass spectrometer (MS), allowing fast analysis of oxidation products, or

to a high performance liquid chromatography (HPLC) for the separation of complex mixtures. LC/EC/MS and EC/LC/MS techniques developed in the last decade have many possible applications, such as study and mimicking of *in vivo* oxidation and metabolism of natural compounds and drugs, or enhancing the efficiency of ionization of analytes for various mass spectrometry techniques [1]. Several studies, utilizing EC flow cells coupled to MS, have demonstrated that electrochemically derived products can often accurately predict biological metabolites and chemical degradation products [2]. Various scientific areas of application for this EC/(LC/) MS hybrid method include drug metabolism studies, peptide, protein and DNA research and quantification strategies. Promising future applications comprise the fields of toxicology and forensics, targeted product synthesis and environmental analysis [3].

### REFERENCES

- [1] Karady, M., Novák, O., Horna, A., Strnad, M., Doležal, K.: High Performance Liquid Chromatography-Electrochemistry-Electrospray Ionization Mass Spectrometry (HPLC/EC/ESI-MS) for Detection and Characterization of Roscovitine



Oxidation Products. *Electroanalysis*, 28 September 2011, 23(12), 2898—2905.

- [2] **Johansson, T., Weidolf, L., Jurva, U.:** Mimicry of phase I drug metabolism – novel methods for metabolite characterization and synthesis. *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.*, 18 June 2007, 21 (14), 2323—2331.
- [3] **Jahn, S., Karst, U.:** Electrochemistry coupled to (liquid chromatography) mass spectrometry-Current state and future perspectives. *J. Chromatogr. A*, 27 May 2012, 1259, 16—49.

## ACKNOWLEDGEMENTS:

*The authors gratefully thank for the support of this work to the Operational program Entrepreneurship and Innovations within the program Potential and the project VIK RADANAL with project No. 4.2 PT03/126, and to the Ministry of Industry and Trade of the CR for the project FR-TI4/331: The development of a plasma free metanephtrines analysis kit.*



EUROPEAN UNION  
EUROPEAN REGIONAL DEVELOPMENT FUND  
INVESTING IN YOUR FUTURE

# NÁDOROVÉ MARKERY – SOUČASNÝ STAV A BUDOUCNOST

## TUMOR MARKERS — STATE OF THE ART AND THE FUTURE

Zima, T., Springer, D.

Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics  
1<sup>st</sup> Faculty of Medicine and General University Hospital, Prague, Czech Republic

e-mail: zimatom@cesnet.cz

### ABSTRACT

Tumour markers (TM) are a group of various molecules which are associated with malignant processes. These markers include enzymes (e. g. NSE, PSA, thymidinkinase), immunoglobulins (paraproteins), hormones (e. g. hCG, PTH, prolactin), fragments of glycoproteins (e. g. CA19-9, CA15-3, CA125), fragments of cytokeratines (TPA, CYFRA21-1), oncofoetal antigens (AFP, CEA), receptors (oestrogen and progesterone receptors, receptor for IL-2, HER2/neu) and circulating cell elements.

Elevation or presence of a tumour marker should be the earliest sign of malignant process. However, relatively low specificity and sensitivity is the reason why the majority of markers is not used for screening and their usage in the diagnostic process is limited. In specific populations with high risk of malignant diseases, selected markers are used for screening — e. g. calcitonin in families with high incidence of medullar carcinoma of thyroid gland or CA 15—3 in families with mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. AFP is selected patients with liver cirrhosis. PSA in men between age 50—65 years or CA-125 and HE4 in women are under discussion whether they should be used for screening. Only AFP and hCG are diagnostic markers for germinal tumours. Increased levels of TM are also associated with non-malignant diseases as chronic inflammation and changes based on impaired eliminations. Negative

results or results within the references range do not exclude the presence of a tumour in the organism.

Preanalytical phase plays a key role in laboratory medicine as well as in TM analysis. Haemolysis artificially increases NSE. PSA is falsely increased after per rectum examination or other manipulation with prostate (cycling, sexual activity) — the blood sampling should be provided after at least 3—5 days.

The main role of markers is monitoring of the course of the disease; their elevation is mostly the first marker of relapse.

The guidelines of EGTM and ISOBM recommend using 1—2 most specific TM. The measurement should be done before therapy, at the end of therapy, during the first year every 1—2 months and then every 3—6 months.

New markers as DNA mutations, protein products of oncogenes (e. g. c-myc, c-fos, k-ras, src), post translational modifications, „new“ genetic changes in malignant cells, markers of angiogenesis are potential more effective markers for diagnostic and therapeutic process.

The ideal tumour marker does not exist yet, but tumour markers have an important role for patient health if we have a sufficient knowledge of them.

### ACKNOWLEDGEMENT

*Studies on tumour markers were supported by research project Ministry of Health RVO-VFN 64165 and the research project of Charles University PRVOUK P25/LF1/2.*

# PRESEPSÍN – BIOMARKER ZÁPALU A SEPSY

Kubala<sup>1,2</sup>, J., Bútová, Z.<sup>1</sup>, Vilhanová, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oddelenie klinickej biochémie VŠNsP Lučenec n.o.

<sup>2</sup>Ústav klinickej biochémie imunológie a alergológie

ÚVN Ružomberok-FN

## ABSTRAKT

Sepsa a septický šok sú jednou z najčastejších príčin mortality u kritických chorých. V USA je priemerne 751 000 prípadov sepsy ročne, z ktorých 251 000 zomrie. Je alarmujúce, že incidencia a mortalita sepsy stúpa priemerne o 9 % ročne. Hlavné faktory vyššej incidence sepsy sú: starnúca populácia, multirezistentné kmene mikroorganizmov, popularizácia invazívnych techník (ako napr. močové katetre, endotracheálna intubácia, intravaskulárne katetre), a stúpajúci počet chirurgických zákrokov.

Patogenéza sepsy je výsledkom komplexnej siete udalostí, ktoré vyplývajú z dysregulácie zápalovej odpovede na infekciu. Komponenty bunkových membrán Gram – negatívnych baktérií (endotoxín) sú predominantné (ale nie exkluzívne) druhy zodpovedné za iniciáciu sepsy. Generalizovaná odpoveď zahŕňa tak celulárnu ako aj humorálnu cestu s generáciou zápalových a protizápalových mediátorov.

Biochemické markery možno raz budú viac objektívne a spoľahlivé než klinické znaky a symptómy alebo fyziologické parametre v determinácii vypuknutia sepsy, kvantifikácii liečebnej odpovede, stratifikácii rizika a posúdení prognózy. K dnešnému dňu však nemáme žiaden sólový test alebo kombináciu testov, ktoré by boli dostatočne robustné, aby splnili tieto úlohy. Neexistuje žiaden „zlatý štandard“ pre diagnózu sepsy. V klinickej praxi sa na jej diagnostiku používa len obmedzený počet markerov, a to najčastejšie CRP, IL-6 a v posledných rokoch prokalcitonín (PCT). Včasná a správna diagnóza sepsy je pritom životne dôležitá, nakoľko oneskorená liečba má fatálne následky pre pacienta.

Novým kandidátom na poli včasnej diagnózy a prog-

nózy sepsy sa ukazuje presepsín, alebo sCD14-ST. CD14 je glykoproteín exprimovaný na povrchu bunkovej membrány monocytov, makrofágov a granulocytov (mCD14) a slúži ako receptor pre komplex lipopolysacharid (LPS) a proteín viažúci lipopolysacharid (LPBP). Naviazaním komplexu LPS a LPBP CD14 aktivuje TLR4 (tool-like receptor 4) špecifickú prozápalovú signálnu kaskádu, ktorá odštartuje zápalovú reakciu hostiteľa proti infekčnému agensu. Následne je CD14 uvoľnený do cirkulácie ako solubilný CD14 (sCD14), z ktorého proteázy plazmy generujú ešte ďalšiu sCD14 molekulu nazývanú sCD14 subtyp (sCD14-ST) alebo presepsín.

V práci predkladáme vlastné skúsenosti so stanovením presepsínu. Od novembra 2012 stanovujeme presepsín na imunoanalýzátore PATHFAST, ktorý pracuje na princípe nekompetitívnej chemiluminiscenčnej enzýmovej imunoanalýzy kombinovanej s B/F separáciou magnetickými partikulami. Vyšetrované médium je heparinizovaná plazma. Trvanie analýzy 17 minút.

Presepsín sme vyšetrili v 458 vzorkách 168 pacientom, ktorým bol zároveň vyšetrený aj CRP. Prokalcitonín malo súčasne vyšetrených 131 pacientov. Pacientov sme rozdelili do troch skupín, podľa hodnôt presepsínu. Prvá skupina pozostávala z pacientov s vysokou hladinou presepsínu, hodnoty > 1000 pg/ml, druhá skupina z pacientov s hodnotami presepsínu 337–1000 pg/ml a tretiu skupinu tvorili pacienti s negatívnou hodnotou presepsínu, čiže < 337 pg/ml. Za pozitívne výsledky stanovenia PCT sme považovali hodnoty PCT > 0.25 ng/ml.

V prvej skupine sa nachádzalo 55 pacientov, 40 z nich (72,7 %) malo pozitívne hodnoty PCT s mediánom 1,22 ng/ml (0,26–100,0 ng/ml) a dvaja (3,6 %) negatívne hodnoty PCT (0,09 a 0,11 ng/ml) a pozitívne CRP (246,5 a 66,6 mg/l). U 13 pacientov nebol PCT

vyšetrený. Medián CRP v celej skupine mal hodnotu 126,4 mg/l (4,6–568,2 mg/l).

Druhú skupinu tvorilo 58 pacientov, z ktorých 25 (43,1 %) malo pozitívne hodnoty PCT s mediánom 0,61 ng/ml (0,3–57,25 ng/ml). U 24 pacientov (41,4 %) boli namerané hodnoty PCT v norme, 9 pacienti PCT vyšetrený nemali. Medián hladiny CRP predstavoval 106,5 mg/l (1,3–457,2 mg/l).

V tretej skupine bolo 55 pacientov, z toho 31 (56,4 %) malo súčasne aj negatívne výsledky stanovenia PCT. Medián hladiny CRP bol 32,3 mg/l (1,0–164,7 mg/l). U 9 pacientov (16,4 %) boli však v tejto skupine namerané pozitívne hodnoty PCT s mediánom 3,83 ng/ml (0,27–51,23 ng/ml), ako i pozitívne hodnoty CRP s mediánom 139,5 mg/l (25–475,1 mg/l). 15 pacienti nemali PCT vyšetrený.

Na základe našich skúsenosti môžeme konštatovať, že presepsín je ďalším dôležitým biomarkerom sepsy/ bakteriálneho zápalu a dopĺňa portfólio testov používaných pri týchto stavoch. Nemôže však nahradiť doterajšie testy. Test bol pozitívny u časti prípadov, kedy PCT a CRP zlyhávali pri stanovení diagnózy a prognózy sepsy, na druhej strane bol negatívny, keď tieto testy a klinika boli jednoznačne pozitívne. Určite sú potrebné ďalšie klinické štúdie, ktoré jednoznačnejšie stanovia miesto presepsínu v klinickej praxi. Ukazuje sa však, že pri vstupnom vyšetrení a u závažných stavov s podozrením na bakteriálnu infekciu a diferenciálnu diagnostiku SIRS verzus sepsa/zápal, je indikovaná multiparametrová stratégia, ktorá zahŕňa CRP, PCT a presepsín.

# LP-ASSOCIATED PLA<sub>2</sub> — CLOSING THE DIAGNOSTIC GAP IN THE CARDIOVASCULAR RISK ASSESSMENT

**Delseith, I.**

DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
Germany

e-mail: i.delseith@diasys.de

## **ABSTRACT**

The predictive value of traditional atherosclerotic risk assessment is limited. Many persons who are actually at high risk of heart attack and stroke are misclassified.

Lipoprotein-phospholipase A2 (Lp-PLA<sub>2</sub>) — also known as platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) — is a new marker of vascular inflammation which is able to overcome these limitations. Lp-PLA<sub>2</sub> is produced by a wide range of inflammatory and non-inflammatory cells like macrophages, T-cells, mast cells. In circulation, Lp-PLA<sub>2</sub> is predominantly associated with LDL particles (~80%), whereas only a small portion of the enzyme is associated with HDL (15—20%). Many important studies confirm a strong association between Lp-PLA<sub>2</sub> levels and cardiovascular risk among different populations. Lp-PLA<sub>2</sub> participates in the oxidative modification of LDL by generating two

pro-inflammatory products which potentially contribute to the formation of atherosclerotic plaques. Most heart attacks and strokes are caused by plaque rupture with thrombosis and not by stenosis. In contrast to the systemic inflammatory marker CRP, determination of Lp-PLA<sub>2</sub> allows a specific prediction on plaque stability. In accordance with experts, American guidelines from the AACE, the AHA/ASA, the ACCF/AHA and the European guideline from the ESC, Lp-PLA<sub>2</sub> determination is recommended as an additional marker to the traditional risk assessment for patients at moderate and high risk.

In summary, Lp-PLA<sub>2</sub> represents a valuable adjunctive tool which goes beyond traditional cardiovascular risk assessment. The new test Lp-PLA<sub>2</sub> FS allows time-saving and easy determination of the Lp-PLA<sub>2</sub> activity on any clinical chemistry analyzer.

# PATOLOGICKÁ ANATÓMIA NA PRAHU 21. STOROČIA – SÚČASNOSŤ A PERSPEKTÍVY

Ondriaš, F.

Laboratórium patologickej anatómie  
Alpha medical patológia, s.r.o.  
Ružinovská 6, Bratislava

E-mail: ondrias.frantisek@alphamedical.sk

## ABSTRAKT

Je to paradox, ale pojem „moderná“ patologická anatómia je vyše 150 rokov platný a siaha do obdobia uvedenia výkonných mikroskopov do rutinnej praxe. Histologická diagnostika otvorila nové obzory, v dovedy takmer výlučne makroskopickej pitevnej diagnostike. Interval posledných desaťročí charakterizuje enormný nárast významu komplexnej mikroskopickej diagnostiky. Súčasne je možné dlhodobo pozorovať pokles záujmu o sekčnú nekroptickú diagnostiku, samozrejme so všetkými negatívami tohto vývoja.

Mikroskopická analýza má neustále zásadný význam v diagnostike mnohých ochorení, ale predovšetkým prekanceróz a nádorov. Diagnostické pracoviská detailne spracovávajú a hodnotia variabilné materiály: orgány, či orgánové systémy získané operačným postupom, a variabilné excidované tkanivá, či stery, punkčáty, odtlačky alebo voľné tekutiny.

Bioptická diagnostika, t.j. mikroskopické vyšetrenie tkanív a orgánov prestali byť procesom, ktorý len pasívne definuje „konečnú“ diagnózu. V súčasnosti predstavuje skutočne zásadný prognostický argument v určovaní terapie prekanceróz a malígnych nádorov. Dosiahnutie tejto úrovne si vyžaduje využitie najnovších morfológických diferenciálne diagnostických postupov.

*Základnou diagnostickou metódou bioptického mikroskopického vyšetrenia* neustále zostáva prehľadné hematoxylín – eozínové farbenie. Je to vstupný proces do komplexu diferenciálne diagnostickej analýzy, na ktorý nadväzujú tzv.: nadstavbové morfológické metodiky.

*HCH – histochemické vyšetrenia:* pomocou definovaných chemických väzieb medzi vzorkou a použitým farbivom, je možné v širokej farebnej škále zvýrazniť jednotlivé štruktúry uložené v bunke, ale aj tkanív či orgánov.

*Enzymatické vyšetrenia:* predstavujú špecializovanú oblasť, v ktorej je možné v nefixovanom tkanive stanoviť prítomnosť enzýmov priamo v tkanive, a tak prispieť k diferenciácii štruktúr.

*IHC – imunohistochemické vyšetrenia:* pomocou antigén – protilátkovej reakcie s použitím chromogénu, t.j. látky, ktorá sa vizualizuje priamo v mieste priebehu reakcie, je možné dokázať v tkanive definovanú chemickú substanciu. Táto metodika vďaka rutinnému využitiu komplexných „panelových“ reakcií umožňuje:

- definovať histogénu, t.j. primárny tkanivový pôvod nádoru
- umožňuje prognosticky hodnotiť malígny potenciál, a tým aj perspektívu pacienta
- stanovením definovaných prognostických biomarkerov/EGFR, HER-2, ALK, Ki 67, p 16, p 53/prispievať aj k prejedikácii nadstavbovej terapie

Súčasná moderná onkologická diagnostika nie je mysliteľná bez štandardizovanej formy uvedených vyšetrení.

**Perspektívny vývoj v diagnostickej patológii charakterizujú dva zásadné vývojové smery:**

Využitie metodík molekulárnej biológie, ktoré sa v onkologickej diagnostike dopĺňujú k „štandardným“ mikroskopickým vyšetreniam ako nadstavba. Ich význam tak spočíva v precíznejšom definovaní histogenézy nádoru, čo môže v konečnom dôsledku významne ovplyvniť základnú onkologickú terapiu. Rovnako enormný význam má aj stanovenie prediktívnych biomarkerov (HER-2, KRAS, EGFR, VGFR, BRAF, BRCA). Výsledky mutačných analýz majú zásadný význam pre voľbu následnej špecifickej terapie.

Neustále sa rozširujúca škála možností, ktoré ponúkajú systémy obrazovej analýzy. Jej prednosti nespočívajú len v následnej možnosti matematickej dátovej analýzy, ale významne prispievajú aj k detailnejšej štrukturálnej mikroskopickej diagnostike. Je to oblasť,

kde stojíme na začiatku cesty, ale vývoj v tomto smere je isto nezastaviteľný.

## ZÁVER

Patológia 20. storočia prekonala enormný vývoj v teoretickej rovine ako aj vo využití nových technologických a diagnostických postupov. Paradoxmi tohto vývoja sú dva nesmierne podstatné fakty:

- Presun dominantného záujmu odboru patológia z pitevnej nekroptickej diagnostiky do intravitálnej oblasti, s využitím nových zásadných technických a diagnostických možností
- Strata „monopolu“ nad vlastníctvom tkaniva, ktoré sa stalo diagnostickou bázou aj pre iné odbory.

**Z tohto vývoja je jednoznačne zrejmé:** perspektíva diagnostickej patológie spočíva určite v intenzifikácii interdisciplinárnej spolupráce.

# OUTSOURCING V LABORATÓRNEJ MEDICÍNE: ANALÝZA DOPADOV

**Kováč, G., Porubenová, A.**

Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny  
LF SZU Bratislava  
Inštitút laboratórnej diagnostiky  
Alpha medical, Bratislava

## ABSTRAKT

**Outsourcing** je rozhodnutie o zmene vlastníka: vychádza z break even analysis.

**Koncentrácia** je vnímaná ako spájanie: zvyšuje efektivitu, efícienciu a ekonomiku laboratórnej diagnostiky.

**Investori** sú vnímaní ako finančné skupiny: sú dôsledkom trhovej ekonomiky: ich motiváciou je zisk. Zabúda sa na „malých investorov“, s rovnakou motiváciou.

**Redistribúcia** sa chápe z aspektu „čo sa komu berie“: zabúda sa na aspekt hľadania východísk.

**Špeciálne vyšetrenia** sú náročné na časové, finančné a personálne zdroje.

**Dopady** outsourcingu sú spájané s poklesom kvality: za príčinu sa považuje strata kontaktu: k outsourcingu však patrí tiež selfmonitoring pacienta, POCT diagnostika a „lab on chip“: ktoré zvyšujú komfort pacienta a klinika.

**Perspektíva vzdelávania** je pre chaos v legislatíve súvisiaci s nekompetentným manažmentom zo strany MZ SR, riešením skrytej agendy zo strany niektorých odborných a stavovských inštitúcií a niekedy s výslovnou hlúpostou konkrétnych jedincov zbytočne spájaná s pocitom neistoty: v rámci EU je perspektívou Blue Syllabus a špecialista v laboratórnej medicíne.

**Zanikajúce povolanie** laboratórneho diagnostika a obavy s ním spájané sú oprávnené: počet záujem-

cov živiť sa laboratórnou diagnostikou klesá: nie z dôvodov outsourcingu, ale pre nízku atraktivitu povolania, z nej vyplývajúceho dlhodobého nezáujmu lekárov aj nelekárov a pre zbytočné budovanie bariér a diskrimináciu nelekárov.

**Sebestačnosť:** nie je jasné čo sa pod tým rozumie: asi ideálna predstava „všade všetko“ pri implementácii do slovenskej reality je skôr „všade nič“.

**Šetreniu** sa hranice nekladú: zabúda sa na Vonderschmittov trojuholník, ktorého princíp spočíva vo vzájomnej závislosti rýchlosti, kvality a nákladov.

**Pri analýze dopadov si treba uvedomiť, že:**

**Outsourcing** je pokus o riešenie nadväznosti kvality, nákladov a logistiky: je spojený s identifikáciou možností laboratória a založený na vyhodnotení zisku/straty pri strategickom rozhodnutí.

**Koncentrácia** znamená stratu kontaktu a preto musí byť vždy spojená s „bioinformataizáciou“.

**Investori** musia mať vytvorený legislatívny rámec zabezpečujúci rovnováhu medzi biznisom a medicínou.

**Redistribúcia** musí riešiť problém: niečo stratím, niečo získam.

**Špeciálne vyšetrenia** znamenajú koncentráciu a stratu kontaktu, a preto musia byť vždy spojené s „bioinformatizáciou“.



**Dopady** outsourcingu je nevyhnutné kompenzovať novými technológiami (POCT a IT) a prístupmi (konzultácie, audity predanalytickej fázy).

**Perspektíva vzdelávania** spočíva v orientácii na univerzálnosť, v prípade potreby na cieľnú špecializáciu, kliniku a manažment.

**Laboratórny diagnostik** ako povolanie nemusí zaniknúť, musí však zmeniť prístupy: zvýšenie atraktivity a odstránenie bariér je základným predpokladom.

**V súvislosti so šetrením a sebestačnosťou si treba uvedomiť, že nemôžeme mať najlepšiu kvalitu, najvyššiu rýchlosť a najnižšiu cenu laboratórnej diagnostiky súčasne:** ak ju chceme mať rýchlu a kvalitnú, bude drahá, ak ju chceme mať rýchlu a lacnú, bude nekvalitná, ak ju chceme mať lacnú a kvalitnú, bude pomalá.

## LITERATÚRA

- [1] Kováč, G., Porubenová, A.: Quality and Privatisation of Laboratory Diagnostics in Slovakia, *Laboratórna diagnostika v medicíne*, (2008), 1, 14–15.
- [2] Kováč, G., Porubenová, A., Blažíček, P., Trupl, J., Farkaš, M., Balla, J.: Development, organisation and content of polyvalent medical biopathology in Slovakia, *Clin.Chem. Lab. Med.*, 2008, 46, 8, A69.
- [3] Kováč, G., Porubenová, A.: Nové trendy v laboratórnej diagnostike. *Laboratórna diagnostika*, 2009, 14, 1–2, 139–140.
- [4] Kováč, G., Blažíček, P.: POCT, nanotechnológie a personalizovaná laboratórna diagnostika, 2010, *Laboratórna diagnostika v medicíne*, 12–14.
- [5] Kováč, G., Lednický, P., Kelčík, P., Porubenová, A.: Optimalizácia siete, personálne benchmarky a indikátory kvality klinických laboratórií. *Laboratórna medicína*, 2011, 18–21.
- [6] Kováč, G., Porubenová, A.: Aktuálny stav postgraduálneho vzdelávania z klinickej biochemie a laboratórnej medicíny. *Laboratórna medicína*, 2011, 40–43.

# KVALITATÍVNE KRITÉRIÁ V PROCESÉ DIAGNOSTIKY ZRIEDKAVÝCH CHORÔB

Cisarik, F.

Oddelenie lekárskej genetiky Fakultnej nemocnice s poliklinikou v Žiline

e-mail: cisgen@fnspza.sk

## ABSTRACT

Podľa všeobecnej európskej dohody sa za zriedkavú považuje taká choroba (ZCH), ktorej prevalencia v populácii je menej ako 1:2000. Opisuje sa viac ako 7000 (ORPHANET) typov ZCH a v súhrne postihne niektorá ZCH počas života 6–8 % populácie. Odhaduje sa že v EU postihujú ZCH viac ako 30 miliónov osôb. Až v 80 % prípadov ide o genetické choroby/chyby. Zlepšenie laboratórnej diagnostiky a veľmi limitované terapeutické možnosti u ZCH sú dôvodom cieľného záujmu o dostupnosť špecializovanej zdravotnej starostlivosti.

Zdravotnícku starostlivosť a spoločenský dopad ZCH charakterizuje malý počet pacientov v regióne, nedostatok špecialistov a špecializovaných centier, nákladnosť diagnostiky a najmä liečby, nutnosť medzi-

národnej spolupráce. Pre riešenie problematiky v EÚ sa podporuje vývoj Centier expertízy ZCH, zapojenie špecialistov a centier do Európskej referenčnej siete ZCH a funkčnosť registrov ZCH. Rozsah problematiky ZCH vyžaduje celoeurópske riešenia.

Základom kvality v problematike ZCH je síce kvalita laboratórnych vyšetrení, ale závažnosť a zriedkavosť ZCH vyžaduje riešenie kvality v celom procese od dostupnosti diagnostiky až po organizáciu sociálnej podpory. Preto EUCERD (European Union Committee of Experts on Rare Diseases) vypracoval „Odporúčania ku kritériám kvality centier odborných znalostí pre zriedkavé choroby v členských štátoch“, „EUCERD odporúčania ku európskym referenčným sieťam – RD ERNS“ a pracuje sa na ďalších odporúčaní. V členských štátoch sa zostavujú Národné plány starostlivosti o pacientov so ZCH, vrátane Slovenska.

# MOŽNOSTI BIOCHEMICKÝCH VYŠETRENÍ V SPRESNENÍ DIAGNOSTIKY RAKOVINY PROSTATY. ETIKA, MEDICINA A BIZNIS – KTO ZLYHÁVA ?

**Blažiček, P.**

Laboratórium špeciálnych metód Alpha Medical Bratislava

E-mail: blazicek.pavel@alphamedical.sk

## ÚVOD

Etika a biznis, je to vôbec možno spojiť? Čo vlastne predstavujú tieto fenomény a ako sa s nimi nakladá v medicíne? Typický príklad je skríning rakoviny prostaty. Využitie PSA pre skríning rakoviny prostaty rozdelil urológov na dve skupiny. Je pravda, že špecificita PSA na diagnostiku rakoviny prostaty pri 95 % senzitivite je len 8 % a teda urológovia majú dilemu robiť skríning, alebo nerobiť. Prvá skupina argumentuje je to veľmi drahé. V USA dva roky skríningu stáli 3 miliardy dolárov, bolo zistených 1,3 milióna pacientov s CaP, 1 milión bolo operovaných. Argumentácia odporcov skríningu bola, veľa pacientov s CaP mali menej agresívny tumor a aj bez operácie by ešte mohli chvíľu žiť a mohlo sa ušetriť. Asi 5 % pacientov malo inkontinenciu moču, asi 7 % mali erektilnú dysfunkciu. Takže ich záver bol zachránilo sa malé množstvo pacientov s CaP a doporučenie je skríning nerobiť tak to doporučovala. US Preventive Services Task Force (USPSTF), ktorá „udelila“ tomuto skríningu D, je to však odporúčanie nie je to edikt. Našťastie AUA (americká urológická spoločnosť) a ACA (americká onkologická spoločnosť) nemá rovnaký názor a skríning doporučujú. Nedá sa mi opýtať: Akú hodnotu ma zachránený ľudský život? Je teda namieste otázka je etické niekoho vylúčiť zo skríningu? V USA sa doporučuje robiť skríning pomocou PSA od 54 do 70 rokov a ostatných vyradiť. Je to etické? Druhú skupinu urológov reprezentovaných AUA a ACA, najlepšie vystihuje výrok profesora urológie „*Radšej budem mať inkontinenciu moču a budem žiť, ako byť mŕtvy*“. Človek postihnutý ťažkou chorobou reaguje inak ako zdravý a chce vedieť prečo sa choroba nezistila skôr, prečo sme nerobili skríning vyšetrenia?

Prečo? Ťažko sa uspokojí s tým, že skríning by bol príliš drahý a aj tak by zachránil len niekoľko ľudí teda by bol „nerentabilný“. Pacient vám povie, ale ochorenie sa mohlo včas zistiť a úspešne liečiť a mohol som byť zachránený. Presne takto by sa mali pýtať pacienti, ktorí zomierajú na rakovinu prostaty, ktorá bola príliš neskoro diagnostikovaná. Ak sa nebude robiť skríning budú pacienti prichádzať k urológovi často už s neoperovateľnou CaP. Je možné s tým niečo urobiť? Je nutné tento stav zlepšiť a biochemici ponúkajú urológom lepšie prostriedky, ktoré zvyšujú špecificitu na CaP. Hlavným cieľom skríningu musí byť odhalenie rakoviny včas kedy je ešte možnosť operáciou zachrániť pacienta a takisto znížiť počet zbytočných biopsií. Sú to izoenzym p2PSA a výpočet PHI (Prostate Health Index) v krvi. Vhodný test je aj PCA3 (Prostate Carcinom Antigen 3) v moči po masáži prostaty, ktorý je však nákladnejší. Tieto „biochemické markery“ zvyšujú niekoľkonásobne špecificitu pri 95 % senzitivite oproti stanoveniu samotného PSA. Na skríning sa však lepšie hodí p2PSA a PHI, lebo je dostupnejší a lacnejší. Je pravda, že skríning je nákladný a doporučenie niektorých urológov je lacnejší spôsob „watchful waiting turned out to be the cheapest approach“ – možno dodať, keď sa nejedná priamo o nich. Zachránení pacienti, ktorým bol CaP na základe skríningu včas zistený a sú už po operácii a žijú sú však iného názoru.

## METÓDY

Stanovujeme v krvi PSA, free PSA a p2PSA setom firmy Beckman na prístroji Accses 2 a počítame PHI podľa vzorca  $PHI = ([-2]proPSA/fPSA) * \sqrt{tPSA}$ . Na SK

nie je toto vyšetrenie dostatočne známe, preto sme začali robiť pilotnú štúdiu s prof. Brezom a doc. Fillom a robíme tieto vyšetrenia u všetkých pacientov u ktorých bola robená biopsia. Pilotnú štúdiu ukončíme koncom roku 2013.

## VÝSLEDKY

Máme vyšetrených 220 pacientov z toho 11, ktorí mali negatívnu biopsiu a pritom mali CaP a bol odstránený tumor CaP (histologicky overený). Pacienti CaP mali PHI patologicky zvýšené.

## ZÁVER

Nízka diagnostická špecificita a nízka pozitívna prediktívna hodnota iba približne 25 % je nedobrá pre

skríning ale nesmie sa zanedbať dramatické zníženie metastatického ochorenia a zníženie úmrtnosti približne o 20 %. Iné problémy, ako je napríklad zníženie diagnostickej citlivosti a „overdetection“ s 4 ug/l cutoff PSA a následné „overtreatment“ podporujú potrebu nových biomarkerov, ktoré tieto prekážky dokážu prekonať. Hoci väčšina pacientov s CaP nezomrie priamo z choroby, ale cieľom by malo byť odhaliť agresívne a život ohrozujúce CaP. Preto vedci hľadajú viac CaP-špecifických markerov, ktoré môžu prednostne detekovať agresívne formy CaP. Takými to sú už spomínané a používané p2PSA a výpočet PHI a močový PCA3. Máme možnosť robiť veci lepšie, ale to bude vyžadovať zmenu v myslení mnohých lekárov a mnohých pacientov. Samozrejme dôležitý bude aj postoj zdravotných poisťovní. Podotýkam, že rozhodujúcim dôvodom, prečo byť etický a spoločensky zodpovedný nie je to, že etika znamená dobrý biznis. Eticky sa máme správať preto, že sa to od nás vyžaduje ako od ľudských bytostí.

# RECENT PROGRESS IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATHOGENESIS AND ITS PERSPECTIVES IN THE DIAGNOSIS AND THERAPY OF THE DISEASE

Rácz, O.<sup>1,2</sup>, Fodor, B.<sup>2</sup>, Maceková, D.<sup>1</sup>, Vaník, V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Pathological Physiology, Šafárik University, Medical Faculty, Košice  
Slovakia

<sup>2</sup> Institute of Nanobiotechnology and Regenerative Medicine, Miskolc University  
Faculty of healthcare, Miskolc, Hungary

<sup>3</sup>General Svoboda Hospital, Svidník, Slovakia

e-mail: olliracz@gmail.com

## ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) affecting more than 200 000 people in this country and 55 million in Europe is a progressive disease. Age and obesity are the basic risk factors of T2DM but from pathophysiological point of view this information is misleading because not all old and overweight people develop diabetes.

In the past years several genetic factors were discovered contributing remarkably to the pathogenesis of T2DM and at the same time the molecular mechanism behind insulin resistance and diminished insulin secretion were partially unravelled, too.

It is clear that T2DM is associated with continuous decrease of pancreatic beta cell population. Several factors may contribute to loss of beta cell mass as hyperglycaemia itself, hyperlipidemia, inflammatory cytokines and oxidative stress. Paradoxically also oral antidiabetic drugs (sulphonylurea derivatives) can accelerate this process. Although the apoptotic effect of the above-mentioned factors is well documented the exact mechanism of the apoptosis and the blocked regeneration of beta cells is not known.

Recently the role of endoplasmic reticulum (ER) stress and the unfolded protein response (UPR) are among the hottest research topics in many diseases including T2DM and also in the complications of diabetes mellitus. Insulin is synthesized as proinsulin and in is converted to one-chain proinsulin molecule in the ER of beta cells. The crucial step in proinsulin maturation is the proper folding and the formation of disulphide bonds within the molecule. In physiological conditions beta cell ER load is fluctuating according to the prandial state. In insulin resistance preceding T2DM and in the early stage of the disease long-term high load of the ER reticulum can probably overwhelm its folding capacity and can finally lead to ER stress condition activating UPR via three different signal pathways.

The role of UPR is to help the protein repair by chaperones, elevate the folding capacity of ER, slow down the rate of protein synthesis and only in case when the situation is out of control initiate apoptosis.

Alleviating ER stress and UPR in early phase of T2DM pathogenesis is a perspective way to prevent its full development or at least to postpone its manifestation by many years.

# ŠTATISTIKA V LABORATÓRNEJ MEDICÍNE, ALEBO „KEDY JE 4,5 ROVNÉ 5,4“?

Matula, P.

Úsek klinickej fyziky a bioštatistiky, VOÚ a.s., Košice, SR

E-mail: matula@vou.sk

## ÚVOD

Metódy frekvenčnej štatistiky patria medzi bežné inštrumentárium používané laboratórnymi diagnostikmi. Už menej časté je využívanie metód induktívnej štatistiky potrebných pre analýzu výsledkov, ich interpretácie a prezentácie v prednáškovej či publikačnej činnosti. Správne pochopenie princípov testovania hypotéz štatistickej významnosti rozdielov medzi vzorkami a ich interpretovanie zostáva často nielen v laboratornej medicíne „terra incognita“.

**Cieľ 1:** Opísať a demonštrovať na konkrétnych príkladoch stanovenie kľúčových pojmov induktívnej štatistiky ako sú rôzne typy parametrického rozloženia dát, stupeň voľnosti, p-hodnota, 95 % CI, testovanie nulovej hypotézy, hladina štatistickej významnosti „alfa“, t-test párový versus nepárový, typy testovacích štatistík., chyby I. a II. druhu a iné.

**Cieľ 2:** Demonštrovať použitie grafickej prezentácie kriviek ROC (Receiver Operating Characteristic) predstavujúcich priebeh funkcie Senzitivita  $P = F(1 - \text{špecificita})$ .

## METÓDY A VÝSLEDKY

Merané data sú zapisované do tabuľky Excel a enumerované do požadovaného formátu pre príslušný SW. Súčasťou tabuľkového editora Excel sú niektoré funkcie umožňujúce vypočítať p-hodnoty testov, korelačné koefície a iné štatistické parametre. V príspevku bude

daná odpoveď na provokatívnu otázku: Kedy sa môže v štatistike „4,5 rovnať 5,4?“. Pre účely náročnejšej štatistiky sú komerčne dostupné programové štatistické balíky alebo programy s limitovaným použitím na internete. Prezentované výsledky v príspevku budú z výstupov programu EXCEL a IBM SPSS ver. 18.

## ZÁVER

Využívanie potenciálu relatívnej mladej disciplíny – bioštatistiky sa stáva neoddeliteľnou súčasťou vývoja medicínskych odborov, podmienkou odborného rastu pracoviska, akceptácie výsledkov prednáškovej a publikačnej činnosti v naplnení programu EBM. Jej hlbšie poznanie vyžaduje nadstavbovú prípravu odborníkov formou postgraduálnych kurzov a seminárov. Tento príspevok sa možno stane ich impulzom.

## LITERATÚRA

- [1] **Mould, R.:** *Introductory Medical Statistics*. Bristol, IOP Publishing Ltd 1998, Philadelphia, USA (III. vydanie dostupné na download).
- [2] **Motulsky, H.:** *Intuitive Biostatistics — Non mathematical guide in statistic thinking*. Oxford University Press 1995 — (Niektoré kapitoly dostupné na download).

# NEPOZNANÝ FEOCHROMOCYTÓM U PACIENTA: KTO POCHYBIL ?

**Blažíček, P.**

Laboratórium špeciálnych metód  
Alpha Medical Bratislava

E-mail: blazicek.pavel@alphamedical.sk

## ÚVOD

Moderné technológie v laboratóriu, nové systémy riadenia akosti (interná kontrola, externá kontrola kvality) umožňujú analyzovať vzorky krvi s veľkou presnosťou. Veľmi veľká chyba však vzniká pri tzv. preanalytickej aj v postanalytickej fáze, ale aj pri ordinovaní vyšetrení lekárom. Vďaka aplikácii medicíny založenej na dôkazoch, vďaka vytvoreniu manažmentu predchádzania chybám, hlavne edukácii zdravotníckeho personálu, ale i pacientov, zainteresovanosti pracovníkov a hlavne dôslednému využívaniu spätnej väzby, by mohlo dôjsť k zlepšeniu situácie aj v dosiaľ problémových oblastiach pred a post analytickej fázy na úroveň, ktorú sme už dosiahli pri analýzach. O týchto chybách treba vedieť do akej miery môžu ovplyvniť výsledky meraní a hlavne ako im predchádzať a ako ich odstrániť. Nestačí mať super analyzátor keď urobíme chybu pri spracovaní vzorky, alebo sa nevyznáme v interpretácii a intenzívne nespolupracujeme s klinickými pracoviskami a nevieme s klinikmi komunikovať. Dôležité je, aby klinický biochemik bol dokonale teoreticky pripravený na komunikáciu. Vďaka super nadštandardnej spolupráce s internistami či už to bol Langoš, Vencel alebo Marko, často sme spoločne diskutovali a vďaka takejto spolupráce sme diagnostikovali feochromocytóm u pacientov ktorí boli hospitalizovaní na významných

klinikách (aj zahraničných) a až u nás sme pomocou stanovenia katecholamínov (v moči) a nefrínov (v plazme) diagnózu upresnili a prof. Breza tumor odstránil. Nikdy som nemal pocit, že sme len servis, ale vždy nás brali ako rovnocenných partnerov a to bol dôvod prospešnej spolupráce a naše výsledky našej spolupráce sme samozrejme publikovali.

## MATERIÁL A METÓDY

Na diagnostiku tumorov neurálnej platničky používame imunochemické stanovenie katecholamínov v moči (zvýšené hodnoty overujeme pomocou Shimadzu HPLC-ESA coulochem3). Špecifickejšie je stanovenie nefrínov v plazme (zvýšené hodnoty overujeme pomocou Shimadzu HPLC-ESA coulochem3).

## ZÁVER

Podľa našich skúseností pri zriedkavých ochoreniach nestačí spoliehať sa len na údaje z prístrojov, aj keď špičkových, ale veľmi dôležitá je komunikácia klinického pracovníka s kvalitným oddelením laboratórnej diagnostiky. Ak táto spolupráca chýba doplatí na to nakoniec pacient.

# ON IMPORTANCE OF ACCURATE DEFINITION OF CUTT-OFF LIMITS FOR TUMOR MARKERS DŮLEŽITOST PŘESNÉHO STANOVENÍ CUTT-OFF LIMITŮ U TUMOROVÝCH MERKERŮ

Pecen, L.<sup>1</sup>, Kalábová, R.  
Nekulová, M.<sup>2</sup>, Trbušek, J.

<sup>1</sup>ÚIVT Praha

<sup>2</sup>Masarykův onkologický ústav, Brno

e-mail: nekulova@mou.cz

## ABSTRACT

Klíčovou otázkou pro určení referenčních mezí je výběr referenční populace. Ve většině případů je touto populací zdravá populace. Obvykle se požaduje, aby 95 % výsledků bylo uvnitř referenčních mezí, ale toto procento může být i vyšší či nižší jak dle prevalence diagnóz/stavů spojených s patologickými výsledky, tak jiných kritérií. Hodnoty mimo referenční meze ještě nutně neznamenají přítomnost onemocnění, protože zvolené procento zdravé populace je mimo referenční meze. Metody určení referenčních mezí závisí na tom, je-li rozložení výsledků normální/gaussovské či nikoliv. Referenční meze často významně závisí na užití analytické metodě, pohlaví a věku, na což je třeba dbát

při přejímání výsledků z literatury. Pro onkologické účely u nádorových markerů záleží také na účelu studie – pro screening (při vysoké specificitě), pro primární diagnostiku nebo pro sekundární diagnostiku či zhodnocení efektu terapie. Účelem ve studii může být například záchyt recidivy a určená referenční mez touto studií se užívá i na jiné účely. Na souboru pacientek s karcinomem čípku budeme demonstrovat získanou validitu nádorových markerů SCC a Cyfra 21-1 vzhledem k diagnostice i efektu terapie tohoto onemocnění. Současně jsme při požadované specificitě a zhodnocené senzitivitě vyšetření mohli posoudit doporučené referenční hodnoty obou markerů na základě sestavení ROC křivek.



# POSSIBILITIES OF MS EXCEL SPREADSHEETS FOR QUALITY MANAGEMENT OF LABORATORY TESTS

## MOŽNOSTI VYUŽITIA MATEMATICKÝCH MODULOV MS EXCELU PRIRIADENÍ KVALITY VYŠETRENÍ

Vyskočil, L.

Slovenský metrologický ústav

e-mail: vyskocil@smu.gov.sk

### ABSTRACT

Matematická štatistika, ak je správne použitá, predstavuje neoceniteľný aparát pri spracovaní veľkého množstva výsledkov. Môže objektívne rozhodovať o významnosti, alebo nevýznamnosti rôznych javov (*testovanie štatistických hypotéz*), môže nám dať informáciu o korelácii medzi dvoma rôznymi javmi, pomáha pri meraní rôznych markerov, kde umožňuje stanoviť matematický vzťah medzi obsahom látky a jej analytickým signálom.

Pre uvedenie metód matematickej štatistiky do praxe predstavuje MS Excel mohutný aparát, ktorého výhodou je, že je prakticky prístupný všetkým. Obsahuje bohatú škálu štatistických funkcií, ktoré pri správnom použití predstavujú veľmi dobrého pomocníka pri hodnotení meraní.

- [1] **VYSKOČIL, L.:** Neistoty meraní v praxi. *Metrológia v štruktúre hospodárskej organizácie (Akreditovaný kurz MŠ SR)*, Bratislava VS SMU, 7. a 8. novembra 2007.
- [2] **VYSKOČIL, L.:** Meranie a vyhodnotenie neistoty merania v pH. In: *Kvalita merania 2007*. Zborník prednášok, jún 2007, Bratislava. Bratislava: CHEMMEA s. r. o, 2007, s. 96–102.
- [3] **VYSKOČIL, L.:** Neistoty pri chemických meraniach a ich vyhodnotenie. In: *Aplikace počítačové techniky ve zkušebních chemických a mikrobiologických laboratořích*, 6. jún 2000, Brno. Brno: CHEMMEA s. r. o., 2000, s. 29–33.

# STANOVENIE VYBRANÝCH PARAMETROV LIPIDOVÉHO A SACHARIDOVÉHO METABOLIZMU METÓDOU POCT

Dombrovský, P.<sup>1</sup>, Pivovarníková, H.<sup>2</sup>  
Vargová, M.<sup>3</sup>, Rácz, O.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Ústav patologickej fyziológie, Univerzita P.J. Šafárika  
Lekárska fakulta, Košice

<sup>2</sup>Synlab Slovakia, s. r. o., Prešov,

<sup>3</sup>Interdia s.r.o., Prešov

<sup>4</sup>Institute of Nanobiotechnology and Regenerative Medicine  
Miskolc University, Faculty of healthcare, Miskolc, Hungary

e-mail: peter.dombrovsky@upjs.sk

## SÚHRN

V rámci projektu zameraného na validáciu danej POCT metódy sme stanovili u 55 mladých zdravých dobrovoľníkov vo veku 20–24 rokov a u 64 chorých s diabetes mellitus vo veku 38–87 rokov hodnoty HbA<sub>1c</sub> na POCT analyzátore Afinion S 100 a na HPLC analyzátore Adams 8160. Metódou POCT a na analyzátore Integra sme stanovili koncentrácie triacylglycerolov (TAG) celkového cholesterolu (CHOL) a HDL-cholesterolu (HDL).

V skupine dobrovoľníkov bola priemerná hodnota HbA<sub>1c</sub> stanovená POCT 34,2 ± 3,2 mmol/mol IFCC (5,3 ± 0,3 % DCCT) s rozsahom 29 – 53 mmol/mol (4,8 – 7 %). HPLC metódou bol priemer 32,3 ± 3,9 mmol/mol (5,168 ± 0,36 % DCCT). V súbore diabetikov bola priemerná hodnota HbA<sub>1c</sub> stanovená POCT 52,1 ± 18,1 mmol/mol IFCC (6,9 ± 1,7 % DCCT) a HPLC metódou 59,4 ± 22 mmol/mol IFCC (7,6 ± 2,0 % DCCT). Pri určovaní rozdielov medzi dvoma metódami sme pri HbA<sub>1c</sub> u dobrovoľníkov nezaznamenali žiadne rozdiel prekračujúci trojnásobok priemeru rozdielov. U diabetikov bol jeden takýto údaj. Pri stanovení HbA<sub>1c</sub> metódou HPLC sme našli mierne vyššie hodnoty HbA<sub>1c</sub> pri vyšších hodnotách glykovaného hemoglobínu ako metódou POCT.

U dobrovoľníkov bola hodnota CHOL stanovená POCT 4,29 ± 0,66 mmol/l; rozsah 3,0 – 6,1 mmol/l. Priemerná hodnota TAG bola 1,12 ± 0,52 mmol/l, (rozsah 0,51 – 3,0 mmol/l). HDL vykazoval priemernú hodnotu 1,67 ± 0,33 mmol/l, (rozsah 0,89 – 2,59 mmol/l). Na analyzátore Integra boli stanovené priemerné hodnoty CHOL 4,22 ± 0,48 mmol/l (rozsah 3,12 – 5,38 mmol/l), TAG 0,90 ± 0,38 mmol/l (rozsah 0,29 – 1,96 mmol/l) a HDL 1,61 ± 0,31 mmol/l (rozsah 0,9 – 2,33 mmol/l).

U diabetikov dosahovala hladina CHOL stanovená POCT 5,07 ± 1,24 mmol/l, hladina TAG 2,03 ± 0,89 mmol/l a hodnota HDL 1,37 ± 0,39 mmol/l. Priemerné hodnoty stanovené analyzátorom Integra boli: CHOL 4,89 ± 1,15 mmol/l, TAG 1,79 ± 0,78 a HDL 1,31 ± 0,38 mmol/l.

V prípade parametrov lipidového metabolizmu sme u dobrovoľníkov vykázali pri CHOL 19 rozdielov prevyšujúcich trojnásobok priemeru rozdielov (35,2 %), pri TAG 6 (11,1 %) a pri HDL 15 (27,8 %) rozdielov. U diabetikov bolo pri CHOL 12 (20,7 %), pri TAG 2 (3,4 %) a pri HDL 11 (19 %) takýchto rozdielov.

Záverom konštatujeme, že daná metóda POCT je vhodná pre stanovenie ukazovateľov lipidového a sacharidového metabolizmu v skriningových štúdiách u ľudí bez manifestných prejavov metabolických a kardiovaskulárnych ochorení, ako aj v bežnej ambulancijnej praxi lekárov prvého kontaktu a špecialistov.

# KVALITA VÝSLEDKŮ POCT A JEJÍ SROVNÁNÍ S LABORATOŘEMI

Kratochvíla, J., Budina, M.

SEKK s.r.o., Pardubice, Česká republika

E-mail: kratochvila@sekk.cz

## ABSTRAKT

Poskytovatel EHK SEKK je akreditován dle současné normy ISO 17043 a nabízí EHK programy zejména v České a Slovenské republice již více než 20 let. V posledních letech masivně vzrostl počet POCT měřících systémů zejména v ordinacích praktických lékařů, ambulancích, na ARO jednotkách a jinde často mimo působnost a kontrolu dané spádové klinické laboratoře. SEKK v současné době provádí EHK programy POCT pro C-reaktivní protein, PT-INR, glukometry a POCT systémy pro stanovení glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub>. Vždy jsou použity dva komerční kontrolní vzorky pro jeden cyklus a statistické vyhodnocení je provedeno určením robustního průměru jako vztažné hodnoty (AV) a dalších statistik dle ISO 13528. Pro každou zkoušku je definován maximální přijatelný rozdíl  $D_{max}$  v %. Výsledky měření účastníka jsou považovány úspěšné pouze v případě, že výsledky měření obou vzorků jsou v rozmezí  $AV \pm D_{max}$ .

EHK program pro stanovení CRP-POCT byl rutinně zaveden v roce 2004 (300 účastníků) a v současnosti je prováděno ročně 6 cyklů za účasti více než 700 účastníků. Převažuje POCT systém QuikRead (101 a go), dále se zúčastňují cyklů i POCT systémy Nycocard, i-Chroma a SMART. Koncentrace CRP v kontrolních

vzorcích se pohybuje mezi 10 až 95 mg/l CRP. Všechny výsledky jsou vyhodnoceny společně (nedochází k dělení na stejnorodé skupiny) s přijatelným rozdílem  $D_{max} = 24\%$ . Celková úspěšnost účastníků se pohybuje v dlouhodobém časovém intervalu v rozmezí 80 až 90%. Celková reprodukovatelnost vyjádřena CV se pohybuje v mezích 10 až 13%. V případě POCT systémů reprodukovatelnost výrazně závisí na koncentraci CRP a s nižší koncentrací CRP se výrazně zhoršuje. Tento jev se vůbec neobjevuje v případě měření klinických laboratoří a jejich průměrná reprodukovatelnost je  $CV = 6\%$  (více než 30 různých analytických měřících systémů v obou zemích (ČR a SR)).

EHK program pro stanovení glukózy glukometry byl zahájen v roce 1996. Počet účastníků v cyklu je několik set glukometrů různých světových výrobců (Abbott, Bayer, LifeScan, Nova, Roche aj.). Koncentrace glukózy v kontrolních vzorcích se pohybuje v rozmezí 3 až 13 mmol/l a referenční hodnoty jsou určeny v referenční laboratoři RfB DGKL Bonn, Německo (prof. G. Schumann), pracující v rámci BIPM/JCTLM. Výsledky měření jsou vyhodnoceny v peer group skupinách dle typu glukometru pro  $D_{max} = 10\%$ . Celková úspěšnost účastníků se pohybuje dle typu glukometru mezi 60 až 90%. Celková reprodukovatelnost pak opět dle typu glukometru kolísá v rozmezí  $CV = 7\%$  až 15%.

EHK program PT-INR je realizován od roku 2006 (35 účastníků) vždy 4 cykly za rok. V současnosti se účastní tohoto program více než 330 účastníků. Převažují POCT systémy CoaguChek a INRatio. Výsledky měření jsou hodnoceny ve stejnorodých skupinách dle typu POCT pro  $D_{\max} = 20\%$ . Úspěšnost se pohybuje nad 90 % a celková reprodukovatelnost vyjádřená CV je v rozmezí 5 až 10%.

EHK program pro stanovení glykovaného hemoglobinu  $HbA_{1c}$  je realizován od roku 2011 (první cyklus absolvovalo 11 účastníků; 6 různých POCT systémů). Jsou prováděny 3 cykly za rok. V současnosti se na programu podílí asi 60 účastníků při  $D_{\max} = 20\%$  (stejně  $D_{\max}$  jako pro klinické laboratoře). Hodnocení se provádí ve stejnorodých skupinách a celková úspěšnost je v rozmezí

70 až 80 %. CV se pohybuje od 5 do 40 % a postupně se s časem zlepšuje (v roce 2013 - první cyklus  $CV_{\text{GHP1-13}} = 6,5\%$ ) a blíží se CV cyklů klinických laboratoří. Naopak bias systémů POCT vůči referenčním hodnotám (určeno RL Zwolle, Holandsko, dr.C.Weykamp), ale i výsledkům měření klinických laboratoří SR a ČR je i v současnosti nevhodně vysoký a situace se nelepší (pozitivní bias od 5 do 20 %). Jsou používány POCT systémy QuoTest, In2It, DCA Vantage, Nycocard, Infopia Clover, i-Chroma, SMART. V přednášce je podrobně diskutována problematika standardizace, metrologické návaznosti a reference při porovnání těchto cyklů EHK pro rutinní klinické laboratoře a POCT systémy a při použití stejných kontrolních vzorků.

# LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA ZOČI-VOČI NOVEJ PARADIGME: PREMENA KONTROLY KVALITY NA MANAŽMENT RIZIKA PACIENTA

Trechová, M., Farkaš, M.

Slovenská komora iných zdravotníckych pracovníkov (SKIZP)

## ABSTRAKT

Kvalitu analytického procesu môžeme relatívne dobre zabezpečiť, pretože na jej hodnotenie používame väčšinou merateľné veličiny. Problémom ostáva zabezpečenie kvality preanalytickej fázy. Keďže preanalytická fáza je zdrojom väčšiny chýb laboratórnych vyšetrení ja potrebné, aby sa jej venovala oveľa väčšia pozornosť ako doteraz.

V celosvetovom meradle sa kladie dôraz na obmedzenie „chybovosti“. Len vysoko kvalitné informácie sú prínosom, ostatné sú nebezpečím! Následky chýb *identifikácie pacienta* alebo zlej identifikácie vzorky biologického materiálu určeného na analýzu predstavujú až 11 % chýb v terapii. *Doprava biologického materiálu* je ďalším dôležitým segmentom chybovosti. Vyžaduje si citlivé zaobchádzanie so zvereným biologickým materiálom, ktorý si zachová dobre biologické vlastnosti len vtedy, keď budú dodržané podmienky transportu:

- ochrana proti teplotným vplyvom so zaфіxovanou polohou odberovej nádoby,
- ochrana pred dlhým premiestňovaním sa spravidla nie viac ako dve hodiny od odberu,
- ochrana pred otrasmi, ktoré spôsobujú neustále miešanie buniek a ostatných analytov vo vzorkách (riešením je – regionalizácia pevnej siete medicínskych laboratórií).

Dôležité tézy z tzv. „Crew resources management“ vychádzajú z poznania, že hlavným zdrojom chýb sú ľudia. Redukcia chýb je otázkou riadenia ľudských zdrojov, rezerv, zodpovednosti. Ako jedna z najdôležitejších sa javí *jasne rozdelená zodpovednosť* medzi celý

personál. Pri snahe o elimináciu chýb je nevyhnutné tiež neprečoňovať techniku a rešpektovať smernice.

Nové paradigmi kontroly kvality sa sústreďujú na:

- premenu kontroly kvality na **manažment rizika pacienta**,
- kvalita je chápaná len ako jeden z faktorov, ktoré znižujú riziko.

Zníženie rizika je možné docieľiť:

- edukáciou personálu,
- mať presne určenú zodpovednosť,
- dodržiavaním pravidiel, hlásením a dokumentovaním nezhôd,
- etickým prístupom a kultúrou pracoviska
- akreditáciou, resp. odbornými auditmi – nezávislým odborným posudzovateľom,
- vypracovaním preanalytických a postanalytických štandardov (identifikácia, odber, transport, spracovanie, skladovanie, atď.),
- sprísnenie podmienok transportu a ich dodržiavanie – regionalizácia pevnej siete medicínskych laboratórií znižuje riziko vplyvu nevhodných podmienok transportu biologického materiálu,
- programami EHK nielen pre analytickú, ale i pre pre- a postanalytickú fázu.

## LITERATÚRA

- [1] [www.jointcommission.org/PatientSafety](http://www.jointcommission.org/PatientSafety)  
[2] [www.specimencare.com](http://www.specimencare.com)

# JAK SE ZLEPŠILA ANALYTICKÁ KVALITA V ČR A SR ZA POSLEDNÍCH 10 LET Z POHLEDU VÝSLEDKŮ EXTERNÍHO HODNOCENÍ KVALITY

Budina, M., Kratochvíla, J.

SEKK s.r.o., Pardubice, Česká republika

e-mail: budina@sekk.cz

## ABSTRAKT

Vzhledem k tomu, že společnost SEKK je poskytovatelem EHK již více než 20 let, je možné pro řadu zkoušek sledovat vývoj vlastností výsledků účastníků, a to zejména preciznosti a v případech, kde máme k dispozici referenční hodnoty, také pravdivosti (bias).

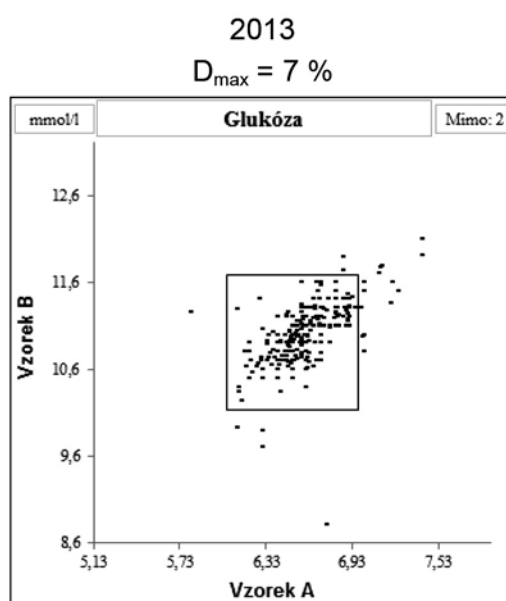
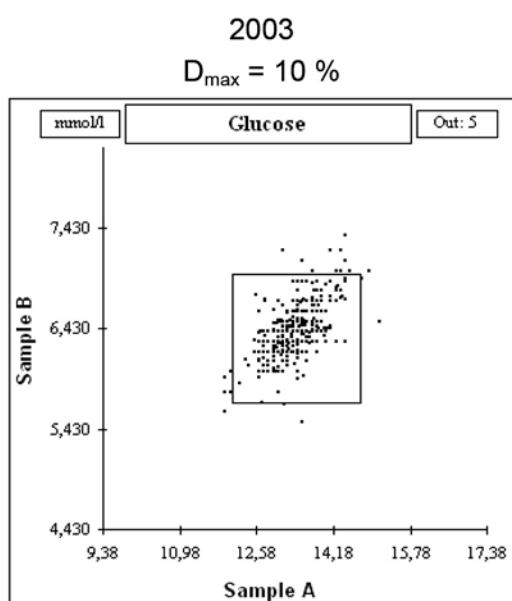
Kromě pohledu na kompletní soubor výsledků je samozřejmě možné samostatné srovnání výsledků, které jsme získali z ČR a ze SR, protože laboratoře SR jsou v řadě programů EHK významnými a četnými účastníky. Pracoviště ze Slovenska se účastní všech programů EHK, které SEKK nabízí, s jedinou výjimkou, kterou jsou programy určené pro uživatele systémů POCT

(zejména praktické lékaře) – zde nemáme ze Slovenska žádné účastníky.

Není samozřejmě možné výsledky získané za 10 let souhrnně „oznámkovat“ jedním slovem. Je nezbytné hodnotit jednotlivé programy EHK a v řadě případů je vhodné a zajímavé se podívat dokonce na konkrétní zkoušky.

Obecně můžeme výsledky jednotlivých zkoušek z dlouhodobého pohledu rozdělit do těchto skupin:

- Dlouhodobě dobré výsledky,
- Výsledky, které se v čase zlepšují,
- Dlouhodobě špatné výsledky,
- Výsledky, které se v čase zhoršují,
- „Houpačka“ – dlouhodobě kolísající úroveň výsledků.



Vývoj v čase budeme sledovat tak, že srovnáme soubory výsledků některých zkoušek z roku 2003 s rokem 2013 a v některých případech se pro zajímavost podíváme i na výsledky z roku 1993 (tedy 20 let zpět).

Jako příklad výsledků, které byly vždy velmi dobré, a přesto se v čase dále zlepšují, můžeme uvést stanovení glukózy v krevním séru (program AKS).

Přesto, že oba Youdenovy grafy vypadají „podobně“, je nutné si uvědomit, že čtvereček v grafu vlevo představuje oblast přijatelných výsledků, které leží

$\pm 10\%$  od vztažné hodnoty, kterou je v tomto případě certifikovaná referenční hodnota. V grafu vpravo je to  $\pm 7\%$ . Za 10 let tedy došlo ke zpřísnění kritérií pro posuzování výsledků účastníků o 30 %, přičemž celková úspěšnost se prakticky nezměnila.

V rámci sdělení budou pro každou z výše uvedených skupin výsledků demonstrovány praktické ukázky, a to jak z pohledu vývoje v čase, tak srovnání výsledků českých a slovenských účastníků.

# POHLAD NA ATEROSKLERÓZU SA ZÁSADNE ZMENIL A PREŠLI SME OD CHOLESTEROLU K ZÁPALOVÝM MARKEROM. ČO NA TO KONTROLA KVALITY?

**Blažíček, P.<sup>1</sup>, Bartko, D.<sup>2</sup>, Buc, M.<sup>3</sup>  
Gombošová, Z.<sup>2</sup>, Danihel, L.<sup>2</sup>, Fabčín, J.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratórium špeciálnych metód, Alpha medical Bratislava

<sup>2</sup>Institute of Medical Sci, Neurosci and Military Health, Dept. of Radiology  
MRI Center, Central Military University Hospital, Ružomberok

<sup>3</sup>Institute of Immunology, Comenius University Bratislava

Supp. by Intern/gov.grants ITMS26220220099, ITMS2622022153, APVV0586-06, LPP0186-06

E-mail: blazicek.pavel@alphamedical.sk

## ÚVOD

Súčasný pohľad na aterosklerózu (AS) sa posunul od lokálneho ochorenia so symptómami spôsobenými závažnou stenózou k systémovému ochoreniu charakterizovanému zápalom plaku s potenciálom k prasknutiu a k trombóze, ktorý premieňa substenotickú aterosklerotickú léziu na plne okluzívnu léziu. Od r. 1950 sa za príčinu aterosklerózy obviňoval hlavne cholesterol. Farma firmy začali produkovať lieky na jeho zníženie a diagnostické firmy začali zdokonaľovať metódy na jeho presné stanovenie. Prešli sme od metódy Lieberman – Bouchard k metódam enzymatickým, ktoré sa takisto museli zlepšovať (pridala sa askorbát oxidáza na odstránenie vplyvu vitamínu C na Tindierovu reakciu) a mali sme pocit, že všetko je v najlepšom poriadku. Intra assay aj inter assay sú uspokojivé a výsledky rôznych EHK sú takisto dobré. Napriek tomuto, že lipidové parametre vieme rýchlo a presne stanoviť, viacej ako 50 % úmrtí je spôsobených problémami s kardiovaskulárnym systémom. Prečo, veď vieme riziko kardiovaskulárných ochorení preventívne zistiť, prečo je teda AS zabiják číslo 1? Preto, že cholesterol stále považujeme za úhlavného nepriateľa a používame 40 rokov staré guidelines (cholesterol, HDL, LDL, triacylglyceroly), máme účinné lieky na zníženie hladín cholesterolu v krvi, kde je teda

hlavná príčina tejto neradostnej situácie? Príčina je v tom, že AS nespôsobuje cholesterol, ale dôležité je zistenie, že AS zhoršujú rôzne zápalové markery (CRP, SAA, IL-6), rôzne markery endotelovej dysfunkcie (endotelín, selektín), poznáme funkciu a vieme stanoviť ADMA, SGMA, MPO, oxLDL, aterogénne subfrakcie LDL, Lp(a), vieme stanoviť sd-LDL a takisto dôležitý marker Lp-PLA2 ktorý poukazuje na zápal v arteriálnom plaku.

## MATERIÁL A METÓDY

Pacienti boli rozdelení do štyroch skupín:

- Arteriálna hypertenzia (AH, n = 127), (priemerný vek  $60,0 \pm 11$ )
- Ischemická choroba srdca (ICHS, n = 135), (priemerný vek  $70,8 \pm 1,8$ )
- Ischemická mozgová mŕtvica (ICI, n = 202), (priemerný vek  $73,4 \pm 9,9$ )
- Kontroly (C, n = 102), (priemerný vek  $47,5 \pm 18,5$ ), bez histórie veľkých CV RFS

Pacienti boli vyšetrení certifikovanými neurológom, kardiológom, radiológom. Neurologické vyšetrenie sa robilo pomocou kvantitatívneho zhodnotenia neurologického deficitu (NIHSS), postihnutia a handicap



podľa kvantifikovaných BI, a mRS, kardiologické vyšetrenie robil certifikovaný kardiológ (NYHA,) bolo robené CT/MRI, (Stiffness: PWV, Aix, Intima media thickness-IMT (Sphygmocor, AtCor Sydney and plaque morphology – USG- (ESAOTE Italy) long-term ECG and BP monitoring simultaneously Štatistika: Študent-test, Pearson-Spearman-Kandell, Whitney U test. Bolo vyšetrené okrem bežných parametrov hsCRP, homocysteín, lipidové spektrum (Lipoprint), IMT, LP-PLA2 (ELISA DiaDexus a DiaSys), zápalové markery adiponektín, leptín, ADMA, SGMA, oxLDL, E-selektín, MPO (ELISA testami)

## VÝSLEDKY

Preukázala sa významnú asociáciu medzi hladinou Lp-PLA2 a kardiovaskulárnymi príhodami (iCI a CAD). CI, AH a CAD mali významne zvýšenú hladinu Lp-PLA2 v porovnaní s kontrolnou skupinou. Neboli nájdené významné rozdiely medzi skupinami iCI a CHD. Pacienti v skupinách CI, AH a CAD mali

významne zvýšené parametre arteriálnej pružnosti (Alx, PWV) a IMT v porovnaní s kontrolnou skupinou. Tieto výsledky dokazujú, že zmeny v týchto parametroch začínajú včasne v štádiu arteriálnej hypertenzie a ďalej sa rozvíjajú v priebehu jej komplikácií (iCI a CAD). Lp-PLA2 môže v súlade s klinickým hodnotením a ďalším hodnotením rizík pacienta pomáhať v predikcii rizika ischemických IM a CMP spojených s aterosklerózou.

## ZÁVER

Cieľom preventívnej kardiológie malo by byť stanovenie, či ateroskleróza sa vyvinula do štádia kedy už prebieha zápal v plaku a dochádza k jeho destabilizácii. Nutne vyvstáva potreba neinvazívneho, reprodukovateľného a dostupného prostriedku pre identifikáciu jedincov s nestabilným plákom náchylným k prasknutiu. Týmto prostriedkom sa javí Lp-PLA2 a rozhodne neobviňujeme cholesterol. Situácia by sa mohla výrazne zmeniť, lebo môžeme robiť veci lepšie, ale musíme skutočne zmeniť myslenie mnohých lekárov.

**IN EXTENZO  
ČLÁNKY**

# MOŽNOSTI FLUORESCENČNEJ SPEKTROSKOPIE V KLINICKO-BIOCHEMICKEJ DIAGNOSTIKE ČASŤ I – TEORETICKÉ A METODICKÉ VÝCHODISKÁ

**Marcela Valko-Rokytovská, Beáta Hubková, Marek Stupák  
Jana Mašlanková, Mária Mareková**

Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF a LABMED  
Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach  
Lekárska fakulta, Tr. SNP 1, 040 11 Košice

Kontakt: maria.marekova@upjs.sk

## ABSTRAKT

Fluorescenčná spektroskopia patrí medzi neinvazívne metódy interakcie svetla s hmotou. Väčšina molekúl prítomných v živých systémoch po interakcii so svetelnou emisiou je schopná sekundárne sama produkovať vlastné svetlo. Jeho analýzou dostávame bohaté informácie o štruktúre látok a ich zmenách, dynamike a chemických interakciách kľúčových molekúl v bunkách živých systémov, ktoré sa čoraz častejšie využívajú aj v modernej medicíne uprednostňujúcej neinvazívne metódy.

**Kľúčové slová:** fluorescenčná spektroskopia, excitácia, emisia, rozptyl, zhášanie, fluorescenčné spektra

## ABSTRACT

Fluorescence spectroscopy is one of the non-invasive methods based on the interaction of light with matter. Most of the molecules of the living system are able to produce secondary light after this type of interaction. Analysis of the produced light provides a wealth of information on the structure of substances as well as about of changes, dynamics and chemical interactions

of molecules in the cells of the living systems and is frequently used in modern medicine, increasingly preferring non-invasive methods.

**Key words:** fluorescence spectroscopy, excitation, emission, scattering, quenching, fluorescence spectra

## ÚVOD

Fluorescenčná analýza v ostatných dvadsiatich rokoch patrí medzi univerzálne a spoľahlivé metódy štúdia hmoty a procesov v nej prebiehajúcich. Ide o neinvazívnu metódu interakcie svetla s hmotou. Väčšina molekúl po interakcii so svetlom je schopná sama emitovať svetlo, ktoré je zdrojom informácií o molekulách živých systémov, o ich štruktúre a o štruktúrnych zmenách, ako aj o dynamike prebiehajúcich chemických interakcií.

Meranie prirodzenej fluorescencie (autofluorescencie) a sofistikované spracovanie získaných dát poskytuje nový prístup analýzy biologických systémov, ponúka perspektívny a doteraz naplno nevyužitý potenciál pre detailné štúdium biologických systémov. Nezaťažuje skúmaný systém externými zložkami akými sú fluorescenčné značky, sondy a pod. Rutinná klinická biochémia zatiaľ

naplno využíva iba klasické, komerčné stanovenie látok aplikáciou fluorescenčných imunoanalýz.

## PRINCÍPY FLUORESCENČNEJ ANALÝZY

Fluorescencia je fyzikálny jav, pri ktorom fluoreskujúca látka emituje žiarenie prechodom excitovaných elektrónov späť do základného stavu. Fluorescencia zaniká prakticky okamžite po odstránení zdroja excitácie. Samotný fluorescenčný proces je charakterizovaný excitačným a emisným spektrom (obr. 1). Tieto spektrá sú kvalitatívnou charakteristikou každej fluoreskujúcej látky. Excitačné spektrum je závislosť intenzity fluorescencie (meranej pri konštantnej emisnej vlnovej dĺžke  $\lambda_{em}$ ) od vlnovej dĺžky excitačného žiarenia. Emisné spektrum je závislosť intenzity fluorescencie od vlnovej dĺžky emitovaného žiarenia (pri konštantnej excitačnej vlnovej dĺžke  $\lambda_{ex}$ ). Rozdiel medzi vlnovou dĺžkou excitačného a emisného maxima sa nazýva Stokesov posun (Lakowicz, 2006).

Kvantitatívnou charakteristikou fluoreskujúcej látky je intenzita fluorescencie (F) pri známej hodnote excitačného a emisného maxima. Pre veľmi zriedené roztoky je fluorescencia priamo úmerná koncentrácii fluoreskujúcej látky (Rendell, 1987; Perinchery a kol., 2010).

Mierou intenzity emisie fluorescenčného žiarenia je kvantový výťažok fluorescencie, ktorý je fyzikálnou charakteristikou každej molekuly. Kvantový výťažok je definovaný ako podiel počtu fotónov emitujúcich žiarenie k počtu fotónov, ktoré žiarenie absorbujú (Bright, 1988; Fery-Forgues a Lavabre, 1999).

## ROZPTYL ŽIARENIA

Výsledkom interakcie elektromagnetického žiarenia s molekulou nie je len jeho absorpcia a následná fluorescencia, ale aj rozptyl žiarenia. Po pružnom náraze na molekulu sa kvantum dopadajúceho žiarenia elasticky rozptýli pri súčasnom zachovaní energie, pričom vzniká Reyleighov rozptyl. Rozptýlené svetlo vykazuje rovnakú vlnovú dĺžku ako dopadajúce svetlo. Ak emisná vlnová dĺžka dosiahne dvojnásobok excitačnej vlnovej dĺžky, objaví sa Reyleighov rozptyl 2. poriadku. Neelastická zrážka fotónu s molekulou spôsobí výmenu energie medzi molekulou a fotónom. V prípade Ramanovho rozptylu (obr. 2) má rozptýlené žiarenie nižšiu energiu a dlhšiu vlnovú dĺžku (Siebert a Hildebrandt, 2008).

Polohu zvyčajne málo intenzívneho Ramanovho rozptylu v spektre je možno vypočítať pre každú hodnotu a rozpúšťadlo, čím sa umožní korekcia rozptylu v danom systéme. Rozptylové javy sa totiž snímajú spolu s fluorescenciou od ktorej je nutné ich odlíšiť (Valeur a Berberan-Santos, 2012).

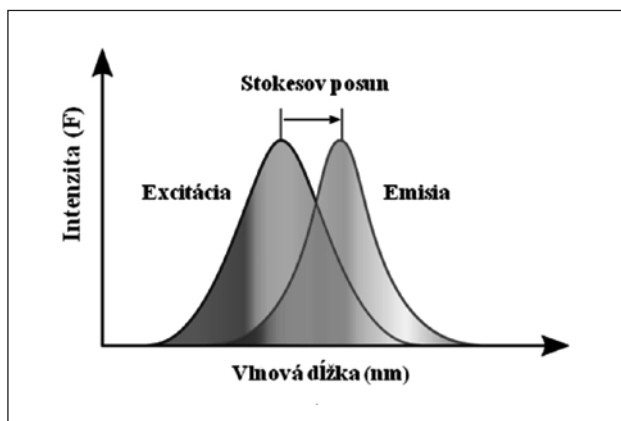
## ZHÁŠANIE FLUORESCENCIE

Pokles intenzity fluorescencie v dôsledku interakcie fluorofóru v excitovanom stave s okolím sa nazýva zhášanie fluorescencie. Jeho dôsledkom je výrazný pokles kvantového výťažku daného fluorofóru, ktorý má negatívny dopad na fluorescenciu skúmanej sústavy (Lakowicz, 1983; Ličmanová a kol., 2010). Zhášanie fluorescencie ovplyvňuje napr. zloženie rozpúšťadla, prítomnosť iónov, pH, teplota a tlak prostredia. Zhášanie rozlišujeme dynamické a statické. Dynamické (zrážkové) zhášanie nastáva, keď je fluorofór v excitovanom stave deaktivovaný pri zrážke s molekulou zhášadla (t.j. nežiarivý návrat do základného stavu). Pri tomto zrážkovom zhášaní nie sú molekuly chemicky modifikované na rozdiel od statického zhášania, kde sa po zrážke fluorofóru a zhášadla vytvára nefluorescenčný komplex (Pan a kol., 2012). Pri tomto procese dochádza k poklesu intenzity fluorescencie a tiež kvantového výťažku. Najbežnejším zhášadlom fluorescencie je molekulový kyslík. V biologických systémoch sa ako zhášače uplatňujú aj amíny, puríny alebo pyrimidíny.

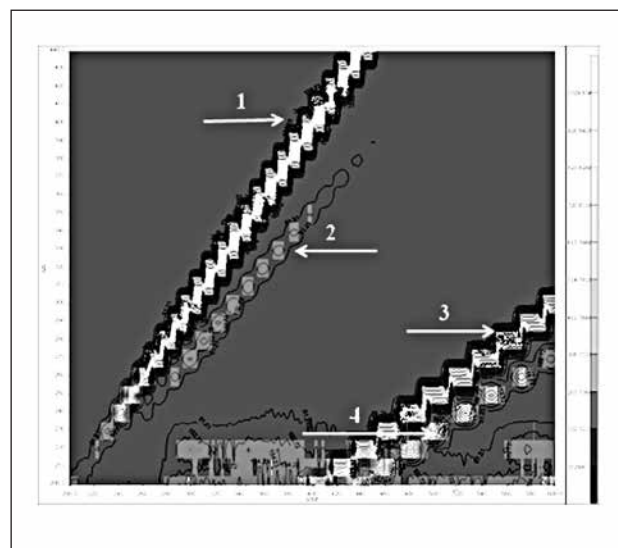
Zhášanie je základom energetického prenosu fluorescenčnej rezonancie (FRET- Förster resonance energy transfer). Pri tomto prenose dochádza k interakcii počas excitovaného stavu, pri ktorej emisia jedného fluorofóru je spojená s excitáciou iného fluorofóru (Peng a kol., 2009; Osterman, 2009). Táto metóda nazývaná „spektroskopické pravítko“ umožňuje stanoviť vzdialenosť molekúl v nanometroch (Steinmeyer a Harms, 2005) a využíva sa napríklad pri meraniach interakcií proteínov (Becker, 2012). Detekcia FRET, na rozdiel od fluorescenčnej polarizácie či „time-resolved“ fluorescencie, nevyžaduje ďalšie špeciálne vybavenie a je realizovaná bežne prístupným fluorescenčným detekčným systémom (Osterman, 2009).

## EFEKT VNÚTORNÉHO FILTRA

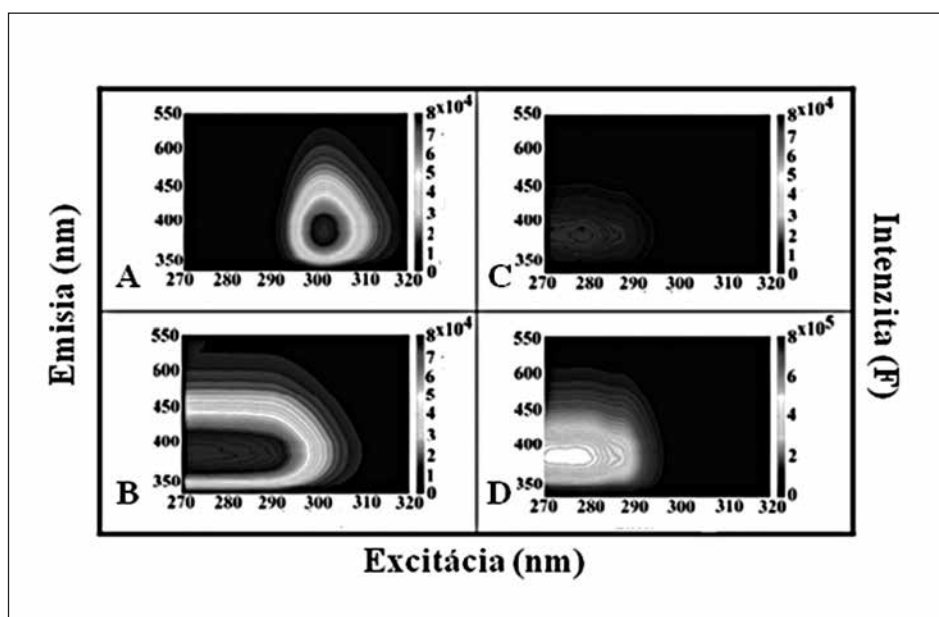
Pôsobením efektu vnútorného filtra „**inner filter effect**“ nie je intenzita fluorescencie priamo úmerná



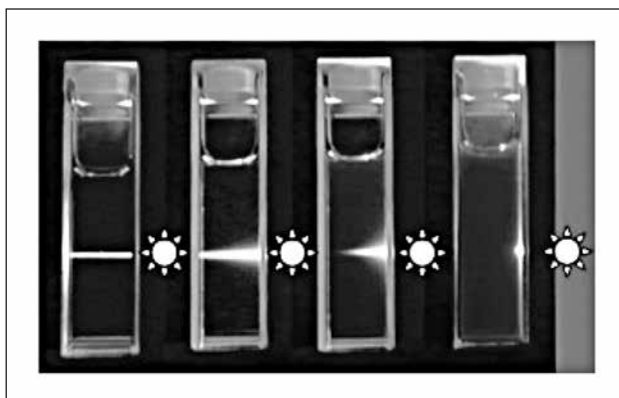
Obr. 1. Excitačné a emisné spektrum, ukážka Stokesovho posunu  
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Stokes-Verschiebung.svg>



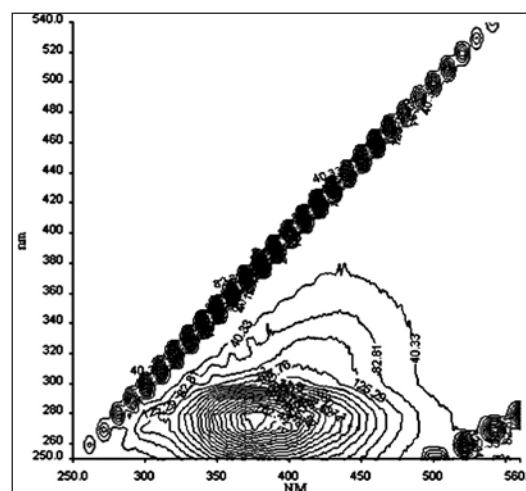
Obr. 2. Excitačno-emisná matica deionizovanej vody so znázornenými rozptylovými javmi, 1 a 3 predstavuje Reyleighov rozptyl 1. a 2. poriadku; 2 a 4 Ramanov rozptyl 1. a 2. poriadku



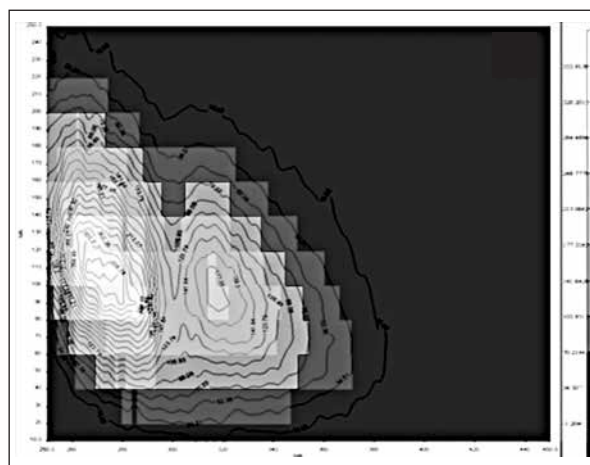
Obr. 3. Excitačno-emisné matrice indoxyl sulfátu  
 A) indoxyl sulfát s koncentráciou 300  $\mu\text{mol}$  B) zriedený 1:1000 v dvojnásobne destilovanej vode  
 C) zriedený 1:10 v dvojnásobne destilovanej vode D) riedenie 1:10 s korekciou pre efekt vnútorného filtra



Obr. 4. Reálna ukážka efektu vnútorného filtra pri vysokej a nízkej (sprava doľava) koncentrácii látky v kvete



Obr. 5. Excitačno-emisná matica lyofilizovaného moču. Dvoj-rozmerná projekcia predstavuje pohľad zhora. Diagonálna lineárna oblasť je výsledkom rozptylových javov



Obr. 6. 2D projekcia synchronnej fluorescenčnej matrice moču zdravého jedinca (riedenie 6-krát) (Ústav lekárskej a klinickej biochémie a Labmed a.s.)

koncentrácii fluorofóru. Ten je spôsobený vysokou absorpciou (primárny efekt vnútorného filtra) alebo reabsorpciou excitačného svetla vzorkou (sekundárny efekt vnútorného filtra), čo spôsobuje jeden z najväčších problémov fluorescenčnej spektroskopie (Larsson a kol., 2006).

Absorpčné spektrum ľudského moču, špeciálne v oblasti 250–350 nm, vykazuje značne vysokú absorbanciu, poukazujúc na efekt vnútorného filtra. Optická hustota vzorky určenej pre fluorescenčné merania by preto mala byť menšia ako 0,05 (Lakowicz, 1983). Pre neriedené moče je potrebné použiť korekčný faktor. Vplyv efektu vnútorného filtra na absorbanciu v rozsahu 300–500 nm je zanedbateľný. Perinchery a kol. (2010) poukázali na

možnosť riešenia problému zhášania použitím riedenia a korekčného faktora (obr. 3).

Pri dostatočnom riedení vzorky je emisia svetla prechádzajúceho vzorkou konštantná v celej dĺžke jeho dráhy (obr. 4). Pri vysokej koncentrácii je emitované svetlo detegované iba na začiatku dráhy prechodu svetla vzorkou v dôsledku tzv. *samozhášania* (Cantor a Schimmel, 1980; Jameson a kol., 2003).

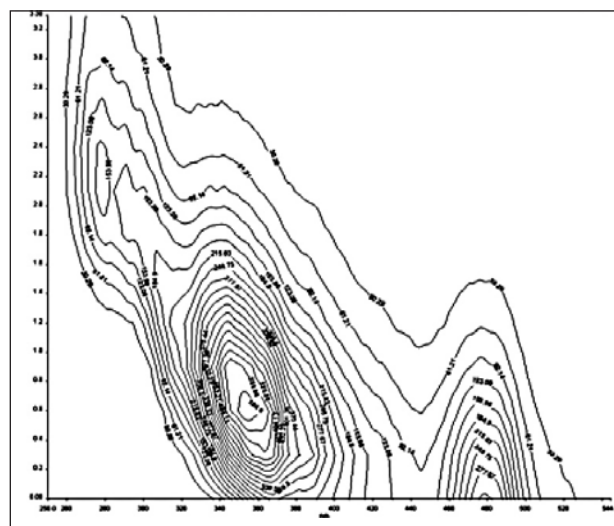
Larsson a kol. (2006) vo svojej štúdií riešili problém efektu vnútorného filtra podobne ako Perinchery a kol. (2010) riedením vzorky, ale aj použitím matematickej korekcie, pričom poukázali na to, že aplikácia riedenia vzorky v niektorých prípadoch nie je možná. Nimi navrhnutá matematická korekcia, založená na intenzite

Ramanovho rozptylu vody znížila chyby merania spôsobené efektom vnútorného filtra až o 50 % v porovnaní s korekciou na základe absorbancie. Navyše, táto korekcia nevyžaduje samostatné meranie absorbancie.

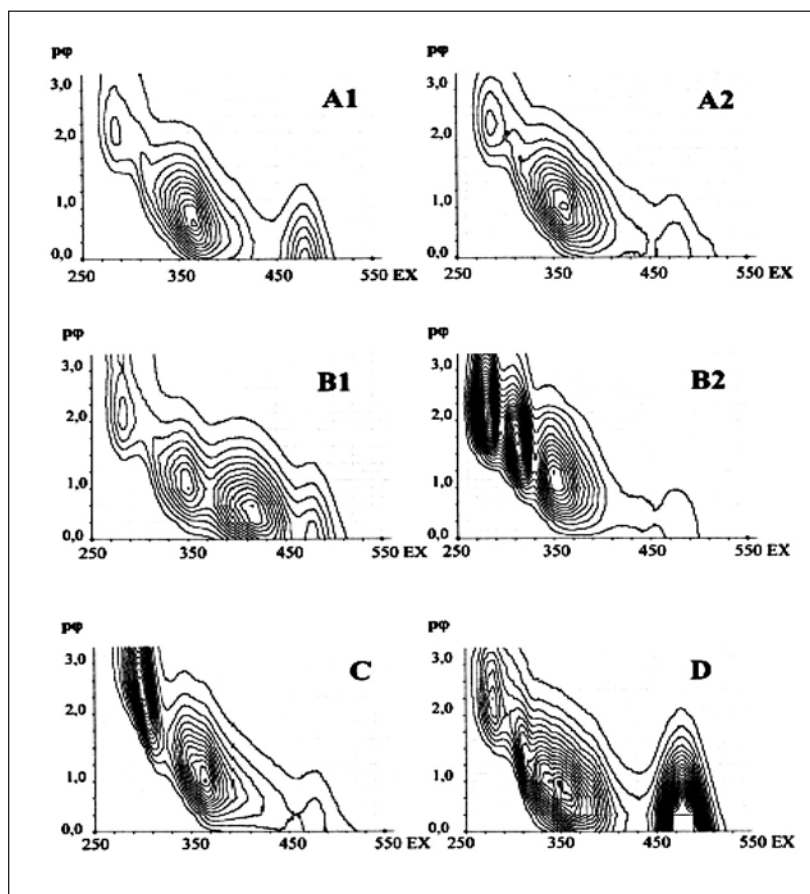
## TYPY GRAFICKÝCH ZÁZNAMOV POUŽÍVANÝCH PRI FLUORESCENČNEJ ANALÝZE

### Synchronne fluorescenčné spektrum

Fluoreskujúce látky poskytujú dve charakteristické spektrá, a to už spomenuté excitačné a emisné spektrum. Excitačné spektrum sa zachytáva plynulým pohybom excitačného monochromátora, pričom sa zaznamenávajú excitačné vlnové dĺžky svetla pri jednej emisnej vlnovej dĺžke. Emisné spektrum sa zachytáva pohybom emisnej



Obr. 7. Koncentračná matica ľudského moču (Ústav lekárskej a klinickej biochémie a Labmed a.s.)



Obr. 8. Príklady koncentračných matic rôznych močov a ich možné klinické (diagnostické) aplikácie. KM močov sú podobné u zdravých jedincov (A1, A2), a odlišné u pacientov s rôznym ochorením (B1, B2 = hepatopatia, C = autoimúnna trombocytopénická purpura, D = po podaní vitamínov B2 a B6) (Kušnír a kol., 2005)

ho monochromátora a merajú sa emisné vlnové dĺžky svetla pri jednej excitačnej vlnovej dĺžke. Simultánny pohyb obidvoch monochromátorov poskytuje záznam závislosti intenzity fluorescencie od vlnovej dĺžky, ktorý je výsledkom konvolúcie excitačného spektra a emisného spektra. Takéto spektrum nazývame synchronne fluorescenčné spektrum (SFS). Intenzita a tvar synchronného fluorescenčného spektra závisia od obidvoch vlnových dĺžok, excitujúcej ( $\lambda_{ex}$ ) aj emisnej ( $\lambda_{em}$ ).

SFS poskytuje fluorescenčnej analýze ďalšiu dimenziu. Umožňuje eliminovať rozptylové javy, resp. ich plnohodnotne využiť ako ďalší zdroj informácií o zložení multifuorescenčnej zmesi. SFS výrazne zvyšuje citlivosť fluorescenčných grafov a je tiež vynikajúcim prostriedkom na identifikáciu mnohozložkových zmesí, najmä rôznych organických látok, pretože umožňuje charakterizovať zložitú zmes ako jeden celok (Dubayová a kol., 2003). SFS znižuje nebezpečenstvo prekryvania fluorescenčných pásov meraním užších pásov, pričom sa zjednodušujú spektrá. SFS je možné snímať v troch rôznych alternatívach (Li a kol., 1999; Tóthová a Sádecká, 2010):

- medzi obidvoma monochromátormi sa udržiava konštantný rozdiel vlnových dĺžok  $\Delta\lambda$  (CW – constant wavelength)
- medzi obidvoma monochromátormi sa udržiava konštantný rozdiel energií (kmitočtu)  $E$  (CE – constant energy)
- rozdiel medzi monochromátormi sa systematicky programovo mení (VA – variable angle)

### Synchronna fluorescenčná matrica

Matrica nameraných synchronných spektier získaných synchronným pohybom excitačného a emisného monochromátora pri konštantnom rozdiel vlnových dĺžok  $\Delta\lambda$  nazývame **synchronna fluorescenčná matrica** (SFM).

### Excitačno- emisná matrica

Záznamom celého emisného spektra pri každej excitačnej vlnovej dĺžke sa vytvorí vrstevnicová mapa, tzv. **excitačno-emisná matrica** (EEM, obr. 5), predstavujúca grafickú definíciu fluorescenčnej látky alebo látok (Dubayová a kol., 2003). Výsledná emisno-excitačná matrica poskytuje celkový profil intenzít fluorescencie meranej vzorky v rozsahu skenovaných excitačných a emisných vlnových dĺžok, a tým aj vyššiu selektivitu.

EEM pozostáva z dvojdimenzionálneho zobrazenia intenzity fluorescencie ako funkcie excitačnej a emisnej vlnovej dĺžky. Uzavreté vrstevnice predstavujú **fluorofór**,

poloha jeho fluorescenčného centra v matrici definuje kvalitu fluorofóru a počet vrstevníc je kvantitatívnu charakteristikou.

Na podrobnejšiu spektrálnu charakterizáciu látky, ale hlavne pre multifuorescenčnú zmes, ktorej fluorofóry majú rôzne excitačné a emisné maximá, je nevyhnutné merať emisné spektrá pri rôznych excitačných vlnových dĺžkach alebo excitačné spektrá pri rôznych emisných vlnových dĺžkach. Namerané spektrá sa dajú následne spracovať vo forme trojrozmerného grafu.

V trojrozmernom zázname môžu zostať niektoré fluorescenčné centrá skryté. Z toho dôvodu sa v praxi častejšie využíva 2D projekcia (obr. 6), tzv. synchronna fluorescenčná matrica (SFM) predstavujúca pohľad zhora (Wolfbeis a Leiner, 1985; Phelan, 1994; Wehry, 1997; Tóthová a Sádecká, 2010).

### Koncentračná matrica

Zloženie biologických tekutín možno graficky definovať pomocou EEM alebo SFM. Výklad a praktická aplikácia tejto spektrálnej charakteristiky sa výrazne komplikuje s koncentračnou variabilitou moču (Kušnír a kol., 2005). Najkomplikovanejšie je hodnotenie extrémne koncentrovaného alebo zriedeného moču. Pre elimináciu komplikácie zaviedol v roku 2005 Kušnír a kol. tzv. **koncentračnú matricu** (KM, obr. 7). KM je vytvorená zo série SFS s posunom vlnových dĺžok  $\Delta\lambda$  postupne zoradených za sebou podľa stúpajúceho riedenia v geometrickom rade. Získané vrstevnice v matrici signalizujú interakcie fluorofórov. Takto predstavená matrica prináša rýchle a komplexné informácie o biologických tekutinách na základe ich fluorescenčných vlastností a hodnotí moč ako jeden celok, resp. zmes fluorofórov za určitého stavu v danom čase, čo predstavuje nový rozmer profilovej analýzy. Ďalšou obrovskou výhodou KM je, že nevyžaduje náročnú prípravu vzorky.

Kušnír a kol. (2005) aplikovali využitie KM na znázornenie rozdielov močov zdravých jedincov a močov pacientov s hepatopatiou, autoimunitnou trombocytopenickou purpurou, a močov jedincov po podaní vitamínov B<sub>2</sub> a B<sub>6</sub> (obr. 8).

### Fluorescenčný fingerprint

Všetky doteraz spomenuté záznamy rôzne snímaných fluorescenčných spektier (EEM, SFM) charakterizujúce zmes ako jeden celok označujeme ako **fluorescenčný fingerprint** – profil použiteľný na definovanie alebo typizáciu minimálne upravovaného biologického materiálu (Birková a kol., 2007; Birková a kol., 2011).



## Derivovaná synchronná fluorescenčná spektroskopia

Matematickým riešením zvýšenia rozlišovacej schopnosti pri analýze multifluorescenčnej zmesi je derivácia spektier, ktorá rozdelí fluorescenčné spektrum na pozitívnu a negatívnu časť (Carretero, 1997). **Derivovaná synchronná fluorescenčná spektroskopia** poskytuje jednoznačnejšie synchronné fluorescenčné spektrum ako konvenčné excitačné a emisné fluorescenčné spektrum. Aplikácia derivovaných spektier eliminuje vedľajšie nežiaduce efekty a umožňuje lepšie rozlišovanie zmesí. Úpravou synchronného fluorescenčného spektra deriváciou prvého alebo druhého poriadku možno odlíšiť blízke skupiny látok (Pulgarín a kol., 2008), napríklad jednotlivých katecholamínov v moči (Valcarcel a kol. 1985), porfyríny v moči (Liu a kol., 2012), pyridoxal a jeho deriváty v sére (Nevado a kol., 1995; Nevado a kol., 1996) alebo cefalosporíny v sére (Izquierdo a kol., 1990).

Derivácie vyšších poriadkov slúžia na odlíšenie prekrývajúcich sa fluorofórov (Konstantianos a kol., 1994; Patra a Mishra, 2002; Abdelal a kol., 2009).

Zvýšenie citlivosti a ďalšej variability analýzy multifluorescenčnej zmesi je možné dosiahnuť vzájomnou kombináciou rôznych fluorescenčných techník a aplikáciou matematických postupov na spracovanie nameraných hodnôt.

## LITERATÚRA

- [1] ABDELAL, A., EL-ENANY, N., BELAL, F., 2009: Simultaneous determination of sulphiride and its alkaline degradation product by second derivative synchronous fluorescence spectroscopy. In *Talanta*. 2009, Vol. 80, No. 2, p. 880–888.
- [2] BECKER, W., 2012: Fluorescence lifetime imaging techniques and applications. In *J. Microsc.* 2012, Vol. 247, No. 2, p. 119–36.
- [3] BIRKOVÁ, A., DUBAYOVÁ, K., KUŠNÍR, J., 2007: Metabolické profilovanie – nový pohľad na hodnotenie biologického materiálu. In *Klin. Biochem. Metab.*, 2007, Vol. 15, No. 3, p. 145–149.
- [4] BIRKOVÁ, A. et al., 2011: Profile fluorescent analysis — new method of biological material distinction of animals. In *Folia veterinaria*, 2011, Vol. 55, No. 2, p. 37–38.
- [5] BRIGHT, F. V., 1988: Bioanalytical application of fluorescence spectroscopy. In *Analytical Chemistry*, 1988, vol. 60, p. 1031–1039.
- [6] CANTOR, CH. R., SCHIMMEL, P. R., 1980: The Behavior of Biological Macromolecules. Biophysical Chemistry. San Francisco: Freeman, 1980, ISBN 0-7167-1192-3, 444.
- [7] CARRETERO, A. S., BLANCO, C. C., GUTIÉRREZ, A. F. 1997: Application of derivative variable-angle synchronous scanning phosphorimetry in microemulsion medium for the simultaneous determination of 2-naphtoxyacetic acid and 1-naphtalenacetamide. In *Analyst*, 1997, Vol. 122, p. 925–929.
- [8] DUBAYOVÁ, K., KUŠNÍR, J., PODRACKÁ, L., 2003: Diagnostic monitoring of urine by means of synchronous fluorescence spectrum. In *J. Biochem Biophys Methods*. 2003 Vol. 55, No. 2, p. 111–9.
- [9] FERY-FORGUES, S., LAVABRE, D., 1999: Are Fluorescence Quantum Yields So Tricky to Measure? A Demonstration Using Familiar Stationery Products. In *Journal of Chemical Education*, Vol. 76, No. 9, p. 1260.
- [10] IZQUIERDO, P., GUTIÉRREZ, M. C., GÓMEZ-HENS, A., PÉREZ-BENDITO, D., 1990: Simultaneous Determination of Cephadrine and Cephalixin in serum by derivative synchronous Fluorescence Spectroscopy. *Analytical letters*, Vol. 2, No. 3, p. 487–505.
- [11] JAMESON, D. M., CRONEY, J. C., MOENS, P. D. 2003: Fluorescence: Basic concepts, practical aspects, and some anecdotes. In *Methods in Enzymology* Vol. 360, p. 1–43.
- [12] KONSTANTIANOS, D. G., IOANNOU, P. C., STRATIKOS, E., 1994: Simultaneous determination of diflunisal and salicylic acid in human serum by second-derivative synchronous fluorescence spectroscopy In *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1994, Vol. 1, No. 4, p. 209–217.
- [13] KUŠNÍR, J., DUBAYOVÁ, K., LEŠKOVÁ, L., LAJTÁR, M., 2005: Concentration Matrices — Solutions for Fluorescence Definition of Urine, In *Analytical Letters*, 2005, Vol. 38, p. 1559–1567.
- [14] LAKOWICZ, J. R. 1983. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Chapter 9, Plenum Press, New York 1983.
- [15] LAKOWICZ, J. R., 2006: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Third edition. New York: Springer Science Business, 2006, p 954. ISBN-13: 978-0387312781.
- [16] LARSSON, T., WEDBORG, M., TURNER, D., 2006: Correction of inner-filter effect in fluorescence excitation-emission matrix spectrometry using Raman scatter. In *Anal. Chim. Acta.*, 2007, Vol. 583, No. 2, p. 357–63.

- [17] LI, Y. Q., HUANG, X. Z., XU, J. G. 1999: Synchronous fluorescence spectrometric methodology in the wave length domain, In *Journal of Fluorescence*, Vol. 9, No. 3, p. 173–179.
- [18] LIČMANOVÁ, L., PAIDAROVÁ, V. I., KALUS, R., 2010: Dft a empirické modely interakcí v monte carlo simulacích klastrů molekul vody. In *Chem. Listy*, 2010, Vol. 104, p. 483–497.
- [19] LIU, Q., HUANG, W., SHINDI, A. A., LI, Y. Q., 2012: A novel rapid method for simultaneous determination of three diagnostically important porphyrins in erythrocytes using hyphenated synchronous fluorescence techniques, In *Talanta*. 2012, Vol. 88, p. 663–668.
- [20] NEVADO, J. J. B., PULGARÍN, J. A., LAGUNA, M. A., 1995: Simultaneous determination of pyridoxal and pyridoxamine by different spectrofluorimetric techniques. In *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1995, Vol. 42, No. 1, p. 129–136.
- [21] NEVADO, J. J. B., PULGARÍN, J. A., LAGUNA, M. A., 1996: Determination of pyridoxal in human serum by matrix isopotential synchronous fluorescence spectrometry. In *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1996, Vol. 14, No. 11, p. 1487–1494.
- [22] OSTERMAN, O., 2009: The Next Step in Near Infrared Fluorescence: IRDye QC-1 Dark Quencher, Lincoln: LI-COR Biosciences, Inc. 2009.
- [23] PAN, J., LIN, S., WOODBURY, N. W., 2012: Bacteriochlorophyll excited-state quenching pathways in bacterial reaction centers with the primary donor oxidized. In *J. Phys. Chem. B*. 2012, Vol. 116, No. 6, p. 2014–22.
- [24] PATRA, D., MISHRA, A. K., 2002: Recent developments in multi-component synchronous fluorescence scan analysis. In *Trends in Analytical Chemistry*, 2002, Vol. 21, No. 12, p. 787–798.
- [25] PENG, X., CHEN, H., DRANEY, D. R., VOLCHECK, W., SCHUTZ-GESCHWENDER, A., OLIVE, D. M., 2009: A Non-fluorescent, Broad Range Quencher Dye for FRET Assays, In *Analytical Biochemistry*, 2009, Vol. 388, p. 220–228.
- [26] PERINCHERY, S. M., KUZHIUMPARAMBIL, U., VEMULPAD, S., GOLDYS, E. M., 2010: The influence of indoxyl sulfate and ammonium on the autofluorescence of human urine. In *Talanta*. 2010, Vol. 80, p. 1269–1276.
- [27] PHELAN, V., 1994: Adding a new dimension to fluorescence analysis, In *International Laboratory News*, 1994, Vol. 7, p. 12.
- [28] PULGARÍN, J. A. M., MOLINA, A. A., ROBLES, I. S. F., 2008: In *Anal. Chim. Acta*. 2007, Vol. 583, p. 55–62.
- [29] RENDELL, D. 1987: *Fluorescence and phosphorescence, Chemistry by Open Learning (ACOL)*, London: John Wiley and Sons, 1987, p. 419.
- [30] SIEBERT, F., HILDEBRANDT, P. 2008: *Vibrational Spectroscopy in Life Science*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2008, ISBN: 978-3-527-40506-0.
- [31] STEINMEYER, R., HARMS, G. S. 2005: Combined FRET and anisotropy measurements synchronized with patch clamping. In *Europ. Biophys. J.*, 2005, Vol. 34, p. 536.
- [32] TÓTHOVÁ, J., SÁDECKÁ, J., 2010: Princípy a využitie synchronnej fluorescence pri analýze mnohozložkových vzoriek. In *Chem. Listy*, 2010, Vol. 104, p. 778–783.
- [6] VALCARCEL, M., GÓMEZ-HENS, A., RUBIO, S. 1985: Simultaneous determination of epinephrine and norepinephrine in urine by derivative synchronous fluorescence spectroscopy. In *Clinical Chemistry*, 1985, Vol. 31, No. 11, p. 1790–1794.
- [33] VALEUR, B., BERBERAN-SANTOS, M. N., 2012: *Molecular Fluorescence Principles and Applications Weinheim: Wiley-VCH*, 2012, ISBN 978-3-527-32837-6.
- [34] WEHRY, E. L. 1997: *Molecular fluorescence and Phosphorescence spectrometry, Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Virginia: Frank A. Seetle, National Science Foundation, p. 1024, ISBN 0-13-177338-0.
- [35] WOLFBAIS, O. S., LEINER, M., 1985: Mapping of the total fluorescence of human blood serum as a new method for its characterisation, In *Analytica Chimica Acta*. 1985, Vol. 167, p. 203–215.

# MOŽNOSTI FLUORESCENČNEJ SPEKTROSKOPIE V KLINICKO-BIOCHEMICKEJ DIAGNOSTIKE ČASŤ II – FLUORESCENCIA BIOLOGICKÝCH SYSTÉMOV

**Marcela Valko-Rokytovská, Marek Stupák, Beáta Hubková  
Jana Mašlanková, Mária Mareková**

Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF a LABMED  
Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach  
Lekárska fakulta, Tr. SNP 1, 040 11 Košice

Kontakt: maria.marekova@upjs.sk

## SÚHRN

Fluorescenčná spektroskopia využívajúca interakcie svetla s hmotou patrí medzi neinvazívne metódy. Meranie prirodzenej fluorescence (autofluorescencie) a sofistikované spracovanie nameraných dát je bohatým zdrojom informácií o biologických systémoch akými sú napríklad krv, moč a tkanivo. Fluorescenčná profilová analýza doplnená o kvalitatívnu a kvantitatívnu profiláciu má veľký potenciál pričasnej diagnostike mnohých ochorení. Včasná diagnostika nádorového ochorenia patrí k vysoko aktuálnym témam medicíny. Veľký potenciál majú najmä jednoduché, rýchle, neinvazívne a cenovo dostupné diagnostické metódy.

**Kľúčové slová:** fluorescenčná spektroskopia, autofluorescencia, fluorescenčná profilová analýza

## SUMMARY

Fluorescence spectroscopy is one of the non-invasive methods based on the interaction of light with matter. Measurement of natural fluorescence (autofluorescence) and its sophisticated data processing provides a rich source of information about biological systems, such as

blood, urine and tissues. Fluorescence profile analysis supplemented by qualitative and quantitative profiling has great potential in early diagnosis of many diseases. Early detection of cancer belongs to the currently preferred topics of medicine. Great potential, in particular, have a simple, fast, non-invasive and cost effective diagnostic methods.

**Key words:** fluorescence spectroscopy, autofluorescence, fluorescence profile analysis

## FLUORESCENCIA BIOLOGICKÝCH SYSTÉMOV

### ÚVOD

Prednosti fluorescenčnej analýzy, napr. rýchlosť, senzitivita, neinvazívnosť, nedeštruktívnosť sa využívajú pri štúdiu rôznych biologických systémov. Fluorescenčná spektroskopia našla významné uplatnenie pri monitoringu prítomnosti cudzorodých látok, štúdiu jednotlivých zložiek biologického systému a ich vzájomných interakcií, na definovanie biologického systému ako celku a v poslednej dobe aj na diagnostiku patologických procesov *in vivo* (Birková a kol., 2007; Zhou a kol., 2010; Butte a kol., 2011; Liao a kol., 2012).

Biologické systémy obsahujú veľa zlúčenín, ktorých štruktúra spĺňa podmienky pre vznik fluorescence. Ak sú fluoreskujúce zlúčeniny prirodzenou súčasťou daného systému, označujú sa ako **endogénne fluorofóry** a používa sa termín **autofluorescencia**. Autofluorescencia je spontánna fluorescence systému bez aplikácie fluorogénneho činidla.

Ak je fluorofór produktom neštandardného, napr. patologického procesu, fluorescence daného procesu sa nazýva **exogénna fluorescence**.

**Exogénne fluorofóry** (nevlastné fluorofóry) sú prítomné v biologických systémoch ako kontaminanty (napr. polycyklické aromatické uhľovodíky), liečivá alebo fluorescenčné sondy aplikované zámerne s cieľom identifikácie určitých zlúčenín, alebo procesov. Reakcia nevlastného fluorofóru so sledovanou molekulou sa nazýva derivatizácia (Yoshida a kol., 2005; Vrabel a kol. 2006; Todoroki a kol., 2011).

### Fluorescencia moču

Moč je biologická tekutina, ktorá sa tvorí v obličkách filtráciou krvnej plazmy. Močom sa organizmus zbavuje exogénnych i endogénnych látok, predovšetkým konečných produktov metabolizmu. Približne 95 % zložky moču tvorí voda, v ktorej je rozpustený veľký počet rôznych látok, elektrolytov, organických zlúčenín.

Moč ako multifluorescenčná zmes sa vyznačuje modro-zelenou fluorescenciou (Leiner a kol., 1987; Casavant a kol., 2001), ktorá je výsledkom prítomnosti fluorofórov s veľmi blízkymi fluorescenčnými charakteristikami. Z veľkého množstva organických látok prítomných v moči sú totiž len niektoré fluoreskujúce (Masilamani a kol., 2010). Ide najmä o metabolity tryptofánu, catecholamíny, porfyríny a riboflavín. K zmenám koncentrácií týchto metabolitov dochádza varírovaním fyziologického stavu v dôsledku starnutia, diéty, ale aj pri patologických zmenách (Guminetsky a kol., 1999; Saude a kol., 2007; Slupsky a kol., 2007; Anwer a kol., 2009; Lichardusová a kol., 2010).

Fluorescenčná analýza moču na základe merania prirodzenej fluorescence je metóda, ktorá zachytáva v jednom meraní súčasne všetky fluorofóry prirodzene vylučované organizmom. Na druhej strane, neumožňuje detegovať časť látok, ktoré sú v moči rutinne stanovené v klinickej praxi, pretože nefluoreskujú. Napriek tomu môžu tieto látky fluorescenčné spektrum moču ovplyvniť interakciou s fluorofórmami. Fluorescenčná analýza zachytáva fyziologické aj patologické zložky.

Z výsledkov štúdie Williamsa a Bridgesa (1964) vyplýva, že u väčšiny fluorofórov nastáva extrémna zmena

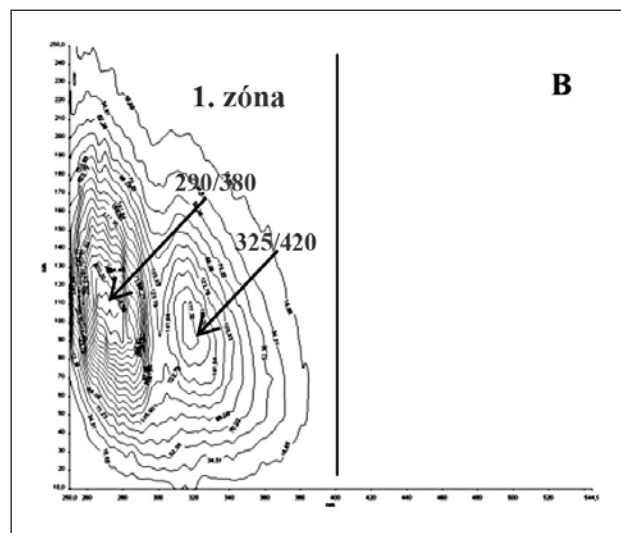
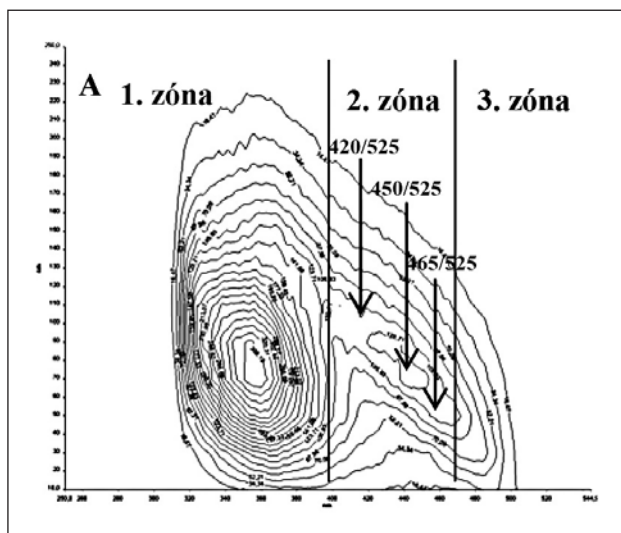
v intenzite fluorescencií v oblasti  $\text{pH} \leq 4$  a  $\text{pH} \geq 10$ , kým v oblasti  $\text{pH} 5 - 9$ , charakteristickej pre moč, je ich fluorescence stabilná. Štúdiom vplyvu pH na fluorescenciu moču sa vo svojej práci venovali aj Lichardusová a kol. (2010), ktorí potvrdili vyššie uvedené.

Pri fluorescenčnej analýze moču sa v praxi najviac využíva zobrazenie synchronnej fluorescenčnej matrice (obr. 1). Celú fluorescenčnú oblasť je možné rozdeliť do troch typických spektrálnych zón (Leiner a kol., 1987). Najintenzívnejšia fluorescence je v prvej zóne (250 – 400 nm) a tvoria ju dve dominantné fluorescenčné centrá (obr. 1B). K fluorescencii vrcholu so súradnicami 290/380 nm prispieva niekoľko zlúčenín s podobnými spektrálnymi charakteristikami. Hlavným fluorofórom je pravdepodobne indoxyl sulfát. Druhé fluorescenčné centrum so súradnicami 325/420 nm je výsledkom fluorescence niekoľkých zlúčenín. Ďalšia fluorescence v excitačno/emisných súradniciach (ex/em) 450/525 nm, 465/525 a 420/525 nm sa pripisuje prítomnosti riboflavínu a jeho metabolitov (Chastain a McCormick, 1987; Chastain a McCormick, 1988) a predstavuje druhú

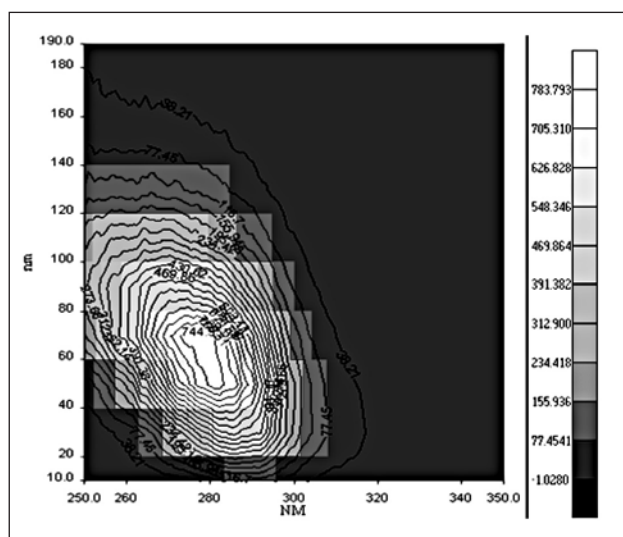
Tab. 1. Fluorofóry krvného séra a ich fluorescenčné parametre

Fluorofór	$\lambda_{\text{ex}}$ [nm]	$\lambda_{\text{em}}$ [nm]
Tyrozín <sup>2</sup>	275	300
Voľný tryptofán <sup>1</sup>	278	348
Viazaný tryptofán <sup>1</sup>	278	322 – 345
Indoxyl sulfát <sup>1</sup>	290	380
Kyselina 3-hydroxy-antranilová <sup>1</sup>	320	415
Pyridoxín <sup>2</sup>	332, 340	400
Pyridoxal <sup>2</sup>	330	385
Pyridoxal 5'-fosfát <sup>2</sup>	330	400
FAD <sup>2</sup>	450	535
NADH <sup>2</sup>	290	440, 460
NADPH <sup>2</sup>	336	464
Riboflavín/FMN <sup>1</sup>	370	520
Bilirubín <sup>1</sup>	448, 455, 460	515, 520, 525
Porfyríny <sup>1</sup>	400 - 450	630, 690

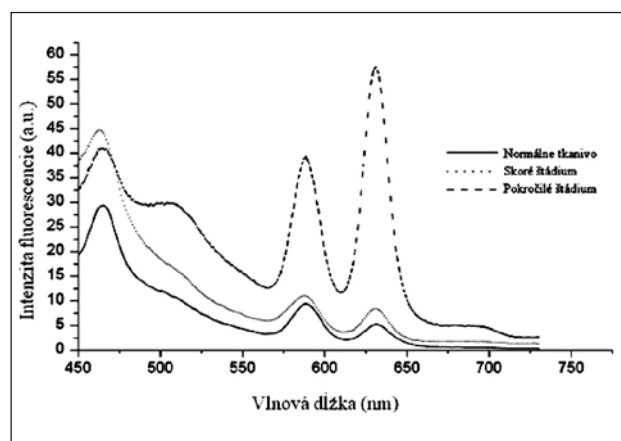
<sup>1</sup> – Ramanujam, 2000, <sup>2</sup> – Wolfbeis a Leiner, 1985



**Obr. 1.** A) SFM neriedeného moču zdravého jedinca, B) SFM moču 16-krát riedeného zdravého jedinca so znázornenými tromi typickými spektrálnymi zónami podľa Leinera a kol. (1987). Jednotlivé čiary (vrstevnice) predstavujú miesta s rovnakou hodnotou fluorescence (Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF a Labmed a.s.)



**Obr. 2.** Dvojmerný záznam synchronnej fluorescenčnej matrice krvného séra zdravého jedinca (Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF a Labmed a.s.)



**Obr. 3.** Fluorescenčné spektrá krvi od pacientok s rakovinou prsníka. Plná čiara predstavuje fluorescenčné spektrum krvi zdravého jedinca (Masilamani a kol., 2004)

zónu fluorescenčnej oblasti (obr. 1A). V tretej zóne fluoreskujú hlavne porfyríny (obr. 1A).

### Fluorescencia krvného séra

Ludské krvné sérum je zložené z veľkého množstva látok, ale len niektoré prispievajú k jeho fluorescencii. Mnohé z nich neboli dosiaľ identifikované (Wolfbeis a Leiner, 1985). Známe fluorofóry sú zhrnuté v tab. 1.

Dominantným fluorofórom v ultrafialovej oblasti je tryptofán. K fluorescencii v tejto časti spektra pri-

spievajú aj ďalšie zlúčeniny s podobnými vlastnosťami, napr. tyrozín a indoxyl sulfát. Vo viditeľnej oblasti fluoreskuje viacero látok, napríklad flavíny, bilirubín (najmä po naviazaní na albumín), pteríny, kyselina 3-hydroxyantranilová, kyselina 4-pyridínkarboxylová (s posunom fluorescenčného maxima po naviazaní na proteíny, ovplyvniteľná iónovou silou prostredia), NADH a redukovaný nikotínamid adenín dinukleotid fosfát (NADPH). Fluorescenčné maximá voľných a s enzýmami viazaných foriem NADH a NADPH sa líšia,

lokalizácia maxím je teda závislá od ich pomeru v sére. Kovalentnou väzbou pyridoxalfosfátu s enýmom vzniká Schiffova báza, ktorá vytvára dve tautoméne formy s rôznymi fluorescenčnými maximami. Pomer týchto dvoch foriem ovplyvňuje mikroprostredie Schiffovej bázy. Dvojmerný záznam synchronnej fluorescenčnej matrice krvného séra zdravého jedinca je na obr. 2.

Každá zmena zloženia krvného séra sa prejavuje zmenou záznamu a indikuje patologický proces (Leiner a kol., 1986; Hubmann a kol., 1990). Takýmto spôsobom je možné detegovať prítomnosť toxínov, užívanie drog a liečiv. Mnohé z exogénnych látok fluoreskujú najmä v prítomnosti proteínov krvného séra (Berges a kol., 1999).

### **Využitie fluorescencie moču a séra pričasnej diagnostike nádorových ochorení**

V súčasnosti je výskyt rôznych foriem malígnych nádorov čoraz častejší, a preto napreduje aj vývoj diagnostických metód zaoberajúcich sa jej včasným diagnostikovaním. Mnohé z nich sú špecifické z pohľadu lokality nádoru, väčšinou sú však invazívne a finančne nákladné. Metóda založená na fluorescencii moču patrí k neinvazívnym a finančne nenáročným diagnostickým metódam. Výsledky štúdie Masilamani a kol. (2010) ukázali, že flavoproteíny a porfyríny vylučované do moču môžu pôsobiť ako biomarkery karcinómu s vysokou špecificitou, senzitivitou a celkovou citlivosťou. Rajasekaran a kol. (2012) na základe porovnávania fluorescencie moču pacientov s rôznym druhom rakoviny a zdravých jedincov skonštatovali, že redukovaný nikotínamid adenín dinukleotid (NADH) a flavíny môžu byť považované za metabolické markery rakoviny. Kušnir a kol. (2005) odporúčajú analýzu neriedeného moču, nevýhodou však je jeho slabšia fluorescencia s kratšou UV excitáciou (250 – 300 nm). Dôvod slabšej fluorescencie odhalili Perinchery a kol. (2010), ktorí poukázali na zhášače prítomné v neriedenom zdravom moči práve v tejto oblasti. Ich zistenia naznačujú, že týmito faktormi sú najmä indoxyl sulfát, ktorý vo vysokej koncentrácii vytvára efekt vnútorného filtra a koncentračné zhášanie fluorofórov amoniakom.

V hematológii je diagnóza rakoviny a skrining použitím fluorescenčnej spektroskopie v počiatkovej fáze výskumu. Kalaivani a kol. (2008) vo svojej štúdií využili fluorescenciu porfyrínov krvi ako nádorového markera pri diagnostike rakoviny prsníka. Martinický a kol. (2012) na základe svojich výsledkov uviedli, že pteríny vylučované do moču, slúžia na diagnostiku neoplázie.

„Steady-state“ fluorescencia je závislá na excitačných a emisných vlastnostiach prítomných fluorofórov a ich prostredia. Sníma sa jedna excitačná alebo emisná vlnová dĺžka zodpovedajúca maximu sledovanej fluorescenčnej látky (signál s pozadím) a druhá zodpovedajúca excitačnému alebo emisnému minimu (nežiaduce signály pozadia). Rozdielnosti oboch získaných obrazov zlepšujú kontrast fluorescenčného snímania (Fischer a kol., 2002; Mahadevan-Jansen a Gebhart, 2011). „Steady-state“ fluorescencia bola použitá na analýzu krvných elementov u zdravých a chorých pacientov. Fluorescenčné spektrum krvi pacientok s rakovinou prsníka (obr. 3) ukazuje zvýšené fluorescenčné maximá pri vlnovej dĺžke 630 nm spôsobené fluorescenciou porfyrínu (Masilamani a kol., 2004).

### **Fluorescencia tkanív a možnosti jej využitia pričasnej diagnostike nádorových ochorení**

Neinvazívna fluorescenčná spektroskopia sa čoraz častejšie využíva na rozlíšenie nezmenených tkanív od malígne zmenených. Endogénna fluorescencia kože je založená na prítomnosti špecifických fluorofórov ako sú aminokyseliny tryptofán a tyrozín, štrukturálne proteíny kolagén a elastín, koenzýmy NADH a FAD (flavínadenín dinukleotid), či porfyríny (Zeng a kol., 1998; Valko-Rokytovská a kol., 2012). Štatisticky signifikantný rozdiel v zastúpení fluorofórov bol dokázaný medzi malígnym a benígnym tkanivom prsníka (Breslin a kol., 2003). Táto skutočnosť by mohla byť využitá pri zdokonaľovaní diagnostických a chirurgických procedúr liečby rakoviny prsníka. Fluorescenčná spektroskopia tkaniva bola použitá aj pri detekcii prekancerózných zmien *in vivo*. Navrhnutý bol analytický model fluorescenčného spektra dvoch stredných vrstiev epiteliálneho tkaniva (Chang a kol., 2004). Optický diagnostický postup využívajúci laserom indukovanú fluorescenciu aplikovali Vo-Dinh a kol. (1997) pri priamom diagnostikovaní rakoviny bez potrebnej biopsie pozitívom optickéj sondy vlozenej cez endoskop. V tejto štúdií bola použitá technika diferenčnej normalizovanej fluorescencie (DNF), ktorá poukázala na zhodu v klasifikácii normálneho tkaniva a malígnych tumorov inými metódami. Technika DNF má veľký potenciál ako rýchla, cenovo výhodná technika pri diagnostikovaní rakoviny (Wang a kol., 2006).

Ďalšou diagnostickou technikou používanou pri diagnostikovaní kožných lézií, napríklad rakoviny, je aj spomenutá „steady-state“ fluorescencia (Mahadevan-Jansen a Gebhart, 2011), výhodou ktorej je analýza malých aj veľkých plôch tkaniva.

Najviac preskúmanou aplikáciou fluorescenčnej spektroskopie tkanív je však detekcia klasickou endoskopiou. Tá umožňuje detekciu neviditeľných, ťažko dostupných malígnych, či premalígnych tkanív (Ramanujam, 2000). Exogénne aplikovaný senzibilizátor, ktorý sa selektívne akumuluje v malígnych tkanivách, indukuje fluorescenciu po iluminácii svetlom vhodnej vlnovej dĺžky. Endogénne fluorofóry, ktoré sa rozdielne vyskytujú v malígnych a benígnych tkanivách, poskytujú rozdielnu autofluorescenciu v týchto léziách (Endlicher a Messman 2003; Filip a kol., 2011; Crosetti a kol., 2012).

V gynekológii, pri ochoreniach štítnej žľazy, pri diagnostike rakoviny a vírusových infekcií, tiež na meranie enzýmovej aktivity alebo cytotoxicity sa využíva tzv. „time-resolved“ kinetická fluorescenčná spektroskopie tkaniva, merajúca trvanie, resp. dobu zániku fluorescencie (Jiang a kol., 2007; Farwell a kol., 2010; Alfano, 2012).

Meranie konečných produktov neenzýmovej glykácie (AGEs, Advanced Glycation Endproducts) pomocou prístroja „AGE reader“ (čítačka AGEs) umožňuje neinvazívne, jednoduché a rýchle hodnotenie zdravotného stavu jedincov založené na autofluorescencii kože (Gerrits a kol., 2008). AGEs zohrávajú kľúčovú úlohu v patogenéze mnohých ochorení ako je cukrovka, kardiovaskulárne ochorenia a zlyhanie obličiek, ich hladina je ale zmenená aj v stavoch podmienených vekom. „AGE reader“ poskytuje neinvazívne hodnotenie kardiovaskulárneho rizika v reálnom čase. Princíp merania je založený na ožiarení kože na predlaktí. Hlavný podiel zachytenej autofluorescencie pochádza z glykovaných koncových produktov spojených s kolagénom, ale aj s ďalšími proteínmi a lipidmi. Vyžarované svetlo je detegované spektrofotometricky (Graaff a kol., 2005; Mulder a kol., 2006).

## ZÁVER

Včasná diagnostika nádorového ochorenia patrí medzi aktuálne riešenú problematiku modernej medicíny. Skrining karcinómu je založený väčšinou na analýze krvi a tkaniva onkologických pacientov. Spomenuté diagnostické postupy predstavujú pre pacienta traumatizujúci zásah. Trendom modernej medicíny je predchádzať invazívnym zákrokom pri odbere biologického materiálu. Práve z tohto dôvodu je čoraz preferovanejším materiálom moč. Jeho výhodou je predovšetkým jednoduchý, opakovateľný a neinvazívny odber, ako aj minimálna predpríprava vzorky pred samotnou analýzou. Moč

obsahuje množstvo prirodzených látok, ktoré odrážajú tak fyziologický, ako aj patologický stav organizmu.

Fluorescenčná analýza moču je stále v štádiu výskumov, ale vzhľadom na veľký rozmach metabolického prístupu k štúdiu telových tekutín v posledných rokoch, je veľký predpoklad nielen na jej skoré klinicko-biochemické diagnostické využitie, ale aj na monitorovanie priebehu liečby, či včasnú diagnostiku rôznych druhov ochorení.

## LITERATÚRA

- [1] ALFANO, R. R., 2012: Advances in ultrafast time resolved fluorescence physics for cancer. In *AIP Advances*. 2012, Vol. 2, No. 1, p. 1–10.
- [2] ANWER, A. G. et al., 2009: Distinctive autofluorescence of urine samples from individuals with bacteriuria compared with normals. In *Clinica Chimica Acta*, 2009, Vol. 401, p. 73–75.
- [3] BERGES, R. et al., 1999: Analytical methodology for enantiomers of salbutamol in human urine for application in doping control. In *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, 1999, Vol. 723, No. 1–2, p. 173–184.
- [4] BIRKOVÁ, A., DUBAYOVÁ, K., KUŠNÍR, J., 2007: Metabolické profilovanie – nový pohľad na hodnotenie biologického materiálu. In *Klin. Biochem. Metab.*, 2007, Vol. 15, No. 3, p. 145–149.
- [5] BRESLIN, T. M. et al., 2003: Autofluorescence and diffuse reflectance properties of malignant and benign breast tissues. In *Annals of Surgical Oncology*, 2003, Vol. 11, No. 1, 65–70.
- [6] BUTTE, P. V. et al., 2011: Fluorescence lifetime spectroscopy for guided therapy of brain tumors. In *NeuroImage*, 2011, Vol. 54, p. 125–135.
- [7] CASAVANT, M. J., SHAH, M. N., BATTELS, R., 2001: Does fluorescent urine indicate antifreeze ingestion by children? In *Pediatrics*. 2001, Vol. 107, No. 1, p. 113–4.
- [8] CROSETTI, F., PILOLLI, G., SUCCO, A., 2012: New strategy for endoscopic staging of laryngeal carcinoma: m e. ultistep endoscopy. In *Acta Otorhinolaryngol Ital.*, 2012, Vol. 32, No. 3, p. 175–181.
- [9] ENDLICHER, E., MESSMANN, H., 2003: Spectroscopy and fluorescence imaging, In *Techniques in Gastrointestinal Endoscopy*, 2003, Vol. 5, p. 74–77.
- [10] FARWELL, D. G. et al., 2010: Time-resolved fluorescence spectroscopy as a diagnostic technique of oral carcinoma: Validation in the hamster buccal pouch model. In *Arch Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2010, Vol. 136, No. 2, p. 126–33.

- [11] FILIP, M. et al., 2011: Autofluorescence imaging and magnification endoscopy. In *World J Gastroenterol.*, 2011, Vol. 17, No. 1, p. 9–14.
- [12] FISCHER, F., DICKSON, G. E. F., POTTIER R. H., 2002: *In vivo* fluorescence imaging using two excitation and/or emission wavelengths for image contrast enhancement, In *Vibrational Spectroscopy*, 2002, Vol. 30, p. 131–137.
- [13] GERRITS, E. G. et al., 2008: Skin autofluorescence. A tool to identify type 2 diabetic patients at risk for developing microvascular complications. In *Diabetes Care*, 2008, Vol. 31, p. 5617–521.
- [14] GRAAFF, R. et al., 2005: Instrumentation for the measurement of autofluorescence in human skin. In *Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic Systems*. Bellingham, Washington, USA: 2005. ISBN-10: 0819456667.
- [15] GUMINETSKY, S. G. et al., 1999: Investigation of absorption spectra of the main human urines organic components in absence of protein. In *SPIE*, 1999, Vol. 3904, p. 579–89.
- [16] HUBMANN, M. R., LEINER M. J. P., SCHAUR, R. J., 1990: Ultraviolet fluorescence of human sera: I. sources of characteristic differences in the ultraviolet fluorescence spectra of sera from normal and cancer-bearing humans. In *Clin. Chem.*, 1990, Vol. 6, 1880–1883.
- [17] CHANG, S. K. et al., 2004: Fluorescence spectroscopy for cervical precancer detection: Is there variance across the menstrual cycle? In *Journal of Biomedical Optics*, 2004, Vol. 7, No. 4, p. 595–602.
- [18] CHASTAIN, J. L., McCORMIC, D. B., 1987: Flavin catabolites: identification and quantitation in human urine. In *Am. J. Clin. Nutr.*, 1987, Vol. 46, No. 5, p. 830–834.
- [19] CHASTAIN, J. L., McCORMIC, D. B., 1988: Characterization of a new flavin metabolite from human urine, In *Biochimica et Biophysica. Acta*, 1988, Vol. 967, No. 1, p. 131–134.
- [20] JIANG, X. et al., 2007: Interplay between the levels of estrogen and estrogen receptor controls the level of the granzyme inhibitor, proteinase inhibitor 9 and susceptibility to immune surveillance by natural killer cells. In *Oncogene*, 2007, Vol. 26, p. 4106–4114.
- [21] KALAIVANI, R. V. et al., 2008: Fluorescence Spectra of Blood Components for Breast Cancer Diagnosis. In *Photomedicine and Laser Surgery*, 2008, Vol. 26, No. 3, p. 251–256.
- [22] KUŠNÍR, J. et al., 2005: Concentration Matrices — Solutions for Fluorescence Definition of Urine, In *Analytical Letters*, 2005, Vol. 38, p. 1559–1567.
- [23] LEINER, M. J. P., HUBMANN, M. R., WOLFBAIS, O. S., 1987: The total fluorescence of human urine, In *Analytica Chimica Acta*, 1987, Vol. 198, p. 13–23.
- [24] LEINER, M. J. P. et al., 1986: Fluorescence topography in biology. III. Characteristic deviations of tryptophan fluorescence in sera of patients with gynecological tumors. In *Clin. Chem*, 1986, Vol. 32, 1974–1978.
- [25] LIAO, H. M. N. et al., 2012: An integrated diagnosis and therapeutic system using intra-operative 5-aminolevulinic-acid-induced fluorescence guided robotic laser ablation for precision neurosurgery. In *Medical Image Analysis*, 2012, Vol. 16, No. 3, p. 754–766.
- [26] LICHARDUSOVÁ, L. et al., 2010: The factors influencing direct spectral fluorimetry of some urine metabolites. In *Prague Medical report*, 2010, Vol. 111, No. 4, p. 272–8.
- [27] MAHADEVAN-JANSEN, A., GEBHART, S. C., 2011: Steady State Fluorescence Spectroscopy for Medical Diagnosis. In *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, 2011, p. 761–798.
- [28] MARTINICKY, D., 2012: Fluorescence characteristics of urine from ovarian cancer patients european. In *Journal of cancer*, 2012, Vol. 48, No. 5, p. 187.
- [29] MASILAMANI, M. et al., 2004: Cancer diagnosis by autofluorescence of blood components, In *Journal of Luminescence*, 2004, Vol. 109, p. 143–154.
- [30] MASILAMANI, V. et al., 2010: Cancer detection by native fluorescence of urine. In *J. Biomed. Opt.*, 2010, Vol. 15, No. 5, p. 057003.
- [31] MULDER, D. J. et al., 2006: Skin autofluorescence, a novel marker for glycemic and oxidative stress-derived advanced glycation end products: An overview of current clinical studies, evidence and limitations. In *Diabetes technology & Therapeutics*, 2006, Vol. 8, No. 5, p. 523–535.
- [32] PERINCHERY, S. M. et al., 2010: The influence of indoxyl sulfate and ammonium on the autofluorescence of human urine. In *Talanta*, 2010, Vol. 80, p. 1269–1276.
- [33] RAJASEKARAN, R. et al., 2012: Characterisation and diagnosis of cancer by native fluorescence spectroscopy of human urine. In *Photochem Photobiol.*, 2012, Epub ahead of print.



- [34] RAMANUJAM, N., 2000: Fluorescence spectroscopy *in vivo*. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R.A. Meyers (Ed.), Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2000, p. 20–56.
- [35] SAUDE, E. et al., 2007: Variation of metabolites in normal human urine. In *Metabol.*, 2007, Vol. 3, p. 439–51.
- [36] SLUPSKY, C. M., 2007: Investigations of the effects of gender, diurnal variation, and age in human urinary metabolomic profiles. In *Anal Chem.*, 2007, Vol. 7918, p. 6995–7004.
- [37] TODOROKI, T. et al., 2011: Long-term survivor of relapsed MFH on the thigh treated with autologous formalin-fixed tumor vaccine (AFTV) combined with limb-sparing surgery and radiotherapy. In *World J. Surg. Oncol.*, 2011, Vol. 9, p. 96.
- [38] VALKO-ROKYTOVSKÁ, M. et al., 2012: Diagnostický potenciál autofluorescencie kože. In *Laboratórna diagnostika*, 2012, Vol. 17, No. 1, p. 53–68.
- [39] VO-DINH, T. et al., 1997: Laser-induced differential fluorescence for cancer diagnosis without biopsy. In *Applied Spectroscopy*, 1997, Vol. 51, No. 1, p. 58–63.
- [40] VRÁBEL, P. et al., 2006: Sensitive detection and separation of fluorescenet derivatives using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection with 532 nm Nd: YAG laser, In *Journal of Luminescence*, 2006, Vol. 118, p. 283–292.
- [41] WANG, G., PLATZ, C. P., GENG, M. L., 2006: Probability-based differential normalized fluorescence bivariate analysis for the classification of tissue autofluorescence spectra. In *Appl Spectrosc.*, 2006, Vol. 60, No. 5, p. 545–50.
- [42] WILLIAMS, R. T., BRIDGES, J. W., 1964: Fluorescence of solutions: A review. In *Journal of Clinical Pathology*, 1964, Vol. 17, p. 371–394.
- [43] WOLFBAIS, O. S., LEINER, M., 1985: Mapping of the total fluorescence of human blood serum as a new method for its characterization, In *Analytica Chimica Acta*, 1985, Vol. 167, p. 203–215.
- [44] YOSHIDA, H. et al., 2005: A simple liquid chromatographic method based on intramolecular excimer-forming derivatization and fluorescence detection for the determination of tyrosine and tyramine in urine. In *J. of Chromatography B.*, 2005, Vol. 821, p. 88–93.
- [45] ZENG, H. et al., 1998: The Dynamics of Laser-Induced Changes in Human Skin Autofluorescence-Experimental Measurements and Theoretical Modeling. In *Photochemistry and Photobiology*, 1998, Vol. 68, No. 2, p. 227–236.
- [46] ZHOU, J. L. B. et al., 2010: Surface antigen profiling of colorectal cancer using antibody micro arrays with fluorescence multiplexing. In *Journal of Immunological Methods*, 2010, Vol. 355, No. 1–2, p. 40–51.

# HMOTNOSTNÁ SPEKTROMETRIA A MOŽNOSTI JEJ VYUŽITIA V DIAGNOSTIKE

Soňa Tkáčiková<sup>1</sup>, Mária Mareková<sup>2</sup>, Beáta Hubková<sup>2</sup>  
Miroslava Némethová<sup>3</sup>, Ján Sabo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav lekárskej a klinickej biofyziky, UPJŠ, Lekárska fakulta, Tr. SNP 1, Košice

<sup>2</sup>Ústav lekárskej a klinickej biochémie a Labmed, a.s., UPJŠ, LF, Tr. SNP 1, Košice

<sup>3</sup> Neurobiologický ústav SAV, Košice

## SÚHRN

Hmotnostná spektrometria sa v posledných desaťročiach stáva čoraz využívanjšou technikou v diagnostických laboratóriách najmä vďaka svojej špecifickosti a čoraz vyššej citlivosti ale v neposlednom rade aj komerčnej dostupnosti. Hmotnostné spektrometre najmä vďaka zavedeniu tzv. jemných ionizačných techník a kombinácii hmotnostných analyzátorov rôznych typov si nachádzajú uplatnenie v mnohých nielen vedecko-výskumných oboroch (napr. biofyzika, biochémia, farmakológia), medicínu nevyvímajúc (napr. v diagnostike rôznych ochorení, najmä karcinogénneho pôvodu). Vďaka schopnosti analyzovať aj veľké molekuly umožnila vznik tzv. proteomiky, oboru, ktorý sa zaoberá systematickou analýzou proteínov za účelom stanovenia ich identity, štruktúry, kvantity a funkcie. Vytvorením medzinárodných databáz proteínov sa stáva nástrojom na identifikáciu proteínov v sledovanej vzorke. Odhalením prítomnosti špecifických proteínov, tzv. onkomarkerov, v spektre ľahko dostupných vzoriek (krv, sliny, moč) proteomika nachádza svoje uplatnenie aj v medicíne (napr. včasná diagnostika a sledovanie účinnosti liečby najmä karcinogénnych ochorení). Analýzou malých molekúl má nezastupiteľné miesto

v analýze liečiv, farmakologických štúdiách, dopingových kontrolách ako aj v kriminalistike pri identifikácii drog. V mikrobiologických laboratóriách sa stáva rýchlym a presným nástrojom na identifikáciu druhej príslušnosti mikroorganizmov.

## ABSTRACT

Mass spectrometry in the past became more and more utilized technique in diagnostic laboratories thanks its specificity, sensitivity and the commercial availability, too. Mass spectrometers, especially from introducing soft ionization techniques and possibility to combine mass analyzers of different types, take place in medicine (in diagnostics of different diseases, especially carcinoma). Possibility analyze great molecules introduce proteomics, which focus to systematic analysis of proteins to state their identity, structure, quantity and function. Thanks to revealing of specific proteins, the oncomarkers, in the spectra of easy available samples such as blood, saliva, urine, and proteomics finds its position as well in diagnostics as in treatment of carcinoma diseases. The analysis of the small molecules has the stable place in medicament analysis, pharmacology studies, and doping controls and also in drug

identification. In the microbiological laboratories MS becomes quick and accurate tool for identification of microorganism species.

## HISTÓRIA HMOTNOSTNEJ SPEKTROMETRIE

Začiatky hmotnostnej spektrometrie (Mass Spectrometry, MS) sa datujú do roku 1899, keď nemecký fyzik Wilhelm Wien postavil zariadenie s paralelným elektrickým a magnetickým poľom, ktoré oddeľuje vyslané pozitívne lúče podľa pomeru hmotnosti iónu k jeho náboju a teda závisí od povahy plynu vo výbojke. Anglický vedec Joseph J. Thomson neskôr vylepšil jeho konštrukciu znížením tlaku vo výbojke na vákuum a tým vytvoril prvý hmotnostný spektrometer. V roku 1989 bola Nobelová cena za fyziku udelená Hansovi Dehmeltovi a Wolfgangovi Paulovi za rozvoj techniky iónovej pasce. Roku 2002 bola Nobelova cena za chémiu udelená Johnovi Bennettovi Fennovi za vývoj ionizačnej techniky elektrospreja (Electrospray Ionization, ESI) a Koichimu Tanakaovi za rozvoj mäkkej laserovej desorpcie (Soft Laser Desorption, SLD). Tanaka zistil, že ak sa vzorka pred ožiarením laserom zmieša s vhodnou matricou (najčastejšie deriváty kyseliny škoricovej a benzoovej), tá sa prvotne ionizuje a následne odovzdá časť svojej energie molekule skúmanej vzorky, čím ionizuje aj molekuly, ktoré inak ionizujú veľmi neochotne alebo naopak, ionizujú za tvorby množstva malých fragmentov. Týmto položil základ matricou asistovanej laserovej ionizácie (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI), ktorá sa v súčasnosti stala kľúčovou technikou v analýze proteínov.

## PRINCÍPY ANALÝZY HMOTNOSTOU SPEKTROMETRIOU

Postup analýzy vzorky technikou MS pozostáva z troch základných krokov:

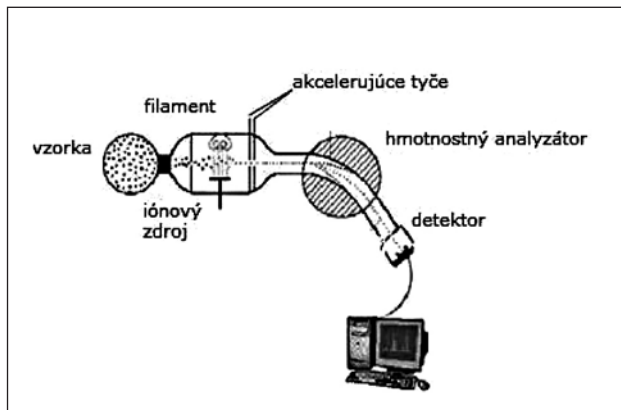
1. príprava vzorky pred analýzou
2. separácia analytov vhodnou separačnou technikou
3. samotná hmotnostná analýza.

Príprave vzorky je nutné venovať náležitú pozornosť, jej cieľom je vyextrahovať sledované analyty z pôvodnej vzorky (sliny, moč, krv) a prípadne veľké molekuly (proteíny) rozštiepiť vhodným enzýmom (najčastejšie trypsinom) na menšie fragmenty (peptidy) s hmotnosťou v rámci dynamického rozsahu prístroja.

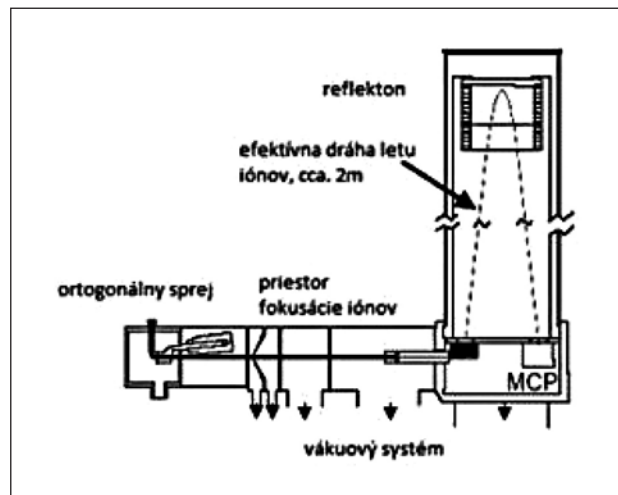
V prípade prípravy biologickej vzorky je nutné venovať pozornosť aj samotnému pestovaniu a izolácii buniek a mikroorganizmov (Basile, 2011). Vzhľadom na množstvo a rôznorodosť extrahovaných analytov je nutné ich od seba oddeliť, nakoľko spektrum zmesi by bolo veľmi komplikované až prakticky neinterpretovateľné. K najčastejšie používaným separačným technikám patrí elektroforéza a chromatografia.

Hmotnostný spektrometer je prístroj vhodný na stanovenie akéhokoľvek analytu, ktorý je schopný tvoriť ióny (katióny alebo anióny). Grafické zobrazenie pomerného zastúpenia jednotlivých iónov, ktoré vznikli ionizáciou molekúl analytu pri daných experimentálnych podmienkach sa nazýva hmotnostné spektrum. Hmotnostný spektrometer produkuje prúd iónov vzorky, ktoré separuje podľa ich efektívnych hmotností  $m/z$  ( $m$  – hmotnosť,  $z$  – náboj) a určuje ich relatívne zastúpenie a množstvo (Forner, 2007).

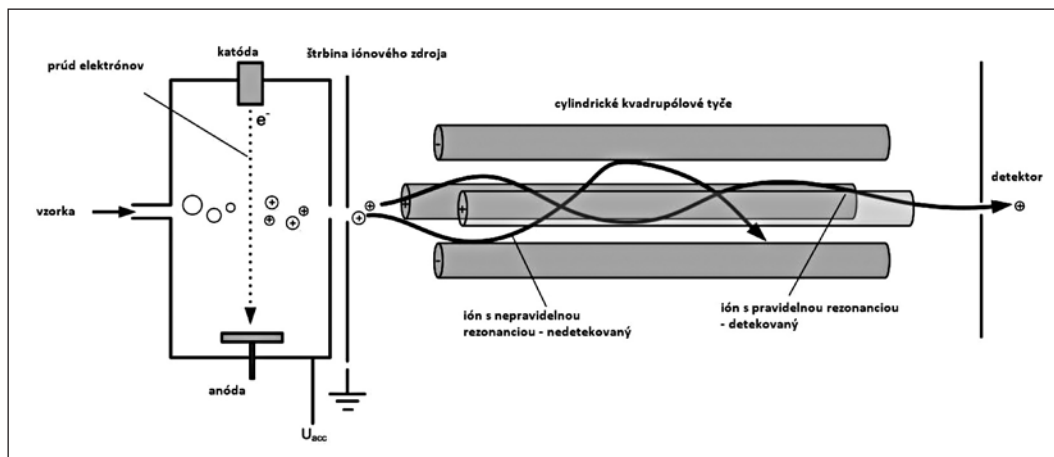
Klasický hmotnostný spektrometer (obr. 1) sa skladá z troch základných jednotiek: ionizačného zdroja, hmotnostného analyzátoru a detektora. Nakoľko hmotnostný spektrometer je schopný detekovať iba nabitý analyt v plynnom skupenstve, je nutné ich oddeliť od roztoku, v ktorom sú zvyčajne do prístroja vnášané. Tento proces sa deje v ionizačnom zdroji, kde sa formujú ióny typické pre danú molekulu. Techniky ionizácie sú kľúčové pri výbere vzoriek, ktoré môžu byť analyzované pomocou hmotnostnej spektrometrie. Najstaršia technika ionizácie je založená na bombardovaní molekuly prúdom elektrónov, tzv. elektrónová ionizácia (Electron Impact, EI) a je prevažne používaná pri analýze plynných látok. Ióny sa tvoria z molekuly  $M$  odštiepením elektrónu za vzniku  $[M^+]$  katiónu alebo prijatím elektrónu za vzniku  $[M^-]$  aniónu. Hmotnosť takýchto iónov je prakticky identická s hmotnosťou pôvodnej molekuly, nakoľko hmotnosť elektrónu je v tomto prípade zanedbateľná, preto sa nazývajú aj molekulové ióny. Jej nevýhodou je, že molekuly často fragmentujú na veľký počet iónov a v spektre často absentuje molekulový ión, je to tzv. tvrdá ionizačná technika. Výhodou je, že poskytuje reprodukovateľné spektrá a tým umožnila vznik knižníc s uloženými EI spektrami rôznych analytov, čím značne uľahčuje identifikáciu neznámych vzoriek hlavne v kriminalistike a dopingu. Pri chemickej ionizácii (Chemical Ionization, CI) je molekula ionizovaná kolíziou s iónmi vhodného reagenčného plynu, najčastejšie metánu, amoniaku, izobutánu, ktoré sa vytvorili ionizáciou elektrónmi. Takto sa často získajú aj ióny, ktorých hmotnosť je rozdielna od hmotnosti pôvodnej molekuly, tzv. kvázimolekulové



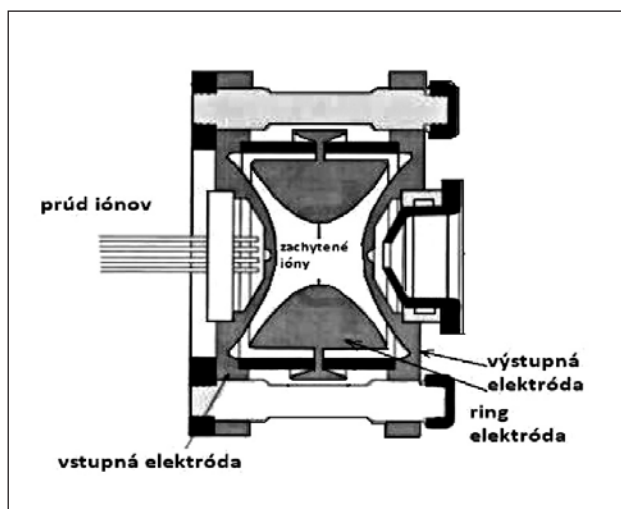
Obr. 1. Schéma hmotnostného spektrometra



Obr. 2. Schéma hmotnostného spektrometra s hmotnostným analyzátorom typu TOF



Obr. 3. Schéma hmotnostného spektrometra s hmotnostným analyzátorom typu kvadrupól



Obr. 4. Schéma hmotnostného spektrometra s hmotnostným analyzátorom typu iónová pasca

ióny. Tieto poskytujú informáciu o štruktúre molekuly. Výhodou tejto ionizácie sú jednoduchšie spektrá a menšia fragmentácia analytu. Nevýhodou je, že tvorba fragmentov závisí od druhu použitého plynu. Ďalšou možnosťou ionizácie molekuly je jej rozpustenie vo vhodnej matici (glycerole, dietánamíne) a umiestnenie na terčik s následným bombardovaním časticami (Particle Beam, PB), atómami, neutrálnymi molekulami alebo iónmi. Jej veľkou výhodou je schopnosť ionizovať aj menej stabilné molekuly. Nahradením bombardovania časticami za laser vzniká technika MALDI, ktorá je veľmi šetrnou ionizačnou technikou a umožňuje ionizovať aj tak veľké a termolabilné zlúčeniny, akými sú proteíny a oligosacharidy. Prevratom v ionizačných technikách bolo zavedenie ionizácie pri atmosférickom tlaku. Najčastejšie používanou je technika ESI, ktorá kombináciou napätia, teploty a sušacieho plynu po-

stupne z kvapiek rozpúšťadla nesúceho vzorku odparí rozpúšťadlo a vytvorí nabitý prúd iónov analytov. Touto technikou sa tvoria niekoľkonásobne nabité fragmenty, takže umožňuje detekciu vysokomolekulových látok bežnými hmotnostnými spektrometrami, nakoľko pomer  $m/z$  je zvyčajne v rozsahu 2 000 – 3 000 Da. Táto technika patrí k tzv. „mäkkým“ ionizačným technikám a našla široké uplatnenie v analýze biomolekúl s citlivosťou na úrovni pikomólov ( $10^{-12}$ ) a femtomólov ( $10^{-15}$ ), pri analýze peptidov dokonca dosahuje citlivosť na úrovni attomólov ( $10^{-18}$ ) (Sunia, 2002). Dopĺňa ju technika chemickej ionizácie pri atmosférickom tlaku (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI), ktorá na ionizáciu vzorky využíva okrem tepla aj elektrický výboj, ktorým ionizuje aj menej polárne analyty (Strathmann, 2011, <http://www.research.uky.edu/core/massspec/jeolioniz.pdf>).

## NAJČASTEJŠIE POUŽÍVANÉ TYPY HMOTNOSTNÝCH ANALYZÁTOROV

Po ionizácii ióny vzorky vstupujú do hmotnostného analyzátoru, ktorý ich delí podľa efektívnej hmotnosti  $m/z$  pomocou elektrického a magnetického poľa. Medzi najčastejšie používaný analyzátor patrí časovo preletový analyzátor (Time Of Flight, TOF) kde je separácia iónov založená na rôznych rýchlostiach iónov po akcelerácii a meria sa čas preletu týchto iónov zo zdroja do detektora (obr. 2). Ióny s nižším pomerom  $m/z$  letia rýchlejšie ako ióny s vyšším pomerom  $m/z$ . Pre zvýšenie rozlíšenia sa používa reflektor (tzv. iónové zrkadlo), ktorý kompenzuje počiatočnú rôznosť kinetickej energie iónov s rovnakým pomerom  $m/z$  pri výstupe z iónového zdroja. Výhodou tohto analyzátoru je jeho široký dynamický rozsah, vysoká citlivosť, nevýhodou nižšia reprodukovateľnosť meraní. Zvyčajne sa spája s ionizačnou technikou MALDI a v tejto kombinácii je schopná stanoviť aj hmotnosť celej makromolekuly bez predchádzajúceho štiepenia, napríklad v analýze intaktných proteínov (Aebersold, 2003; Patterson, 2003).

Kvadrupólový hmotnostný analyzátor je zložený zo 4-roch (v novších zariadeniach 6-tich alebo 8-mich) proti sebe stojacich tyčí, na ktoré sa privádza kombinácia jednosmerného a striedavého napätia (obr. 3). Ión, ktorý vletí do tohto prostredia môže oscilovať pravidelne a prejde analyzátorom do detektora alebo nepravidelne a dostane sa do kolízie s tyčami. Potenciály na tyčiach je možné nastaviť tak, že v danom časovom okamihu prejdú analyzátorom len ióny s určitou efektívnou

hmotnosťou. Táto črta predurčuje tento analyzátor na stanovenie kvantity sledovaného analytu, jeho nevýhodou je pomerne slabé rozlíšenie (Wysocki, 2005).

Tretím najčastejšie používaným typom hmotnostného analyzátoru je iónová pasca (Ion Trap, IT). V nej sú ióny ukladané do evakuovanej dutiny (pasce) a pomocou vhodných polí sú vypudzované na základe ich efektívnych hmotností (obr. 4). Ich výhodou je vysoká citlivosť a možnosť niekoľkonásobnej fragmentácie iónov priamo v pasci za tvorby  $MS^n$  spektier (Wysocki, 2005). Oba typy analyzátorov, kvadrupól aj IT sú zvyčajne spájané s ionizačnou technikou ESI (Aebersold, 2003; Patterson, 2003).

Z hmotnostného analyzátoru sú ióny ďalej smerované do detektora. Počet iónov s rovnakou efektívnou hmotnosťou je potom v detektore spracovaný konverovaním iónového náboja na signál, ktorý je následne zosilnený. Najčastejšie používaným typom detektora je elektrónový násobič, ďalej sa používa scintilátor aj detektor typu tzv. Faradayova šálka. V dôsledku získania veľkého množstva multidimenzionálnych dát z hmotnostných spektrometrov množstvom spektier sú výsledky analýzy spracovávané počítačovými softwermi, ktoré vyhodnocujú získané dáta, triedia ich a porovnávajú s databázami spektier (Diamandis, 2004).

## APLIKÁCIA HMOTNOSTNEJ SPEKTROMETRIE V PRAXI

V medicínskej diagnostike nachádzajú svoje uplatnenie hlavne tandemové hmotnostné spektrometre zložené prevažne z dvoch alebo troch hmotnostných analyzátorov rôznych typov za sebou, kombinujúc tak ich výhody. Napríklad kombinácia kvadrupólu a časovo preletového analyzátoru poskytuje nielen vysokú citlivosť a dynamický rozsah dôležité pre identifikáciu látok, ale aj možnosť ich kvantifikácie. Spojením troch analyzátorov za sebou, kde sa prvý, najčastejšie kvadrupól, použije na vyselektovanie vybraného iónu zo zmesi, druhý slúži ako kolízna cela, kde sa vyselektovaný ión ďalej fragmentuje a v treťom analyzátoe sa separujú takto fragmentované ióny podľa pomeru  $m/z$ , získavame  $MS/MS$  analýzu. Táto poskytuje informácie o štruktúre molekuly.

Myšlienka použiť hmotnostnú spektrometriu ako diagnostický nástroj v medicíne sa objavuje okolo roku 1966 v spojení s plynovou chromatografiou na identifikáciu organických acidúrií u detí (Penescu, 2009). Postupne s komerčnou dostupnosťou týchto

prístrojov a schopnosťou identifikovať makromolekuly nastal rozvoj proteomiky, systematickej analýzy proteínov za účelom stanovenia ich identity, kvantity a funkcie (Han, 2008; Peng, 2001). Aj keď sa spojenie MALDI-TOF MS stáva pomaly synonymom proteomiky, táto technika sa úspešne využíva aj v analýze lipidov, kde dala možnosť vzniku lipidomiky (Schiller, 2007). Spojením kvapalinovej chromatografie (Liquid Chromatography, LC) s MALDI-TOF Merchant a kol. (2009) identifikoval 3 peptidy, ktorých množstvo v moči klesá s poklesom funkcie obličiek a naopak 3 peptidy, ktorých množstvo stúpa. Petricoin a kol. (2002) navrhli použitie MS v diagnostike karcinómov založené na hľadaní rozdielov v proteomickom profile séra zdravých a chorých jedincov. Pomocou MS s povrchom uľahčenou laserovou desorpciou/ionizáciou s TOF hmotnostným analyzátorom (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization, SELDI TOF-MS) boli objavené v sére chorých pacientov nové biomarkery karcinómu obličiek (Engwegen, 2009). Vďaka MS boli najnovšie objavené aj nové biomarkery pre diabetes (Girolamo, 2012) a kardiovaskulárne ochorenia (Rhee, 2012). Organizácia Human Proteome Organisation (HUPO) sa zameriava na identifikáciu proteínov vo všetkých telových tekutinách za účelom nájdenia nových biomarkerov v diagnostike rôznych ochorení. Ďalšia možnosť využitia MS, okrem včasnej diagnostiky, spočíva v monitoringu pacientov s karcinómom po počiatočnej, najčastejšie chirurgickej liečbe za účelom predídenia relapsu (Diamandis, 2004). Zaujímavou možnosťou využitia MS je identifikácia baktérií. Vďaka novej inštrumentácii biotyperov je možné naniesť celú baktériu na terčík a MALDI TOF technikou identifikovať druh baktérie (Veen, 2010). V porovnaní s mikrobiologickými metódami je technika MS pomerne rýchla a vyhodnotenie je vďaka vyhodnoteniu počítačovým algoritmom objektívnejšie. Veľkou výhodou MS diagnostiky je jej relatívna neinvazívnosť, preto je ju možné využiť na sledovanie priebehu liečby pri klinických štúdiách, napríklad pri sledovaní distribúcie liečiva v organizme počas doby podávania, jeho prípadné hromadenie sa a pretrvávanie v organizme po ukončení terapie. Nezastupiteľné postavenie má v dnešnej dobe MS aj pri vývoji nových liečiv a kontrole ich čistoty. Zavedenie nového, imunosupresívneho liečiva – sirolimus (rapamune) do transplantácie bolo možné vďaka vývoju LC-MS/MS techník, ktoré sa v klinickej štúdiu použili na sledovanie hladiny liečiva v krvi a súbežnú interakciu s inými podávanými liečivami. Veľkou vý-

hodou MS je možnosť používania izotopicky značených zlúčenín, pričom sa na izotopické značenie najčastejšie používajú izotopy  $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  a  $^{18}\text{O}$  (Gingras, 2005). Podanie syntetického kortizolu, v ktorom je niekoľko atómov vodíka nahradeného deutériom, umožní jeho rýchle rozlíšenie technikou MS, aj napriek tomu, že obidva kortizoly majú rovnaké chemické a fyzikálne vlastnosti (Vogesser, 2007). Rozlíšenie je možné vďaka ich rozdielnej molekulovej hmotnosti (363 Da versus 366 Da) Izotopicky značené zlúčeniny spolu s MS s využitím kvadrupólu je možné použiť aj na stanovenie absolútneho množstva značených proteínov a fosfoproteínov v bunkových lyzátoch (Gerber, 2003).

## ZÁVER

Hmotnostná spektrometria s veľkou variabilitou ionizačných techník a hmotnostných analyzátorov je schopná poskytnúť celý rad informácií o štruktúre a množstve sledovaných látok, či sú to molekuly s nízkou hmotnosťou (napr. niektoré liečivá, metabolity) alebo komplikované vysokomolekulové látky (napr. proteíny, oligosacharidy). MS má svoje opodstatnenie tak v medicínskom výskume (napr. hľadanie nových biomarkerov ochorení, výskum nových liečiv) ako aj v bežnej praxi (napr. monitoring markerov rôznych ochorení, sledovanie priebehu liečby a účinnosti podaných liečiv), čo v konečnom dôsledku môže prispieť k zlepšeniu a skvalitneniu života pacientov. Medzi pozitíva MS patrí, že na analýzu analytov je potrebné malé množstvo vzorky a analýza sa uskutočňuje v materiáloch, odber ktorých je pacientom pomerne dobre znášaný (napr. krv, moč, sliny). K ďalším výhodám patrí, že vyhodnotenie meraní je uskutočniteľné v pomerne krátkom čase od odberu vzorky a do meracích postupov je možné zaviesť automatizáciu. Medzi jej negatíva patrí nielen pomerne vysoká prvotná investícia na zakúpenie prístroja, ale aj pomerne náročná obsluha. Výsledky merania sú veľmi citlivé a závislé na technickom stave prístroja, keďže aj jeho slabé znečistenie dokáže výrazne ovplyvniť reprodukovateľnosť meraní.

Viac informácií o prístrojovom vybavení (prístroje boli zakúpené z projektov CEMIO a CEEP) na Ústave lekárskej a klinickej biofyziky LF UPJŠ, ako aj možnostiach ich využitia nájdete na: <http://www.upjs.sk/lekarska-fakulta/ustav/lekarska-a-klinicka-biofyzika/vyskum/>.

## POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla pri riešení projektov CEMIO: ITMS kód: 26220120058 (50 %) a CEEP: ITMS kód: 26220120067 (50 %).

## LITERATÚRA

- [1] AEBERSOLD, R., MANN, M., 2003: Mass spectrometry-based proteomics, *Nature*, 422, 198–207.
- [2] BASILE, F., 2011: Rapid Sample Preparation for Microorganism Analysis by Mass Spectrometry, Copyright © 2011 American Chemical Society, ISBN13: 9780841226128, kap. 2, 5–34.
- [3] DIAMANDIS, E. P., 2004: Mass Spectrometry as a Diagnostic and a Cancer Biomarker Discovery Tool, *Molecular & Cellular Proteomics*, 3.4, 367–378.
- [4] ENGWEGEN, J. Y., MEHRA, N., HAANEN, J. B., SCHELLENS, J. H., VOEST, E. E., BEIJNEN, J. H.: Identification of two new serum protein profiles for renal cell carcinoma., *Oncol Rep.*, 22, 2, 401–408.
- [5] FORNER, F., FOSTER, L., TOPPO, S., 2007: Mass Spectrometry Data Analysis in the Proteomics Era, *Current Bioinformatics*, 2, 63–93.
- [6] GERBER, S. A., RUSH, J., STEMMAN, O., KIRSCHNER, W., GYGI, S. P., 2003: Absolute quantification of proteins and phosphoproteins from cell lysates by tandem MS, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100, 12, 6940–6945.
- [7] GINGRAS, A. C., AEBERSOLD, R., RAUGHT, B., 2005: Advances in protein complex analysis using mass spectrometry, *J. Physiol.*, 563.1, 11–21.
- [8] GIROLAMO, F. D., CHIERICO, E. D., CAENARO, G., LANTE, I., MURACA, M., PUTIGNANI, L., 2012: Human serum proteome analysis: new source of markers in metabolic disorders, *Biomarkers in Medicine*, 6, 6, 759–773.
- [9] MERCHANT M. L., PERKINS B. A., BORATYN, G. M., FICOCIELLO, L. H., WILKEY, D. W., BARATI, M. T., BERTRAM, C. C., PAGE, G. P., ROVIN B. H., WARRAM, J. H., KROLEWSKI, A. S., KLEIN, J. B.: *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2009, 20, 9, 2065–2074.
- [10] PATTERSON, S., AEBERSOLD, R., 2003: Proteomics: the first decade and beyond. *Nature Genetics Supplement*, 33, 311–323.
- [11] PENG, J., GYGI, S. P., 2001: Proteomics: the move to mixtures, *J. Mass Spectrom.*, 36, 1083–1091.
- [12] PENESCU, M., SISU, I., PURCAREA, V. L., SISU, E., 2009: The application of mass spectrometry for identifying modern biochemical markers of nephropathies, *Farmacia*, 57, 6, 667–680.
- [13] RHEE, E. P., GERSZTEN, E., 2012: Metabolomics and cardiovascular biomarker discovery, *Clinical Chemistry*, 58, 1, 139–147.
- [14] SCHILLER, J., SUSS, R., FUCHS, B., MULLER, M., ZSCHORNIG, O., ARNOLD, K., 2007: MALDI-TOF MS in lipidomics. *Front Biosci*, 12, 2568–2579.
- [15] VAN VEEN, S. Q., CLAAS, E. C. J., 2010: High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories, *J. Clin. Microbiol.*, 48(3), 900–907.
- [16] VOGESER, M., KOBOLD, U., SEIDEL, D., 2007: Mass spectrometry in medicine – the role of molecular analyses. *Dtsch. Arztebl.*, 104, 31–32.

\* \* \*

Korešpondujúci autor:

RNDr. Soňa Tkáčiková, PhD.

Ústav lekárskej a klinickej biofyziky

UPJŠ, Lekárska fakulta

Tr. SNP 1, 040 11 Košice

e-mail: sona.tkacikova@upjs.sk

# INTERLEUKÍN 6, PROKALCITONÍN A C-REAKTÍVNY PROTEÍN V KLINICKO-BIOCHEMICKEJ DIAGNOSTIKE INFEKCIE

Renáta Lenártová<sup>1</sup>, Beáta Hubková<sup>2</sup>, Marcela Valko-Rokytovská<sup>2</sup>  
Juraj Guzy<sup>2</sup>, Mária Mareková<sup>2</sup>

<sup>1</sup>LABMED, a.s., Srbská 4, 040 01 Košice

<sup>2</sup>Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF v Košiciach  
Tr. SNP 1, 040 01 Košice

Kontakt: maria.marekova@upjs.sk

## SÚHRN

Vyšetrili a analyzovali sme vybrané proteínové markery: interleukín (IL-6), prokalcitonín (PCT) a C-reaktívny proteín (CRP) u onkologických, kriticky chorých a pacientov s akútnou pankreatitídou. Monitorovanie hladín IL-6, CRP a PCT pri prijatí, po 24 hodinách a po 48 hodinách pri sledovaní pacienta prispieva k rýchlejšiemu stanoveniu diagnózy, čím sa zvyšuje možnosť efektívnej a racionálnej terapie. Najvhodnejšie je súbežné stanovenie PCT s ďalšími markermi, napr. CRP, IL-6, ktoré zvyšujú ich diagnostickú výťažnosť. Správna interpretácia nameraných hodnôt IL-6, PCT a CRP a ich dynamického pohybu môže minimalizovať diagnostické pochybenie.

**Kľúčové slová:** prokalcitonín, interleukín IL-6, C-reaktívny proteín, systémová bakteriálna infekcia, febrilná neutropénia, sepsa, akútna pankreatitída

## SUMMARY

Selected protein markers: interleukin (IL-6), procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) in oncology patients, critically ill patients and patients with acute

pancreatitis were detected and analyzed. Levels of IL-6, CRP and PCT were monitored immediately following admission to the hospital, 24 hour and 48 hour after admission, contributing to more rapid diagnosis, which increases the possibility of an effective and rational therapy. The most convenient is the concurrent determination of PCT with other markers, for example with CRP and IL-6, which increase the diagnostic yield. The correct interpretation of the measured values of IL-6, PCT and CRP and their dynamic movement should minimize the diagnostic error.

**Keywords:** procalcitonin, interleukin IL-6, C-reactive protein, systemic bacterial inflammation, febrile neutropenia, sepsis, acute pancreatitis

## ÚVOD

Trvalé úsilie pri odhalení prítomnosti infekcie je zásadným predpokladom pri stanovení presnej diagnózy, ale aj na dosiahnutie čo najlepšieho klinického výsledku. Nález infekcie a jej zdroja musí byť nasledovaný rýchlou terapeutickou intervenciou, cieľom ktorej je odstránenie, zabránenie vzniku orgánovej dysfunkcie alebo ďalšieho zhoršovania stavu. Správna



interpretácia už minimálnych príznakov v počiatočných štádiách sepsy výrazne ovplyvňuje včasnú diagnostiku infekcie. Včasná diagnostika sepsy a identifikácia zdroja infekcie sú základnými predpokladmi začatia účinnej terapie s cieľom zabrániť zhoršeniu stavu, resp. rozvoju orgánovej dysfunkcie a smrti.

Práca je zameraná na klinicko-biochemickú diagnostiku potvrdzujúcu a monitorujúcu systémovú bakteriálnu infekciu v troch vybraných súboroch pacientov s rozličnými diagnózami: súbor detských onkologických pacientov s febrilnou neutropéniou, súbor kriticky chorých pacientov a súbor chirurgických pacientov (akútna pankreatitída). U všetkých pacientov boli vyšetrené (LABMED a. s.) a štatisticky vyhodnotenú vybrané zápalové markery: interleukín (IL-6), prokalcitonín (PCT) a C-reaktívny proteín (CRP).

## SÚBOR CHORÝCH A METÓDY

### Súbor chorých

Pacienti boli rozdelení do troch súborov, podľa oddelenia na ktorom boli hospitalizovaní. Prvý súbor tvorilo 25 pacientov hospitalizovaných na Oddelení detskej onkológie a hematológie DFN a UPJŠ LF v Košiciach; pacienti boli prijatí s diagnózou febrilnej neutropénie. Do druhého súboru bolo zaradených 50 pacientov hospitalizovaných v kritickom stave na Oddelení anestéziológie a intenzívnej medicíny UNLP a UPJŠ LF v Košiciach. 35 pacientov hospitalizovaných na II. Chirurgickej klinike UNLP a UPJŠ LF v Košiciach s diagnózou akútnej pankreatitídy tvorilo tretí súbor.

### Odber krvi

Vzorky krvi boli odobraté počas vyšetrenia u hospitalizovaných pacientov. Krv bola odobratá do štandardných odberových skúmaviek (Li-heparínová,  $K_2$  a  $K_3$ -EDTA) alebo skúmaviek obsahujúcich separačný gél.

### Vyšetované parametre

#### *Interleukín IL-6*

Imunochemické *in vitro* kvantitatívne stanovenie interleukínu IL-6 bolo realizované elektrochemiluminiscenčnou imunoanalýzou – ECLIA. Na kontrolu kvality bol použitý ElecsysPreciControl Multimarker 1 a 2 alebo ElecsysPreciControl IL-6 1a 2. Referenčné rozpätie: do 7 ng/l.

#### *Prokalcitonín*

PCT bol stanovený imunochemicky: elektrochemiluminiscenčnou imunoanalýzou – ECLIA. Kontrola kvality: Elecsys BRAHMS PreciControl PCT 1 and 2. Kontroly pre rôzne koncentračné rozsahy boli merané v singletoch raz za 24 hodín. Hodnoty <0,5 ng/ml predstavujú nízke riziko ťažkej sepsy a/alebo septického šoku a hodnoty >2,0 ng/ml predstavujú vysoké riziko ťažkej sepsy a/alebo septického šoku.

#### *C-reaktívny proteín*

Diagnostická súprava: CRP Imunoturbidimetric Assay (RANDOX). CRP vo vzorke reagovala so špecifickou protilátkou za vzniku precipitátu, ktorý sa meria turbidimetricky pri 340 nm. Referenčné hodnoty: u dospelých jedincov <5 mg/l, u novorodencov (1 – 5 dní) <10 mg/l.

### Štatistické vyhodnotenie

Pri štatistickom vyhodnotení vzoriek sa stanovili hodnoty korelácie medzi jednotlivými parametrami pri prijatí pacientov na oddelenie navzájom, použitím Pearsonovho korelačného koeficienta. Pre účely štatistického vyhodnotenia vzoriek sa stanovil počet fyziologických hodnôt sledovaných parametrov v jednotlivých súboroch pacientov pre každý parameter zvlášť. Pre vyhodnotenie pravdepodobnosti náhodného výskytu rozdielu v početnosti fyziologických hodnôt jednotlivých parametrov počas hospitalizácie bol použitý chí-kvadrátový štatistický test, vyjadrený formou  $p$  hodnôt (hladina významnosti, signifikancia, \* – pri  $p < 0,05$ , \*\* – pri  $p < 0,01$ , \*\*\* – pri  $p < 0,001$ ). Podobným spôsobom bola štatisticky vyhodnotená signifikancia početnosti fyziologických parametrov medzi jednotlivými kategóriami pacientov.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### Sledovanie vybraných proteínových markerov u detských onkologických pacientov

V rámci statimového biochemického vyšetrenia boli u 25 detských onkologických pacientov pri prijatí vyšetované a hodnotené parametre: IL-6, PCT a CRP. Vyšetrenia sa opakovali po 24 a 48 hodinách a pri každom výstupe teploty. Počet fyziologických a patologických hodnôt vyšetovaných analytov je sumarizovaný v tabuľke 1.

## **IL-6**

Iba jeden pacient mal hodnotu IL-6 pri prijatí < 7 pg/ml. Tento pacient po 24 hodinách mal hodnotu IL-6 zvýšenú šesťnásobne. Napriek tomu, že u 24 pacientov (z 25) bola zaznamenaná zvýšená hodnota IL-6, toto zvýšenie nemusí predstavovať začiatok rozvoja bakteriálnej systémovej infekcie. Priemerná hodnota IL-6 po prijatí pacientov na oddelenie bola 454,2 pg/ml čo je oproti fyziologickej hodnote 65-násobné zvýšenie. Po 24 hodinách došlo k takmer 50 % zníženiu hodnoty IL-6, čo sa zopakovalo aj pri ďalšom meraní (po 48 hodinách). Po 48 hodinách došlo u 100 % pacientov k poklesu hladiny IL-6. Tento fakt poukazuje na funkciu IL-6 ako alarmového markera s nutnosťou výberu ďalších vhodných markerov na monitorovanie stavu pacienta. Táto skutočnosť korešponduje so skutočnosťou publikovanou mnohými autormi, že interleukín IL-6 patrí medzi vysoko citlivé markery rozvíjajúcej sa bakteriálnej systémovej infekcie.

Počas intenzívnej protinádorovej liečby dochádza pravidelne počas dlhodobej neutropénie k syndrómu febrilnej neutropénie, ktorá je iniciálne štandardne riešená podávaním širokospektrálnych antibakteriálnych prípravkov (Secmeer a kol., 2007). U časti pacientov pretrváva horúčka ako často jediný symptóm infekcie počas obdobia neutropénie (Zivanovic a kol., 2010). Každú febrilnú neutropéniu je nevyhnutné individuálne posudzovať. V prípade perzistencie horúčky u rizikového pacienta sa prehodnocuje ATB terapia a zvažuje sa možnosť iných príčin horúčky. Jednou z častých príčin v tomto prípade je invazívna mykóza. Štandardným riešením tejto situácie je empirické podanie antimykotika (Ráčil a kol., 2010).

## **PCT**

U 11 pacientov sme zaznamenali hodnotu PCT  $\geq$  2, 0 ng/ml. Iba 4 pacienti mali po prijatí hodnotu PCT < 0,5 ng/ml. Najvyššie priemerné hodnoty PCT boli u pacientov pri prijatí, s následným poklesom po začatí úspešnej liečby. Priemerná hodnota PCT po prijatí bola 2,172 ng/ml, po 24 hodinách dochádza k jej poklesu na hodnotu 1,540 ng/ml. Začatie terapie aj bez výsledku hemokultivácie, ale odôvodnené zvýšenou hodnotou PCT bezprostredne po prijímaní pacienta na oddelenie významne znižuje riziko rozvoja systémovej bakteriálnej infekcie.

V porovnaní s ďalšími zápalovými markermi je prediktívna hodnota PCT v čase nástupu sepsy vyššia než CRP a IL-6. PCT je vysoko špecifický ale nedostatočne senzitivný marker sepsy u neutropenických pacientov,

najmä pri gram-pozitívnej bakteriémii (Heney a kol., 1992). Pre indukovanú syntézu PCT v priebehu septickej reakcie nie sú nevyhnutné leukocyty. Reakcia cytokínov a PCT u pacientov v aplastickej fáze potvrdzuje, že faktory stimulujúce tvorbu PCT nemusia byť tvorené leukocytmi (Hatzistilianou a kol., 2010). Monitorovanie hladiny PCT umožní včasnú detekciu infekčných komplikácií u imunosuprimovaných a leukopenických pacientov (Schuttrump a kol., 2003). Leukopénia redukuje vzostup prokalcitonínu (Bernard a kol., 1998; Ruokonen a kol., 1999). Detskí pacienti s onkologickým ochorením sú heterogénnou skupinou s rôznym stupňom imunodeficitu, rozdielnou onkologickou liečbou, jej vedľajšími účinkami, komorbiditou a ďalšími faktormi ovplyvňujúcimi vznik a priebeh infekcie (Penel a kol., 2004). Poznanie lokálnej epidemiológie infekcií u neutropenických pacientov je kľúčovým faktorom pre nastavenie iniciálnej liečby (Hughes a kol., 2002; Grawford, 2005).

## **CRP**

Hodnota CRP < 0,5 mg/l bola zaznamenaná iba u 5 pacientov (z 25) bezprostredne po ich prijímaní na oddelenie. Po 24 hodinách iba jeden pacient mal hodnotu CRP vo fyziologickom rozmedzí a po 48 hodinách všetci pacienti mali hodnotu CRP zvýšenú. Pretrvávanie alebo zvýšenie CRP svedčí o nutnosti zmeny ATB terapie, alebo o infekcieneznámej etiológii. U onkologických pacientov bol priemer hodnôt CRP pri prijatí, po 24 a 48 hodinách na približne rovnakej úrovni. Tento fakt však nevylučuje systémovú bakteriálnu infekciu. Klinicko-biochemická diagnostika CRP u pacientov s febrilnou neutropéniou neodráža závažnosť klinického stavu a tým aj stav rozvoja sepsy. Táto skutočnosť koreluje so špecifickým priebehom infekcie u týchto pacientov so sekundárnym imunodeficitom. Dosiahnuté výsledky vo vyšetřovanom súbore korelujú s výsledkami štúdií Hitoglou-Hatzi a kol. (2005), Hatzistilianou a kol. (2007) a Bele a kol. (2011).

Štatistickým vyhodnotením významnosti rozdielov IL-6, PCT a CRP Pearsonovým chí-kvadrátovým testom sme zistili u onkologických pacientov štatisticky významné zvýšenie vyšetřovanej hladiny PCT ( $p < 0,01$ ) a CRP ( $p < 0,05$ ) po 48 hodinách od prijatia. Rozdielne pôsobiace stimulačné faktory na uvoľnenie jednotlivých markerov majú význam na identifikáciu infekcie v rannom štádiu. Leukopenické obdobie pacientov po intenzívnej chemoterapii, alebo po BMT (bone marrow transplantation – transplantácia kostnej drene) je vysoko rizikové z hľadiska možného nástupu infekčných komplikácií (Blijlevens a kol., 2000). Je to

**Tab. 1. Početnosť fyziologických hodnôt vyšetovaných parametrov onkologických pacientov**

onkológia n = 25	IL-6 [pg/ml]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	1	3	5
počet patologických hodnôt	24	22	20
onkológia n = 25	PCT [ng/ml]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	15	17	24
počet patologických hodnôt	10	8	1
onkológia n = 25	CRP [mg/l]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	5	1	0
počet patologických hodnôt	20	24	25

obdobie, keď zlyhávajú klasické indikátory nástupu infekcie typu leukocytózy alebo horúčky.

PCT, CRP a IL-6 sú markery, ktoré neslúžia na náhradu jeden druhého. Kontinuálne meranie jednotlivých markerov zachytí nárast IL-6 ako skorého a citlivého markera zápalu a sepsy. PCT je vzhľadom na jeho neskorší nárast a dlhší polčas života potvrdením sepsy (Hitooglou-Hatzi a kol., 2005).

#### **Sledovanie vybraných proteínových markerov u kriticky chorých pacientov**

Tradičné klinické známky infekcie a rutinné laboratórne testy použité pri diagnostike laboratórnej infekcie a sepsy nie sú dostatočne výpovedné alebo chýbajú, hlavne u pacientov s imunodeficienciou. Problémy s definíciou a diagnostikou sepsy indikujú potrebu fokusovať biochemické mediátory, ktoré sú prítomné nielen pri zápalovej odpovedi na infekciu pri rôznych typoch zápalov, ale sú indikované aj pri prognóze ochorenia. Dôležité a potrebné je najst skorý

**Tab. 2. Početnosť fyziologických hodnôt vyšetovaných parametrov u kriticky chorých pacientov**

kriticky chorí, n = 50	IL-6 [pg/ml]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	0	0	1
počet patologických hodnôt	50	50	49
kriticky chorí n = 50	PCT [ng/ml]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	23	10	15
počet patologických hodnôt	27	40	35
kriticky chorí n = 50	CRP [mg/l]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	0	0	0
počet patologických hodnôt	50	50	50

marker na detekciu bakteriálnej infekcie predovšetkým pre odlišenie od vírusovej infekcie. Stanovenie markera musí byť vykonané rýchlym diagnostickým testom, jeho polčas rozpadu musí byť vhodný na denné monitorovanie posúdenia vývoja ochorenia a stavu pacienta.

V snahe čo najskôr identifikovať rozvoj infekcie bolo sledovaných množstvo ukazovateľov, ktoré sú súčasťou systémovej zápalovej reakcie. Pri interpretácii hladín cytokínov (napr. IL-6) je nutné mať na zreteli niekoľko faktorov, akými sú prítomnosť inhibítorov a antagonistov jednotlivých mediátorov, ktoré svojim účinkom významne modulujú výslednú inflamatórnu aktivitu organizmu (Černý a kol., 2005).

V rámci statimového biochemického vyšetrenia boli pri prijatí, po 24 a o 48 hodinách vyšetrené parametre: IL-6, PCT a CRP u 50 pacientov hospitalizovaných v kritickom stave na Oddelení anestéziológie a intenzívnej medicíny UNLP a UPJŠ LF v Košiciach. V tabuľke 2 je sumarizovaný počet fyziologických a patologických hodnôt vyšetovaných analytov.

### IL-6

U všetkých pacientov bola hodnota IL-6 >7 pg/ml. Priemerná hodnota IL-6 pri prijatí bola 320,2 pg/ml, čo je takmer 46-násobné zvýšenie oproti fyziologickej hodnote. Je potrebné si uvedomiť, že toto zvýšenie nemusí predstavovať začiatok rozvoja bakteriálnej systémovej infekcie. Vnímame to ako prejav SIRS (system inflammatory response syndrome – syndróm systémovej zápalovej odpovede) v organizme, ktorý z výsledkov

Tab. 3. Početnosť fyziologických hodnôt vyšetrovaných parametrov pacientov s akútnou pankreatitídou

chirurgia, n = 35	IL-6 [pg/ml]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	5	0	0
počet patologických hodnôt	30	35	35
chirurgia n = 35	PCT [ng/ml]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	21	17	21
počet patologických hodnôt	14	18	14
chirurgia n = 35	CRP [mg/l]		
	pri prijatí	po 24 hod.	po 48 hod.
počet fyziologických hodnôt	0	0	0
počet patologických hodnôt	35	35	35

stanovených parametrov nedokážeme prognosticky zhodnotiť. Po 24 hodinách bolo zvýšenie IL-6 najvýraznejšie, čo koreluje so skutočnosťou, že IL-6 reaguje citlivo na akúkoľvek zmenu odohrávajúcu sa v organizme. Aj keď u 18 pacientov bolo pri meraní po 24 hodinách zaznamenané zníženie hladiny IL-6, tieto hodnoty boli stále vysoko prevyšujúce referenčný interval.

Naše merania potvrdzujú, že priemerné hodnoty IL-6 u 50 kriticky chorých pacientov bezprostredne po prijatí boli značne zvýšené (46-krát), trend nárastu pokračoval aj v nasledujúcich 24 hodinách, kedy priemerná hodnota IL-6 bola 477,5 pg/ml, čo je 68-násobné zvýšenie oproti prijatiu a 1,5 násobné zvýšenie v rozpätí 24 hodín. Aj napriek týmto skutočnostiam nie je možné považovať zvýšenie hladín IL-6 za potvrdenie systémovej bakteriálnej infekcie. Podobné zvýšenie IL-6 u kriticky chorých popisuje Hotchkiss a Karl (2003).

### PCT

Podľa súčasných štúdií je nutné brať do úvahy indukciu prokalcitonínu aj v iných prípadoch, ako je prítomnosť infekcie – kardiogénny šok, veľké chirurgické zákroky zahrňujúce chirurgiu srdca, polytraumy, pankreatitída, popáleniny (Lenártová a kol., 2011). Diskusie mnohých konferencií o konsenze sepsy pri vybraných biochemických markeroch poukazujú na dostatok senzitivity, ale na nízku špecificitu (Hatzilianou a kol., 2010). V súčasnosti je PCT využívaný ako skorý a veľmi špecifický marker bakteriálnej infekcie.

Dvadsaťjeden pacientov v našom súbore malo hodnotu PCT nižšiu ako 2 ng/ml (*cutoff*). U kriticky chorých zaznamenávame najvýraznejšie zvýšenie PCT po 24 hodinách od prijatia pacienta. U 90 % pacientov boli po 24 hodinách zaznamenané patologické hodnoty prokalcitonínu, ktoré po 48 hodinách stále výrazne pretrvávali.

Prokalcitonín nie je iba špecifický marker infekcie, ale je vhodný aj na monitorovanie odpovede liečby

Tab. 4. Pearsonov korelačný test (vyhodnotenie hladín markerov po prijatí pacientov)

pacienti	onkológia n = 25			kriticky chorí n = 50			chirurgia n = 35		
	IL-6	PCT	CRP	IL-6	PCT	CRP	IL-6	PCT	CRP
IL-6	x	0,087	0,346*	x	-0,153	-0,141	x	0,063	0,158
PCT	0,087	x	0,211	-0,153	X	-0,040	0,063	x	0,253
CRP	0,346*	0,211	x	-0,141	-0,040	x	0,158	0,253	x

\* – p < 0,05

pacienta. Senzitivita a špecificita PCT pri systémových bakteriálnych infekciách je vyššia než pri CRP a ďalších proteínoch akútnej fázy (Schwarz a kol., 2000). Ak PCT klesá v prvých 24 hodinách o viac než 30 % iniciálnej hodnoty, antibiotická terapia je účinná a liečba infekcie je pod kontrolou. V našom súbore došlo k poklesu hodnoty PCT u 8 pacientov, čo je 16 % z celkového vyšetřovaného súboru. Vysoké alebo stúpajúce hladiny svedčia o bakteriálnej komplikácii a všeobecne o zlej prognóze pacienta. U nami sledovaných pacientov došlo po 24 hodinách k takmer k 2,6-násobnému zvýšeniu hodnoty stanovovaného markeru. Ak PCT stúpa, znamená, že ATB terapia musí byť zmenená. Identifikácia pacienta s bakteriálnou infekciou a sepsou na oddeleniach kriticky chorých pacientov je dôležitá v čo najkratšom čase pre samotné zahájenie terapie s cieľom zlepšenia celkovej prognózy pacienta. Po 48 hodinách bolo u väčšiny kriticky chorých pacientov pozorované zníženie hodnoty PCT, čo svedčí o efektívnosti začatej ATB terapie. Rýchly pokles hladiny poukazuje na ústup infekcie a priaznivú prognózu. Pri MODS (Multiorgan Dysfunction Syndrome – syndróm multiorgánovej dysfunkcie) a sepsy korelovala maximálna hladina prokalcitonínu so závažnosťou ochorenia. Za zlú prognózu pacienta je zodpovedný čas, počas ktorého zostáva hladina PCT zvýšená u pacientov, u ktorých bola sepsa potvrdená klinicky alebo pozitívnou kultiváciou krvi (Sinha a kol., 2011).

Stanovenie PCT poskytuje prvotnú informáciu, ktorá je dostupná pred znalosťou výsledkov hemokultivácie a umožňuje tak rýchle začatie antibiotickej terapie. Hodnoty PCT nad 1,5 ng/ml vykazujú u pacientov v intenzívnej starostlivosti 100 % senzitivitu a 72 % špecificitu. Uvedené parametre nemôžu jednotlivo spoľahlivo odlíšiť sepsu od iných príčin zápalovej reakcie a sú považované za súčasť celkového systematického hodnotenia pacientov. Sledovanie IL-6, CRP a PCT v danom čase je významnejšie, než izolované hodnoty. Prokalcitonín je najvhodnejší marker sepsy (Luzzani a kol., 2003). Jeho stanovenie je významnejšie, než stanovenie IL-6 a CRP.

### **CRP**

Stanovenie sepsy u kriticky chorých pacientov vychádza z prítomnosti známkov systémovej zápalovej odpovede organizmu, ktorá je sprevádzaná identifikovaným zdrojom infekcie a nálezom klinickej symptomatológie, ktorá zodpovedá prítomnosti infekcie. Využitie relevantného merateľného ukazovateľa, ktorý by spoľahlivo koreloval s prítomnosťou infekcie, by malo prispieť k dôkladnejšej diagnóze sepsy. Najmä hladiny

CRP a PCT dobre korelujú s intenzitou zápalovej odpovede a majú určitý význam pri sledovaní účinnosti nasadenej terapie.

Prokalcitonín sa javí ako výhodnejší v porovnaní s CRP v rýchlosti nástupu zmien v úvode zápalovej reakcie, rovnako pri jej odznievaní (Ruokonen a kol., 2002; Sabattini a kol., 2006). Túto skutočnosť potvrdzujú aj naše zistenia. Súčasné stanovenie PCT a CRP má výpovednejšiu hodnotu (Castelli a kol., 2004). Stále však prebiehajú diskusie medzi klinicko-biochemickým významom korelácie ich sérových hladín a stupňom sepsy. Predpokladáme, že koncentrácie PCT a CRP sú rozdielne u pacientov s infekciou, s rôznymi stupňami systémovej zápalovej odpovede a sepsy (Wanner a kol., 2000). Hodnota CRP nad 50 mg/l vykazuje 98,5 % senzitivitu a 75 % špecificitu pri odlíšení tzv. pravdepodobnej alebo jednoznačnej sepsy. Všetci prijatí pacienti (n = 50) mali hodnotu CRP zvýšenú nad fyziologickú hranicu (5 mg/l), pričom u 33 (66 %) pacientov bola hladina CRP zvýšená viac ako 10-násobne.

U kriticky chorých pacientov sú zvýšené hladiny CRP u pacientov s neutropéniou, avšak priebeh CRP sa zdá byť nezávislý na prítomnosti alebo neprítomnosti neutropénie (Póvoa a kol., 2011). Celkovo 76 pacientov bolo zaradených do štúdie Meynara a kol. (2011), 32 so sepsou a 44 so SIRS. Pacienti so sepsou boli chorľavejší pri prijatí a mali vyššiu mortalitu. CRP, PCT, IL-6 a LBP hladiny boli významne vyššie u pacientov so sepsou v porovnaní so SIRS. S úrovňami PCT < 2 ng/ml v prvých 24 hodinách po prijatí na JIS, bola sepsa prakticky vylúčená (negatívna prediktívna hodnota 97 %). Pri PCT > 10 ng/ml je sepsa s bakteriálnou infekciou veľmi pravdepodobná, (pozitívna prediktívna hodnota 88 %). Táto štúdia ukázala, že vyšetřenie PCT je oveľa užitočnejšie ako LBP (Lipopolysaccharide Binding Protein – proteín viažúci lipopolysaccharidy), CRP a IL-6 v rozlišovaní sepsy od SIRS (Meynar a kol., 2011).

Štatistickým vyhodnotením významnosti rozdielov IL-6, PCT a CRP Pearsonovým chí-kvadrátovým testom sme zistili u kriticky chorých pacientov štatisticky významné zvýšenie iba u vyšetřovanej hladiny PCT ( $p < 0,01$ ) po 24 hodinách od prijatia. Koncentrácia prokalcitonínu vzrastá po 2–6 hodinách od vyvolania jeho tvorby, vrcholí po 6–14 hodinách, keď sa napr. u pacienta so septickým šokom môže zvýšiť na 1000-násobok a trvá 8–24 hodín. V porovnaní s inými markermi PCT vrcholí po tumor nekrotizujúcom faktore alfa (TNF-alfa – tumor necrosis factor alfa; 90 min.) a IL-6 (3 hod.). Cytokíny sa vracajú na pôvodnú hladinu už po 6–8 hodinách. CRP sa zvyšuje po 12–24 hodinách

a jeho zvýšenie trvá 20 – 72 hodín. Zvýšenie CRP môže perzistovať 3 – 7 dní. Je to dlhšia doba, než v prípade PCT. Jeho hladina sa vracia k norme za 2 – 3 dni. PCT reaguje rýchlejšie než CRP, ešte pred manifestáciou infekčných príznakov. Monitorovanie CRP je dôležité hlavne v prípadoch, keď hladina PCT nestúpa. Súvislý monitoring pacienta pri sledovaní rizika sepsy môže viesť k rýchlejšiemu a špecifickému testovaniu a tým k rýchlejšej, racionálnejšej liečbe (Luzzani a kol., 2003).

Diagnostický algoritmus uprednostňuje kombinované stanovenie PCT a CRP a môže byť cenným nástrojom na predikciu predčasného vzniku sepsy (Liu a kol. 2010; Reinhart a Meisner, 2011).

### **Sledovanie vybraných proteínových markerov u chirurgických pacientov**

Včasná diagnóza a vhodná klasifikácia sú prvým a hlavným predpokladom pre voľbu racionálneho a efektívneho postupu u chorých s akútnou pankreatitídou. Zatiaľ čo ľahké formy prebiehajú nekomplikovane a vedú k rýchlej úprave stavu (štandardná infúzna a spasmolytická liečba), ťažké formy ochorenia je nevyhnutné považovať napriek všetkým pokrokom modernej medicíny za prognosticky veľmi závažné. Rozsiahle experimentálne štúdie priebehu a liečby týchto foriem akútnej pankreatitídy priniesli síce mnoho zaujímavých poznatkov a sľubných výsledkov, ale bohužiaľ, len málo z nich sa ukázalo skutočne prínosných pre klinickú prax. Je dôležité si uvedomiť, že práve včasné zahájenie kvalitnej intenzívnej protišokovej liečby významne spolurozhoduje o rozsahu zmien v pankreatickej oblasti a o výskyte neskorších septických komplikácií.

Dôležitým a závažným rizikovým faktorom u pacientov s akútnou nekrotizujúcou pankreatitídou je infekcia (Riche a kol., 2003). PCT a IL-6 boli zvýšené v sére pacientov, u ktorých sa vyvíjala nekróza. U týchto pacientov je odporúčané systematické použitie širokého spektra ATB. Na druhej strane používanie ATB môže vyvolať sériu nežiaducich účinkov. Pre zlepšenie účinku profylaktickej ATB terapie sa javí monitorovanie profilu: IL-6, PCT a CRP. Stanovenie týchto markerov poslúži na odlíšenie pacientov u ktorých sa vyvíja infekcia nekrózy od tých pacientov, u ktorých infekcia nie je prítomná.

Zápalové markery (IL-6, PCT a CRP) boli merané pri prijatí a po 24 a po 48 hodinách v súbore 35 pacientov, ktorí boli hospitalizovaní na II. Chirurgickej klinike UNLP a UPJŠ LF v Košiciach. Pacienti boli prijatí na kliniku s diagnózou akútnej pankreatitídy. Sumarizovaný počet fyziologických a patologických hodnôt vyšetřovaných parametrov je v tabuľke 3.

### **IL6**

Zvýšenie hladiny IL-6 pri prijatí bolo pozorované u 90 % pacientov a následne po 24 hodinách u 100 % sledovaných pacientov bola hladina IL-6 > 7 pg/ml. Tento trend po 48 hodinách nepozorujeme, keďže u 23 pacientov dochádza k zníženiu hladiny IL-6, ale stále sú všetky hodnoty nad referenčný interval. U pacientov s akútnou pankreatitídou zaznamenávame zvýšenie IL-6 bez výraznej kinetiky po 24 a 48 hodinách. Pankreatická infekcia a sepsa sú závažnými komplikáciami akútnej pankreatitídy so signifikantným vplyvom na manažment a výsledok liečby.

Kombinácia IL-6 < 40 pg/l a PCT < 2 ng/ml nám lepšie identifikuje pacientov, u ktorých nie je riziko nekrotickej infekcie. Negatívna prediktívna hodnota bola 91 %, senzitivita a špecificita 75 % a 84 %. Hladiny prokalcitonínu a interleukínu IL-6 boli zvýšené veľmi včasne u pacientov, u ktorých sa vyvinula nekrotická infekcia. Kombinácia PCT a IL-6 je vhodná na identifikáciu skupiny pacientov, u ktorých sa ATB profylaxia ukázala ako neefektívna (Modrau a kol., 2005; Cetinkaya a kol., 2011).

### **PCT**

Iba 4 pacienti mali po prijatí na oddelenie zvýšenú hodnotu hladiny PCT (> 2 ng/ml), čo poukazuje na dôležitosť následného monitorovania PCT (24 hodín a 48 hodín). Po 24 hodinách bola hladina PCT zvýšená u 18 pacientov (51 %) a po 48 hodinách aj v dôsledku efektívnosti začatej terapie dochádza k poklesu PCT. Prokalcitonín bol mierne zvýšený po 24 hodinách bez výraznejších kinetických zmien po 48 hodinách. U tejto skupiny pacientov bolo zvýšenie PCT v 90 % po prijatí vo fyziologickom rozmedzí a po 24 hodinách stúpila pozitivita o 40 %, čo pretrvávalo aj po 48 hodinách.

U pacientov, kde sa infikácia nekrózy odhalil v skorom štádiu, jej zistenie koreluje s vysokým vzostupom PCT na rozdiel od sterilnej nekrózy a edematózneho pankreatitídy. V našom súbore bolo výrazné zvýšenie hladiny PCT (nad 50 % hodnoty po prijatí) pozorované u 28 pacientov (80 %). Elevácia prokalcitonínu je vysoká u pacientov s infikovanou nekrózou a súčasne vyvinutým MODS, v porovnaní s pacientmi s infikovanou nekrózou, kde je súčasne orgánové zlyhanie a absencia MODS alebo ide o pacientov so sterilnou nekrózou (Buttenschoen a kol., 2001; Černý a kol., 2005).

Prokalcitonín nemožno považovať za marker pankreatickej infekcie všeobecne. Je to marker infikovanej akútnej pankreatitídy, spojený s MODS a vyžadujúci okamžitú operačnú intervenciu. Môžeme ho však využiť (PCT) ako prognostický marker (Kylanpaa-Back a kol.,

2001). Hodnoty PCT u pacientov v našom súbore boli po prijatí vo fyziologickom rozmedzí, k ich nárastu došlo až po 24 hodinách, kedy sa jeho hladina zvýšila v priemere 3-násobne.

Monitoring PCT umožňuje včasné a spoľahlivé posúdenie klinicky relevantných infekcií pankreasu ako aj celkové posúdenie prognózy akútnej pankreatitídy. Tento testový parameter významne prispieva k zlepšeniu stratifikácie rizika pacientov na vznik závažnej komplikácie (Bettina a kol., 2007).

### CRP

Všetci pacienti mali po prijatí zvýšenú hodnotu CRP, pričom u 50% prijatých pacientov bola hodnota zvýšená viac ako 10-násobne. Tendencia vzostupu hladiny CRP po 24 hodinách a poklesu po 48 hodinách svedčí o prognóze pacienta. Hladinu CRP u 20 pacientov s akútnou pankreatitídou sledovali aj Imamura a kol. (2002), ktorí zistili výrazné zvýšenie hladiny CRP po nástupe pankreatitídy. Priemerná hodnota CRP u našich pacientov bola po prijatí 61,28 mg/l, po 24 hodinách 96,45 mg/l, pričom po 48 hodinách došlo k jej minimálnemu poklesu. Tento fakt nemusí potvrdzovať systémovú bakteriálnu infekciu, ale môže svedčiť o ohraňovanom zápale. Po 48 hodinách bol u 11. pacientov zaznamenaný nárast hladiny CRP nad 100 mg/l, čo sa prognosticky javí ako známka komplikácie a možný rozvoj infekcie na systémovú. Po 48 hodinách u 5 pacientov bolo pozorované narastajúce zvýšenie hladiny CRP. Tieto údaje nie je možné hodnotiť izolovane. Výpovednú diagnostickú a prognostickú hodnotu majú v sledovaní spoločne s PCT.

Štatistickým vyhodnotením významnosti rozdielov IL-6, PCT a CRP Pearsonovým chí-kvadrátovým testom sme zistili u pacientov s akútnou pankreatitídou štatisticky významné zvýšenie vyšetovaných hladín IL-6 a PCT. U IL-6 bolo štatisticky významné zvýšenie po 24 hodinách aj po 48 hodinách ( $p < 0,05$ ) a u PCT po 24 hodinách od prijatia ( $p < 0,001$ ) a po 48 hodinách od prijatia ( $p < 0,01$ ).

Bettina a kol. (2007) posudzovali PCT a CRP u desiatich pacientov. Jeden alebo kombinované predikcie dvoch hlavných komplikácií boli možné už na tretí a štvrtý deň po nástupe príznakov s citlivosťou a špecifickosťou 79% a 93% pre  $PCT \geq 3,8$  ng/ml, v porovnaní s 36% a 97% pre  $CRP \geq 430$  mg/l, respektíve ( $p = 0,002$ ). PCT hladiny odhalili len mierny nárast pacientov s pankreatitídou v neprítomnosti MODS ( $n = 7$ ), z ktorých všetci boli vyliečení bez nutnosti operačného zákroku. Hodnota PCT bola  $\geq 3,5$  ng/ml dva po sebe nasledujúce

dni a hodnota CRP bola vyššia  $\geq 430$  mg/l (Bettina a kol., 2007).

### Porovnanie špecificity sledovaných markerov zápalu

Porovnanie špecificity a senzitivity jednotlivých parametrov v diferenciálnej diagnostike sepsy versus nebakteriálny proces v troch súborech pacientov hospitalizovaných na oddelení onkologickom ( $n = 25$ ), oddelení anesteziologickom ( $n = 50$ ) a na chirurgickom oddelení ( $n = 35$ ) sme štatistickým vyhodnotením významnosti rozdielov jednotlivých analytov (IL-6, PCT a CRP) Pearsonovým chí-kvadrátovým testom zistili, že štatisticky najvýznamnejší rozdiel bol pri meraní interleukínu IL-6 u pacientov s akútnou pankreatitídou a kriticky chorých pacientov na hladine významnosti  $p < 0,001$ . Štatisticky významný rozdiel pri meraní prokalcitonínu bol zaznamenaný jednak u pacientov s akútnou pankreatitídou a onkologickými pacientmi ( $p < 0,01$ ), ale aj medzi pacientmi s akútnou pankreatitídou a kriticky chorými pacientmi ( $p < 0,001$ ). Pri meraní C-reaktívneho proteínu sa javí štatisticky významným porovnanie onkologických pacientov tak s kriticky chorými pacientmi, ako aj s pacientmi s akútnou pankreatitídou, obidva na hladine významnosti  $p < 0,001$ .

Hodnotením hladín zápalových markerov sme zistili log-normálnu distribúciu u IL-6 a PCT, zatiaľ čo hladiny CRP vykazovali normálnu distribúciu. Pri počte vzoriek  $n = 25$  sú korelácie nad 0,337 hodnotené ako štatisticky významné. Na základe hodnotenia Pearsonovým korelačným testom sme zistili, že štatisticky významná korelácia je iba u skupiny onkologických pacientov medzi hladinami IL-6 a CRP (tabuľka 4). Korelačný test potvrdzuje skutočnosť, že sledované parametre sú navzájom nezastupiteľné a že je dôležité sledovať a posudzovať ich tak samostatne, ako aj navzájom.

Otázka vhodných indikačných kritérií na vyšetrenie PCT, cytokínov a proteínov akútnej fázy nie je zatiaľ definitívne uzavretá. Najvhodnejšie je súbežné stanovenie PCT s ďalšími markermi, napr. CRP, IL-6, ktoré zvyšujú ich diagnostickú výťažnosť. Dôležitý je individuálny prístup k pacientovi s prihliadnutím na diagnostické skúsenosti lekára, dostupnosť jednotlivých metód a ekonomické možnosti.

### ZÁVER

Správna interpretácia nameraných hodnôt IL-6, PCT a CRP a ich dynamického pohybu môže minimalizovať diagnostické pochybenie. Vzhľadom ku krátkemu bio-

logickému polčasu sérového CRP, ale aj cirkulujúcich neutrofilných granulocytov je dôležité aj sledovanie iných zápalových markerov. Parametre opakovane stanovujeme v intervale 24, 48 hodín (u onkologických pacientov aj pri výstupe teploty) od iniciálnej analýzy. Potvrdilo sa, že monitorovanie prokalcitonínu u pacientov v aplastickej fáze je nevyhnutné z dôvodu jeho zvýšenia, ktoré predchádza klinickej manifestácii systémových infekčných komplikácií.

Interleukín-6 narastá ako prvý alarmový marker (objaví sa do 1 hod, polčas ~ 1 hod), CRP potvrdzuje nárast IL-6. Vzhľadom na dlhší polčas života CRP (~ 20 hod.) je dobrým komplementárnym markerom na prekonanie medzery, v ktorej IL-6 klesá (CRP sa objaví do 12–48 hod. po IL-6). IL-6 vo všetkých sledovaných súboroch zaznamenáva zvýšenie na rovnakej úrovni a reflektuje na úlohu IL-6 ako skorého citlivého markera vznikajúcej infekcie.

Prokalcitonín je vzhľadom na väčšiu špecificitu, neskorší nárast a dlhší polčas života (~ 24 hod.) potvrdením bakteriálnej sepsy. Jeho nárast môže poukazovať na ťažkú bakteriálnu sepsu skôr, ako kultivácia krvi. Môže tak dopĺňať vyšetrenie kultivácie krvi alebo môže priniesť pridanú informáciu v prípade falošne negatívneho výsledku kultivácie. Pri posudzovaní hodnôt sledovaných zápalových markerov u jednotlivých súborov pacientov bolo zaznamenané najvýraznejšie zvýšenie PCT u kriticky chorých pacientov, kde je najväčšie riziko vzniku sepsy a následne MODS. Najmenej bol PCT zvýšený u detských onkologických pacientov, kde však aj nepatrné zvýšenie má významnú diagnostickú hodnotu.

C-reaktívny proteín veľmi dynamicky reaguje na zápalovú reakciu v organizme, ktorá môže byť lokalizovaná, ale nemusí sa vyvinúť do systémovej infekcie (sepsy). V sledovaných súboroch bola najvýraznejšia kinetika CRP u kriticky chorých pacientov. Vo všetkých súboroch je významné zvýšenie CRP s následným rýchlym poklesom po začatí efektívnej terapie a s nízkym prognostickým významom pri monitorovaní bakteriálnej systémovej infekcie. CRP, rovnako ako IL-6 narastá a jeho sledovanie je dôležité hlavne v prípadoch, keď nedochádza k zvýšeniu hladín PCT.

Prokalcitonín, CRP a IL-6 sú markery ktoré neslúžia na náhradu jeden druhého. Ak sú použité v kombinácii, poskytujú nielen informáciu o klinickom stave pacienta, ale aj ako pridanú hodnotu informácie o jeho prognóze.

## LITERATÚRA

- [1] BELE, N., DARMON, M., COQUET, I., FEUGEAS, J. P., LEGRIEL, S., ADAOUI, N., SCHLEMMER, B., AZOULAY, E., 2011: Diagnostic accuracy of procalcitonin in critically ill immunocompromised patients. *BMC Infect. Dis.*, 11 (1), 224.
- [2] BERNARD, L., FERRIERE, F., CASASSUS, P., MALAS, F., LEVEQUE, S., GUILLEVIN, L., LORTHOLAR, Y. O., 1998: Procalcitonin as a nearly marker of bacterial infection in severely neutropenic febrile adult. *Clin. Infect. Dis.*, 27, 914–915.
- [3] BETTINA, M., RAU, M. D., ESKO, A. et al., 2007: Early Assessment of pancreatic infections and overall prognosis in severe acute pancreatitis by procalcitonin (PCT). *Ann. Surg.*, 245 (5): 745–754.
- [4] BLIJLEVEN, N. M., DONNELLY, J. P., MEIS, J. F., DEKEIZER, M. H., DEPAUW, B. E., 2000: Procalcitonin does not discriminate infection from inflammation after allogenic bone marrow transplantation. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 7: 889–892.
- [5] BUTTENSCHOEN, K., BUTTENSCHOEN, D. C., BERGER, D., VASILESCU, C., SCHAFHEUTLE, S., GOELTENBOTH, B., SEIDELMANN, M., BERGER, H. G., 2001: Endotoxemia and acute phase proteins in major abdominal surgery. *Am. J. Surg.*, 181: 36–43.
- [6] Castelli, G. P., Pognani, C., Meisner, M., Stuardi, A., Belloni, D., Sgarbi, L., 2004: Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit. Care*, 8: R234–R242 doi: 10.1186/cc2877.
- [7] CETINKAYA, M., OZKAN, H., KÖKSAL, N., AKACI, O., OZGÜR, T., 2011: Comparison of the efficacy of serum amyloid A, C-reactive protein, and procalcitonin in the diagnosis and follow-up of necrotizing enterocolitis in premature infants. *J. Ped. Surg.*, 46 (8): 1482–1489.
- [8] ČERNÝ, V., KULA, R., NOVÁK, I., CVACHOVEC, K., 2005: *Sepse v intenzivní péči – vybraná doporučení v diagnostice a terapii*. Maxdorf Jesenius, Praha, str. 17–18, 65–69.
- [9] GRAWFORD, J., 2005: Cytokines and their role in improving health care. *ASH Atlanta*, 8–9.
- [10] HATZISTILIANOU, M., REKLITI, A., ATHANASIADOU, F., CATRIU, D., 2010: Procalcitonin as an early marker of bacterial infection in neutropenic febrile children with acute lymphoblastic leukemia. *Inflamm. Res.*, 59: 339–347.



- [11] HATZISTILIANOU, M., REKLEITY, A., ATHANASSIADOU, F., DELUTILS, M. A., CONTI, P., CATRIU, D., 2007: Serial procalcitonin responses in infection of children with secondary immunodeficiency. *Clin. Invest. Med.*, 30: E75–E85.
- [12] HENEY, D., LEWIS, I. J., EVANS, S. W., 1992: Interleukin-6 and its relationship to C-reactive protein and fever in children with febrile neutropenia. *J. Infect. Dis.*, 165: 886–890.
- [13] HITOGLOU-HATZI, S., HATZISTILIANOU, M., GOUGOUSTAMOU, D., REKLITI, A., AGGURIDAKI, CH., ATHANASSIADOU, F., FRYDAS, S., KOTSIS, A., CATRIU, D., 2005: Serum adenosine deaminase and procalcitonin concentrations in neutropenic febrile children with a cutelymphoblastic leukaemia. *Clin. Exp. Med.*, 5: 60–65.
- [14] HOTCHKISS, R. S., KARL, I. E., 2003: The pathophysiology and treatment of sepsis. *N. Eng. J. Med.*, 348: 138–150.
- [15] HUGHES, W. T., ARMSTRONG, D., BODEY, G. P. et al., 2002: IDSA guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin. Infect. Dis.*, 34: 730–751.
- [16] IMAMURA, T., TANAKA, S., YOSHIDA, H. et al., 2002: Significance of measurement of high-sensitivity C reactive protein in acute pancreatitis. *J. Gastroenterol.*, 37 (11): 935–938.
- [17] KYLANPAA-BACK, M. L., TAKALA, A., KEMPAINEN, E., PUOLAKKAINEN, P., HAAPIAINEN, R., REPO, H., 2001: Procalcitonin in strip test in the early detection of severe acute pancreatitis. *Br. J. Surg.*, 88: 222–227.
- [18] LENÁRTOVÁ, R., BIRKOVÁ, A., GUZY, J., MAREKOVÁ, M., 2011: Prokalcitonín – biochémia, genetika a fyziológia. *Laboratórna diagnostika*, 16(1–2): 90–97.
- [19] LIMPER, M., DEKRUIF, M. D., DUTS, A. J., BRANDJES, D. P., VANGORP, E. C., 2010: The diagnostic role of procalcitonin and other biomarkers in discriminating infectious from non-infectious fever. *J. Infect.*, 60 (6): 409–416.
- [20] LIU, F., WANG, Q., ZENG, F. Y., ZHANG, P., 2010: Clinical diagnostic value of procalcitonin detection in local infection and sepsis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 30 (3): 614–619.
- [21] LUZZANI, A., POLATI, E., DORIZZI, R., RUNGATSCHER, A., PAVAN, R., MERLINI, A., 2003: Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Crit. Care Med.*, 31 (6): 1737–1741.
- [22] MEYNAR, I. A., DROOG, W., BATSTRA, M., VREEDE, R., HERBRINK, P., 2011: In critical ill patients, serum procalcitonin is more useful in differentiating between sepsis and SIRS than CRP, IL-6, or LBP. *Crit. Care Res. and Practice*, 2011: Article ID 594645, 6 pages doi: 10.1155/2011/594645.
- [23] MODRAU, I. S., FLOYD, A. K., THORLACIU-SUSSINFO., 2005: The Clinical value of procalcitonin in early assessment of acute pancreatitis. *Am. J. of Gastroenterology*, 100: 1593–1597.
- [24] PENEL, N., FOYRNIER, C., CLISANT, S., NGUYEN, M., 2004: Causes off ever and value of C-reactive protein and procalcitonin in diferentiating infections from paraneoplastic fever. *Support Care Cancer*, 12: 593–598.
- [25] PÓVOA, P., SOUZA-DANTES, V. C., SOARES, M., SALLUH, I. F., 2011: C-reactive protein in critically ill cancer patients with sepsis: influence of neutropenia. *Crit. Care*, 15: R129 doi: 10.1186/cc10242.
- [26] RÁČIL, Z., HABER, J., DRGOŇA, L. et al., 2010: Empirická antimykotická liečba febrilnej neutropénie u nemocných s hematologickou malignitou – doporučenia odborníkov s podporou CELL, ČHS JEP, ČOS JEP, SOS. *Postgra. Med.*, Suppl: 23–25.
- [27] REINHART, K., MEISNER, M., 2011: Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin. *Crit. Care Clin.*, 27 (2): 253–263.
- [28] RICHE, F., CHOLLEY, B., LAISNE, M. J., VICAUT, E., PANIS, Y., LAJEUNIE, E., BOUDIAF, M., VALLEUR, P., 2003: Inflammatory cytokines, C-reactive protein, and procalcitonin as early predictors of necrosis infection in acute necrotizing pancreatitis. *Surgery*, 133 (3): 257–262.
- [29] RUOKONEN, E., ILKKA, L., NISKANEN, M. J., TAKALA, J., 2002: Procalcitonin and neopterin as indicators of infection in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 46: 398–404.
- [30] RUOKONEN E., NOUSIAINEN T., PULKKI K., TAKALA J., 1999: Procalcitonin concentrations in patients with neutropenic fever. *Eur. J. Clin. Mikrobiol. Infect. Dis.*, 18: 283–285.
- [31] SABBATANI, S., MANFREDI, R., MARINACCI, G., CHIODO, F., 2006: Community-acquired pneumonia and sepsis by multiresistant *Staphylococcus aureus* strain resulting in a severe and long-lasting multiple organ inflammatory involvement. *Eur. J. Inflamm.*, 117–124.
- [32] SECMEER, G., DEVRIM, I., KARA, A., CEYHAN, M., CENGIZ, B., KUTLUK, T., BUYUKPAMUKCU, M., YETGIN, S., TUNCER, M., ULUDAG,

- A. K., TEZER, H., YILDRIM, I., 2007: Role of procalcitonin and CRP in differentiating a stable from a deteriorating clinical course in pediatric febrile neutropenia. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 29: 107–111.
- [33] SCHUTTRUMP, S., BINDER, L., HAGEMAN, T., BERKOVIE, D., TRUMPER, L., BINDER, C., 2003: Procalcitonin: a useful discriminator between febrile conditions of different origin in hemato-oncological patients. *Ann. Hematol.*, 82: 98–108.
- [34] SCHWARZ, S., BERTRAM, M., SCHWAB, S., ANDRASSY, K., HACKE, W., 2000: Serum procalcitonin levels in bacterial and abacterial meningitis. *Crit. Care Med.*, 28: 1828–1832.
- [35] SINHA, M., DESAI, S., MANTRI, S., KULKARNI, A., 2011: Procalcitonin as an adjunctive biomarker in sepsis. *Indian J. Anaesth.*, 55 (3): 266–270.
- [36] WANNER, G. A., KEEL, M., STECKHOLZER, U. et al., 2000: Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure, and mortality in injured patients. *Crit. Care Med.*, 28: 950–957.
- [37] ZIVANOVIC, S., SARANAC, L., KOSTIC, G., BOGICEVIC, V., JOVANCIC, D., 2010: A case of acute tuberculous pleuropneumonia in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Scien. World. J.*, 10: 578–585.

# METABOLIZMUS MELANÍNŮV

Marek Stupák<sup>1</sup>, Marcela Valko-Rokytovská<sup>1</sup>, Marianna Zábavníková<sup>2</sup>  
Anna Birková<sup>1</sup>, Beáta Hubková<sup>1</sup>, Mária Mareková<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF a LABMED a.s.,

<sup>2</sup>Klinika plastickej, rekonštrukčnej a estetickej chirurgie UPJŠ LF a UN LP

Kontakt: maria.marekova@upjs.sk

## ABSTRAKT

Melaníny produkované melanocytmí prítomnými v koži poskytujú prirodzenú ochranu organizmu pred UV žiarením. Produkcia melanínov a ich distribúcia v tkanivách výrazne ovplyvňuje farebnosť, ktorá určuje fotoprotekčné funkcie pigmentu. Epidemiologické štúdie poukazujú na zvýšený výskyt kožného melanómu u jednotlivcov so svetlým sfarbením kože oproti jedincom s tmavou farbou pleti. Pre štúdium regulácie melanogenézy, rovnako aj pre štúdium biologických funkcií melanínu, je nevyhnutné analyzovať obsah jednotlivých zložiek melanínov – eumelanínu a feomelanínu – v biologických vzorkách.

**Kľúčové slová:** melanín, eumelanín, feomelanín, melanóm

## ABSTRACT

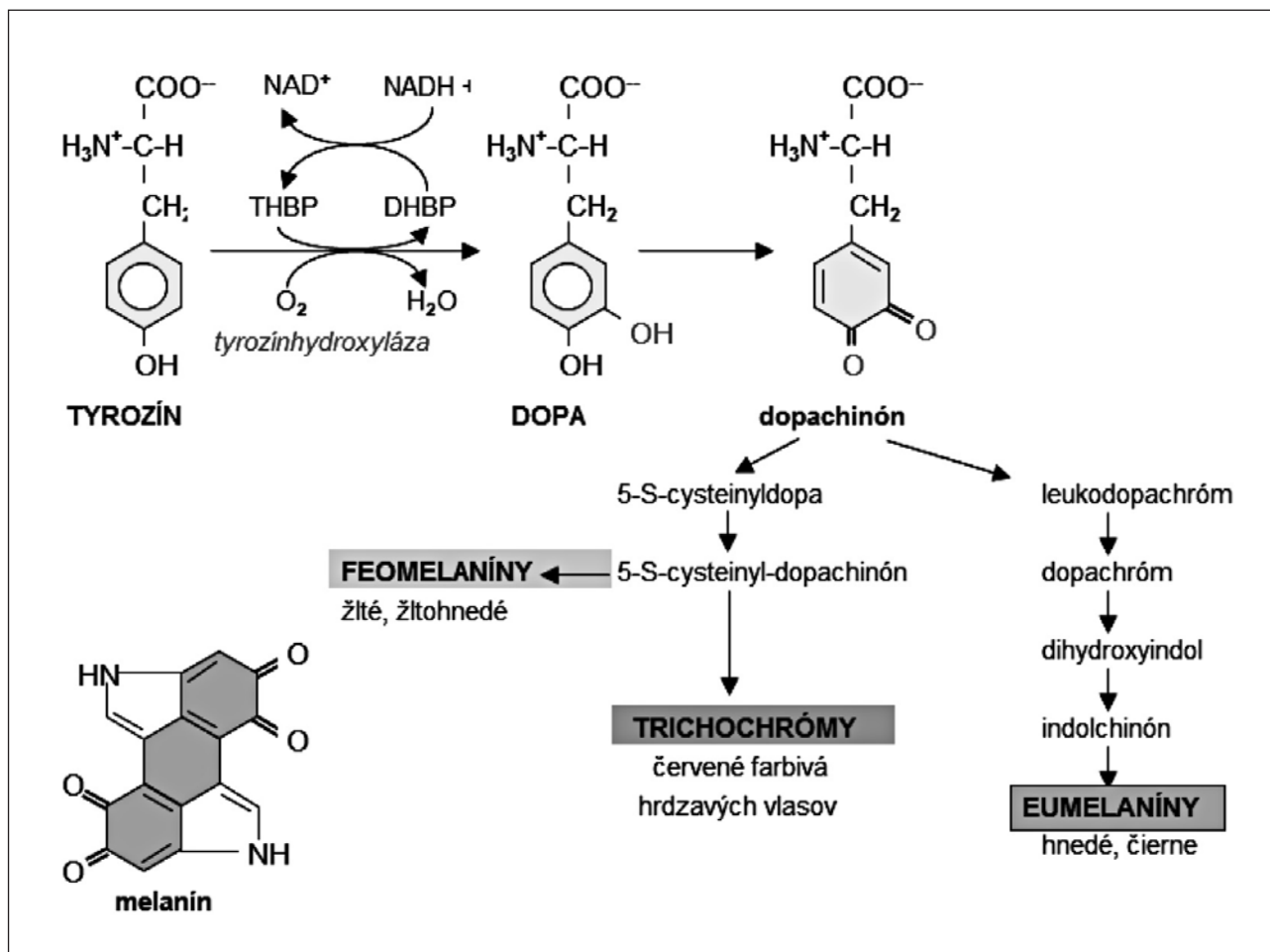
Melanins produced by melanocytes present in the skin provide natural defenses against UV radiation. Melanin production and distribution in tissues greatly affects the color, which determines the photoprotective function of pigment. Epidemiological studies show an increased incidence of cutaneous melanoma in individuals with light-colored skin compared to individuals with dark skin color. To understand the regulation of melanogenesis, as well as for the study of biological functions of melanins, it is necessary to analyze the

individual components of the melanins — eumelanin and feomelanin — in biological samples.

**Keywords:** melanin, eumelanin, feomelanin, melanoma

V uplynulom desaťročí vzrástol počet štúdií objasňujúcich vznik melanínov na molekulovej úrovni, keďže melaníny prítomné v koži poskytujú prirodzenú ochranu pred UV žiarením. Melaníny sú produkované bunkami, tzv. melanocytmí. Každý melanocyt dodáva melanín asi tridsiatim šiestim bunkám vo svojom okolí. Intenzita hnedého sfarbenia kože závisí od toho, koľko farbiva sa v melanocytoch vytvorí. Nielen produkcia melanínov, ale aj ich distribúcia v tkanivách výrazne ovplyvňuje ich farebnosť, ktorá v konečnom dôsledku určuje fotoprotekčné funkcie pigmentu (Gilchrest, 2011). Je zrejmé, že špecifikácia, migrácia a diferenciácia počas vývoja melanocytárnych prekursorov („melanoblasty“) sú nevyhnutné pre pigmentáciu u dospelých jedincov (Kawakami a Fisher, 2011). Tieto štúdie sú veľmi významné z hľadiska výskumu biologických funkcií melanozómov, ktoré sú spojené s jedinečnými chemickými vlastnosťami melanínov, ktorých zjednodušená schéma syntézy je na obr. 1. Rozlišujeme dva druhy melanínu:

- **eumelanín** známy ako „pravý“ melanín, ktorý má čiernu alebo hnedú farbu a objavuje sa u osôb tmavej pleti (chráni proti UV);
- **feomelanín** známy tiež ako „červený“ melanín. Objavuje sa u osôb svetlej pleti alebo u ľudí s ryšavými vlasmi (nechráni proti UV).



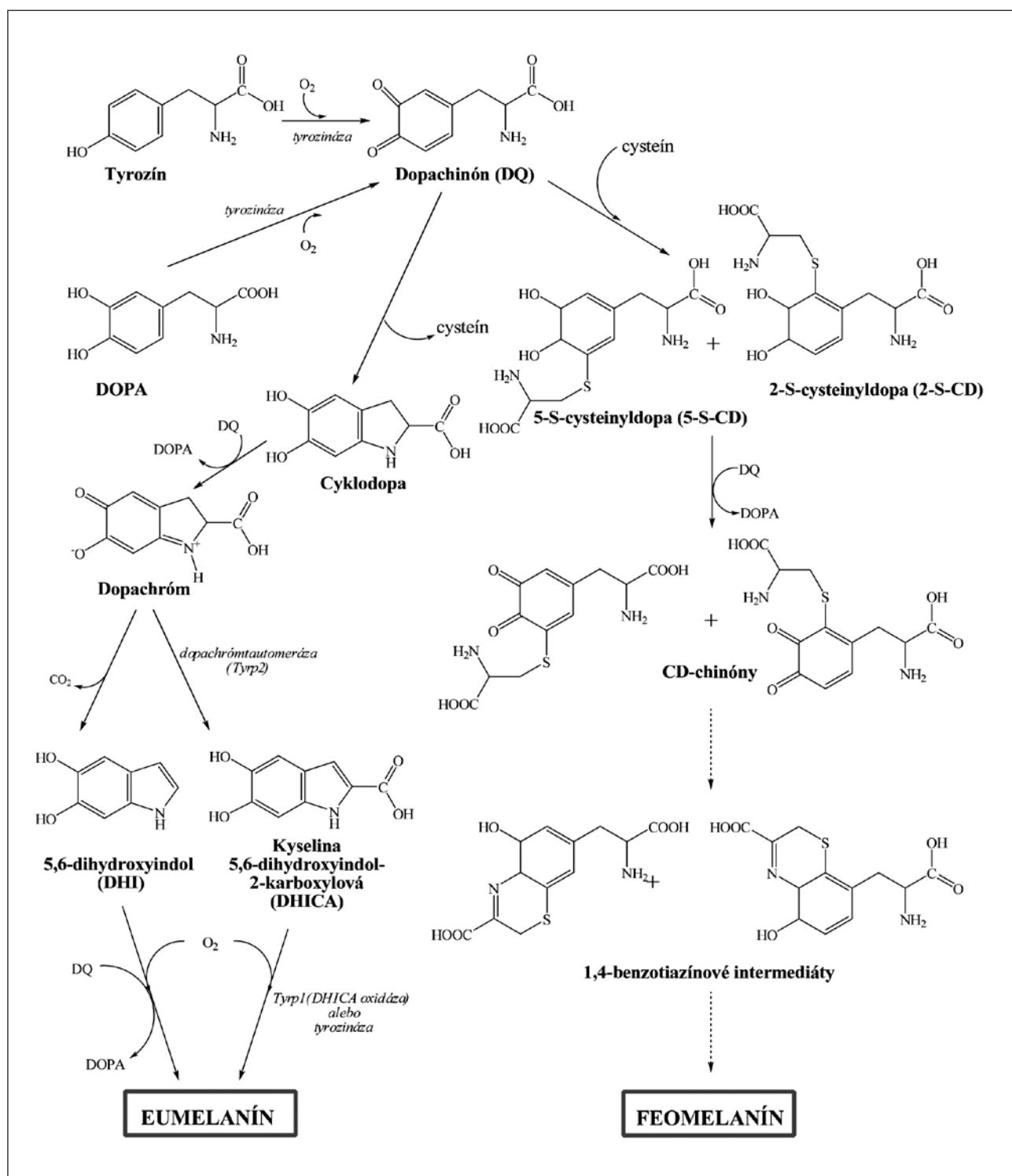
Obr. 1. Zjednodušená schéma syntézy melanínu podľa Mašlankovej a kol. (2011)

Väčšina melanínových pigmentov prítomných v ľudskom organizme nie je homopolymérom jednej monomérskej jednotky, ale sú to zložité heteropolyméry vznikajúce tak z eumelanínu, ako aj feomelanínu (Prota, 1992). Zastúpenie eumelanínu a feomelanínu je v koži, nervoch a dúhovke špecifické. Molekulová štruktúra melanínov, mechanizmus, ktorým sa produkujú a organizácia v rámci melanozómu nie sú dodnes plne objasnené. V súčasnosti existuje mnoho možností stanovenia molekulovej štruktúry. Väčšina z nich je založená na štúdiu oxidačno-redukčných degradačných reakcií pigmentov a následne na identifikácii a kvantifikácii vyprodukovaných metabolitov.

Oba druhy melanínu vznikajú zo spoločného prekursora – dopachinónu, vznikajúceho oxidáciou tyrozinu tyrozinázou (obr. 2). Dopachinón je vysokoreaktívny medziprodukt, u ktorého pri absencii tiolových zlúčenín dochádza k intramolekulovej cyklizácii, ktorá vedie k tvorbe eumelanínu. Tioly (napr. cysteín), spôsobujú vznik 5-S-cysteinyldopa (5-S-CD) a 2-S-cysteinyldopa

(2-S-CD). Ďalšie oxidácie cysteinyldopa (CD) izomérov vedú k tvorbe feomelanínu. Eumelanín je heterogénny polymér, ktorý je zložený z 5,6-dihydroxyindolu (DHI) a kyseliny 5,6-dihydroxyindol-2-karboxylovej (DHICA), zatiaľ čo feomelanín sa skladá z benzotiazínových derivátov obsahujúcich síru (Ito, 2003; Ito a Wakamatsu, 2008; Park a kol., 2009).

Výskumu melanínových pigmentov a štúdiu melanínov pri patologických procesoch (napr. rakovina kože a očí, Parkinsonova choroba) sa venuje v poslednom desaťročí zvýšená pozornosť (Ito a Wakamatsu, 2003; Zucca a kol., 2004; Hu a kol., 2009, Galván a kol., 2013). Pre pochopenie možností regulácie melanogenézy, ako aj pre pochopenie biologických funkcií melanínu, je nevyhnutné analyzovať obsah eumelanínu a feomelanínu v biologických vzorkách. Epidemiologické štúdie ukazujú, že výskyt kožného melanómu u jednotlivcov so svetlým sfarbením kože je častejší ako u jedincov s tmavou farbou pleti. Štúdie ďalej ukázali, že UV citlivosť kožných melanínov je spojená s vysokým



Obr. 2. Biosyntetická cesta tvorby eumelanínu a feomelanínu (upravené podľa Ito a Wakamatsu, 2008)

obsahom feomelanínu a nízkym obsahom eumelanínu (Vincenzi a kol., 1998; Hu a kol., 2009). Veľký záujem bol venovaný štúdiu medziproduktov metabolizmu melanocytov ako melanínových prekursorov a ich úlohe.

Niektoré literárne zdroje uvádzajú, že tieto látky môžu mať aj antioxidačné a ochranné funkcie, ktoré nesúvisia so syntézou pigmentov (Kovacs a kol., 2012). Príkladom je eumelanínový prekursor, kyselina 5,6-dihydroxyindol

2-karboxylová (DHICA), pri tvorbe ktorej má významný vplyv dopachrómtautomeráza, vplývajúca na antioxidačné vlastnosti eumelanínu (Jiang a kol., 2010). Michard a kol., (2008) poukázali na spojenie medzi expresiou dopachrómtautomerázy buniek melanómu a zvýšenou intracelulárnou hladinou glutatiónu, znížením voľných radikálov vyvolávajúcich poškodenie DNA, a znížením citlivosti na oxidačný stres. Staršie štúdie ukázali, že DHICA inhibuje peroxidáciu lipidov in vitro (Memoli a kol., 1997). DHICA má zhášacie vlastnosti a absorpčné maximum pri 313 nm v UVB oblasti (Zhang a kol., 2000). Panzella a kol. (2011) poukazujú na antioxidačné vlastnosti samotnej DHICA, a jej funkcie ako ochranného mediátora pri oxidačnom strese. Autori vo svojej práci poukazujú na kľúčovú úlohu DHICA pri pochopení fyziologického významu dopachrómtautomerázy a melanogézy nad rámec skúmania samotných pigmentov.

Význam stanovenia jednotlivých melanínových pigmentov, ich prekursorov a metabolitov v biologickom materiáli spočíva v možnosti využitia získaných poznatkov predovšetkým pričasnej diagnostike a liečbe malígneho melanómu.

## LITERATÚRA

- [1] GALVÁN, I. a kol., 2013: Raman spectroscopy as a non-invasive technique for the quantification of melanins in feathers and hairs. In *Pigment Cell Melanoma Res.* Publikované on-line 24. júla 2013, doi: 10.1111/pcmr.12140.
- [2] GILCHREST, B. A., 2011: Molecular aspects of tanning. In *J. Invest. Dermatol.*, 2011, Vol. 131, p. 14–17.
- [3] HU, D. N. a kol. 2009: Comparison of eumelanin and pheomelanin content between cultured uveal melanoma cells and normal uveal melanocytes. In *Melanoma Res.*, 2009, Vol. 19, p. 75–79.
- [4] ITO, S., WAKAMATSU K., 2008: Chemistry of mixed melanogenesis — pivotal roles of dopaquinone. In *Photochemistry and Photobiology.* 2008, Vol. 84, p. 582–592.
- [5] MAŠLANKOVÁ, J., STUPÁK, M., MIHÁLIK, J., MAREKOVÁ, M., 2011: Katecholamíny - fyziológia a patológia. In *Ateroskleróza*, 2011, Vol. 15, p. 117–126.
- [6] ITO, S., WAKAMATSU, K., 2003: Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review. In *Pigm. Cell Res.*, 2003, Vol. 16, p. 523–531.
- [7] ITO, S., 2003: A chemist's view of melanogenesis. In *Pigment Cell Research*, 2003, Vol. 16, p. 230–236.
- [8] JIANG, J., OPANUBI, K. J., COOMBS, K. M., 2012: Non-biased enrichment does not improve quantitative proteomic delineation of reovirus T3D-infected HeLa cell protein alterations. In *Front Microbiol.*, 2012, Vol. 3, p. 310.
- [9] KAWAKAMI, A., FISHER, D. E., 2011: Key discoveries in melanocyte development. In *J. Invest Dermatol.*, 2011, Vol. 131, p. 2–4.
- [10] KOVACS, D. a kol., 2012: The eumelanin intermediate 5,6-Dihydroxyindole-2-Carboxylic acid is a messenger in the cross-talk among epidermal cells, In *Journal of Investigative Dermatology*, 2012, Vol. 132, p. 1196–1205.
- [11] MEMOLI, S. a kol., 1997: Diffusible melanin-related metabolites are potent inhibitors of lipid peroxidation. In *Biochim Biophys Acta.*, 1997, Vol. 1346, p. 61–8.
- [12] MICHARD, Q. a kol., 2008: TRP-2 specifically decreases WM35 cell sensitivity to oxidative stress. In *Free Radic. Biol. Med.*, 2008, Vol. 44, p. 1023–31.
- [13] PANZELLA, L., NAPOLITANO, A., D'ISCHIA, M., 2011: Is DHICA the key to dopachrome tautomerase and melanocyte functions? In *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2011, Vol. 24, p. 248–9.
- [14] PARK, H. Y. a kol., 2009: Cellular mechanisms regulating human melanogenesis. In *Cell Mol. Life Sci.*, 2009, Vol. 61, p. 493–506.
- [15] PROTA, G., 1992: Melanins and Melanogenesis. New York: Academic Press. 1992, p. 1–290.
- [16] VINCENSI, M. R., 1998: Phaeomelanin versus eumelanin as a chemical indicator of ultraviolet sensitivity in fair-skinned subjects at high risk for melanoma: a pilot study. In *Melanoma Res.*, 1998, Vol. 8, p. 53–58.
- [17] ZHANG, X. a kol., 2000: Absolute rate constants for the quenching of reactive excited states by melanin and related 5,6-dihydroxyindole metabolites: implications for their antioxidant activity. In *Photochem Photobiol.*, 2000, Vol. 71, p. 524–33.
- [18] ZUCCA, F. A. a kol., 2004: The neuromelanin of human substantia nigra: physiological and pathogenic aspects. In *Pigm. Cell Res.*, 2004, Vol. 17, p. 610–617.



# Jediná správná varianta Premier Hb9210

**Přesnost. Rychlost. Správnost.**

- HPLC analyzátor glykovaného hemoglobinu
- Boronátová afinitní HPLC - bez interferencí variantních Hb
- Vysoký výkon - analýza za 60 sec.
- Kontinuální vkládání vzorků - včetně STATIM modu
- Podavač vzorků - až 210 vzorků
- Intuitivní dotykový displej

erbalachema.com



**SIEMENS**

# Spokojný dnešok je najlepšou zárukou lepšieho zajtrajška.

Riešenia Siemens už celé generácie ovplyvňujú kvalitu ľudského zdravia.

[www.siemens.com/answers-for-life](http://www.siemens.com/answers-for-life)

Čím zdravší sú ľudia dnes, tým lepší bude svet zajtra. Dlhý zdravý život umožňuje ľuďom dostať zo seba to najlepšie a vybudovať tak šťastnejší svet pre súčasné a budúce generácie. Siemens dbá o zdravie človeka a ponúka riešenia, ktoré pretrvávajú. Znižovaním výdavkov pomáhame odborníkom a nemocniciam rozširovať služby zdravotnej starostlivosti, aby sa mohli lepšie postarať

o rastúcu populáciu. Ponúkame inovatívne riešenia s dlhotrvajúcim účinkom, ktoré starnúcej populácii umožňuje dlhšie ostať zdravou. Veríme, že ako každý vzácny zdroj na zemi, aj ľudské zdravie si zaslúži starostlivosť a ochranu. Nie iba pre prítomný okamih, ale pre prísľub lepšieho zajtrajška.

**Answers for life.**



Vaše výsledky sú v  
dobrých rukách



**SPOLOČNE DOSIAHNEME VIAC**

## Randox reagentie garantujú kvalitu, výkonnosť a prvotriednosť

Randox, ako líder výroby diagnostických reagentií poskytuje širokú paletu testov medzinárodne rozpoznávaných ako testy s najlepšou kvalitou, produkujúce správne a presné výsledky:

- Najväčší rozsah diagnostík – viac ako 100 markerov
  - Extenzívny výber veľkostí balení a princípov
    - Široké meracie rozpätia
  - Excelentnú koreláciu s referenčnými metódami
- Aplikácie dostupné pre celé spektrum biochemických analyzátorov
- Diagnostické súbory v baleniach vhodných priamo pre rutinné analyzátory

**Sloboda výberu od  
nezávislého výrobcu**

**RANDOX**

Randox S.R.O. Vilová 2, 851 01 Bratislava, Slovakia.

T +421 2 6381 3324 F +421 2 6381 2482 E [marketing@randox.com](mailto:marketing@randox.com) | [www.randox.com](http://www.randox.com)



# Vyberte si TO NAJLEPŠIE



## BIOCHEMICKÉ ANALYZÁTORY RADY AU5800

- otvorený systém
- 2000 až 9800 testov/hod
- 12 konfigurácií
- 1 alebo 2 ISE jednotky
- až 120 metód on-board
- vysoký prestup vzoriek
- STATIM vkladové porty
- permanentné kremenné kvety
- zníženie objemu reagaencií (od 90  $\mu$ l/stanovenie)
- zníženie objemu vzorky (od 1  $\mu$ l)
- chladenie bez nákladov „Peltier“
- zníženie nárokov na údržbu
- možnosť integrácie do automatických liniek

### KONTAKT PRE TECHNICKÉ A APLIKAČNÉ DOTAZY:

Miroslav Bischof, tel.: +420 605 200 149, e-mail: mbischof@beckman.com  
Beckman Coulter Česká republika s.r.o., Murmanská 1475/4, 100 05 Praha 10

[www.beckman.cz](http://www.beckman.cz)

... pre komplexne dokonalé laboratórium sú dôležité aj detaily



**SUPER GL 2**  
najpoužívanejšie glukóзовé analyzátory



**ADAMS A1c**  
HPLC analyzátor glykovaného hemoglobínu

## **Eurolab Lambda a.s.** Špecialista na

- automatizovanú močovú analýzu
- glukóзовé analyzátory
- osmometriu
- analýzu glykovaného hemoglobínu (HPLC)
- okultné krvácanie



**Osmomat 030** osmometer  
rokmi preverená kvalita



automatizovaná močová analýza  
viac ako 95 inštalácií v SR a ČR

# Roche – líder v špecifickej starostlivosti o kardiologických pacientov

*Pre všetkých profesionálov, ktorí:*

*chcú spoľahlivú, presnú a dostupnú rutinnú diagnostiku  
potrebujú včas identifikovať infarkt myokardu  
žiadajú odlišiť dýchavičnosť od srdcového zlyhania*



cobas® 8000 series – najnovší konsolidovaný systém Roche

*Systémy cobas® - najrozšírenejšie konsolidované systémy na Slovensku*

*Analytické systémy Roche svojou rýchlosťou, spoľahlivosťou a na Slovensku aj širokou dostupnosťou v kombinácii s komplexným kardiopanelom pomáhajú chrániť zdravie a zachraňujú životy*

**Troponin T hs STAT**

**Zlatý štandard markerov pre diagnostiku infarktu myokardu**

**NT-proBNP**

**Skok vpred v diferenciálnej kardiovaskulárnej diagnostike**

