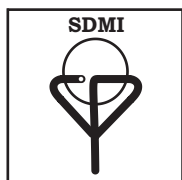


# INFORMATICA MEDICA SLOVENICA

- 1 Kontrola kvalitete DNA mikromrež nizke gostote
- 14 Meta-analiza v tehnologiji genskih mikromrež
- 22 A Simple Assessment of Left Ventricular Function and Mass with Cine MRI
- 29 Nekaj malega o računanju velikosti vzorca
- 34 Opremljenost in uporaba IT v bolnišnicah in zdravstvenih domovih v Sloveniji
- 40 Informacijsko-komunikacijska tehnologija v praksi in teoriji zdravstvene nege
- 45 Poročilo o 12. mednarodnem kongresu MEDINFO



Revija Slovenskega društva za medicinsko informatiko  
Informatica Medica Slovenica  
LETNIK 12, ŠTEVILKA 2  
ISSN 1318-2129  
ISSN 1318-2145 on line edition  
<http://ims.mf.uni-lj.si>

## GLAVNI UREDNIK

Janez Stare

## SOUREDNIKA

Jure Dimec  
Blaž Zupan

## TEHNIČNI UREDNIK

Peter Juvan

## UREDNIŠKI ODBOR

Gregor Anderluh  
Valentin Fidler  
Emil Hudomalj  
Brane Leskošek  
Marjan Mihelin  
Mojca Paulin  
Borut Peterlin  
Uroš Petrovič  
Vladislav Rajkovič  
Gaj Vidmar

## BIVŠA GLAVNA UREDNIKA

Martin Bigec  
Peter Kokol

## O REVII

Informatica Medica Slovenica je interdisciplinarna strokovna revija, ki objavlja prispevke s področja medicinske informatike, informatike v zdravstvu in zdravstveni negi, ter bioinformatike. Revija objavlja strokovne prispevke, znanstvene razprave, poročila o aplikacijah ter uvajanju informatike na področjih medicine in zdravstva, pregledne članke in poročila. Še posebej so dobrodošli prispevki, ki obravnavajo nove in aktualne teme iz naštetih področij.

Informatica Medica Slovenica je strokovna revija Slovenskega društva za medicinsko informatiko. Revija je dostopna na naslovu <http://ims.mf.uni-lj.si>. Avtorji člankov naj svoje prispevke v elektronski obliki pošiljajo glavnemu uredniku po elektronski pošti na naslov [janez.stare@mf.uni-lj.si](mailto:janez.stare@mf.uni-lj.si). Revijo prejema vsi člani društva. Informacije o članstvu v društvu oziroma o naročanju na revijo so dostopne na tajništvu društva ([Drago Rudel, drago.rudel@mf.uni-lj.si](mailto:Drago.Rudel@mf.uni-lj.si)).

## VSEBINA

*Izvirni znanstveni članki*

- Rok Devjak, Tadeja Režen, Damjana Rozman, Peter Juvan**  
Kontrola kvalitete DNA mikromrež nizke gostote
- 14 Andrej Kastrin**  
Meta-analiza v tehnologiji genskih mikromrež
- 22 Rakesh Sharma, Avdhesh Sharma, Charles D. Williams**  
A Simple Assessment of Left Ventricular Function and Mass with Cine MRI

*Strokovna članka*

- 29 Janez Stare**  
Nekaj malega o računanju velikosti vzorca
- 34 Matic Meglič, Dorjan Marušič, Aleš Anžur, Drago Kodele**  
Opremljenost in uporaba IT v bolnišnicah in zdravstvenih domovih v Sloveniji

*Bilten SDMI*

- 40 Ema Dornik, Vesna Prijatelj**  
Informacijsko-komunikacijska tehnologija v praksi in teoriji zdravstvene nege
- 45 Vesna Prijatelj**  
Poročilo o 12. mednarodnem kongresu MEDINFO

Izvorni znanstveni članek ■

## Kontrola kvalitete DNA mikromrež nizke gostote

## Quality Control of Low-Density DNA Microarrays

**Rok Devjak, Tadeja Režen,  
Damjana Rozman, Peter Juvan**

**Izveček.** Tehnologija DNA mikromrež, ki veliko obeta na področju klinične diagnostike in prognostike, se sooča s problemom slabo izoblikovane in neenotne sheme za kontrolo kvalitete meritev. Razvili smo splošen pristop za kontrolo kvalitete DNA mikromrež nizke gostote, ki je osnovan na analizi kovariance kontrolnih sond. Pristop smo aplicirali na mikromreži Steroltalk, razviti z namenom preučevanja izražanja genov, povezanih s homeostazo holesterola. Na modelu primarnih človeških hepatocitov smo analizirali spremembe v izražanju genov pri aplikaciji rifampicina in rosuvastatina in pristop ovrednotili s primerjavo rezultatov analize z navedbami iz literature. Predlagan pristop je neodvisen od vrste uporabljene DNA mikromreže in kot tak lahko pomembno prispeva k hitrejšemu prenosu te tehnologije v klinično prakso.

**Abstract.** DNA microarray technology, showing great perspective in clinical diagnostics and prognostics, is facing a problem of loosely defined and non-unified data quality control. We have developed a general approach for controlling the quality of low density DNA microarrays, which is based on the analysis of covariance of control probes. We have applied the approach to the Steroltalk microarray, which was developed to study genes in connection with cholesterol homeostasis. We analyzed changes in genes expression in human primary hepatocytes treated with rifampicin and rosuvastatin and evaluated the approach by comparing our results to these from the literature. The proposed approach is independent of the type of DNA microarray and therefore may contribute to more rapid transfer of this technology to the clinical practice.

■ **Infor Med Slov:** 2007; 12(2): 1-13

---

Institucije avtorjev: Medicinska fakulteta (RD, PJ, TR, DR),  
Fakulteta za računalništvo in informatiko (PJ), Univerza v  
Ljubljani.

Kontaktna oseba: Peter Juvan, Center za funkcijsko genomiko  
in bio-čipe, Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta,  
Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 4, SI-1000 Ljubljana.  
email: peter.juvan@fri.uni-lj.si.

## Uvod

Tehnologija DNA mikromrež je v zadnjem času močno posegla na področje medicine in diagnostike. Ena izmed možnih oblik uporabe te tehnologije so mikromreže nizke gostote za ekspresijsko profiliranje. Te vsebujejo specifičen izbor genov iz celotnega genoma in so kot take namenjene proučevanju posameznih bioloških procesov. Z namenom preučevanja izražanja genov, povezanih s homeostazo holesterola in presnovo zdravil, smo v okviru evropskega projekta 6. okvirnega programa projekta Steroltalk razvili cDNA mikromrežo nizke gostote, ki vsebuje okoli 300 sond za človeške gene in njim sorodne gene pri miši. Mikromreža poleg homeostaze holesterola omogoča tudi študije homeostaze glukoze, maščobnih kislin, cirkadičnega ritma in vnetnih procesov, ter študije razvoja ateroskleroze pri miši in človeku.<sup>1,2</sup>

Z uporabo tehnologije DNA mikromrež v enem samem poskusu opravimo veliko število meritev, zaradi česar je kontrola kvalitete izvedbe poskusa in pridobljenih podatkov velikega pomena. Kljub temu, da je ponovljivost poskusa z mikromrežami relativno visoka,<sup>3</sup> v trenutnem stanju razvoja tehnologija še ni dovolj robustna, da bi jo lahko rutinsko uporabljali v klinični praksi. Pogosto namreč prihaja do primera, da na podlagi določenih meritev pridemo do različnih zaključkov,<sup>4</sup> kar v klinični praksi ni dopustno. Enega večjih problemov predstavlja slabo izoblikovana in neenotna shema kontrole kvalitete podatkov. Določitev enotne in od platforme neodvisne kontrole kvalitete podatkov je nujnega pomena za razvoj diagnostičnih čipov in posledičnega prenosa tehnologije v klinično prakso, saj se bodo lahko le na ta način oblikovali diagnostični testi z dovolj visoko občutljivostjo in specifičnostjo za njihovo praktično uporabo.

Skupina External RNA Controls Consortium (ERCC) in projekt MicroArray Quality Control (MAQC) sta trenutno najbolj aktivna na področju raziskovanja kontrole kvalitete DNA mikromrež s pomočjo visoko kalibrirane referenčne RNA.<sup>5</sup>

Njun namen je vzpostaviti osnovne standarde kontrole kvalitete s pomočjo kontrolnih sond, kar bi pripomoglo k boljši primerljivosti podatkov, tako med različnimi poskusi kot tudi med različnimi platformami mikromrež, kar bi posledično prispevalo k hitrejši implementaciji tehnologije v klinični praksi.

Kvaliteto izvedbe poskusa z mikromrežo kontroliramo na različnih ravneh: pri izvedbi poskusa z merjenjem kvalitete RNA in uspešnosti integracije barvil, pri odčitavanju z laserskim čitalcem (saturacija, intenziteta ozadja), in pri analizi podatkov (intenziteta pozitivnih in negativnih kontrolnih sond, razmerje med intenziteto signala in ozadja, intenziteta vzdrževalnih (angl. housekeeping) genov in razmerja intenzitet različnih sond za isto tarčo). Pri analizi podatkov na podlagi določenih meril za kontrolo kvalitete izločimo tiste meritve, ki bi lahko privedle do napačnih zaključkov. Merila so pogosto specifična za uporabljeno platformo in med platformami medsebojno neprimerljiva.

Kontroli kvalitete sledi normalizacija podatkov, s katero zagotovimo medsebojno primerljivost opravljenih meritev. Pri tem se v splošnem uporablja dve strategiji. Pri mikromrežah visoke gostote, kjer lahko predpostavimo, da je skupna količina mRNA v vseh vzorcih enaka (ne glede na tretma), za izračun normalizacijske konstante (oz. krivulje) uporabimo izmerjene intenzitete vseh genov na mikromreži. Te predpostavke pri mikromrežah nizke gostote ne moremo narediti; zaradi tega za izračun normalizacijske vrednosti uporabimo normalizacijske kontrolne sonde, na katere hibridizira tuja RNA, ki jo v naprej določeni količini dodamo k RNA preiskovanih vzorcev.

Normalizacijske sonde lahko uporabimo tudi za kontrolo kvalitete podatkov DNA mikromrež. V prispevku predstavljamo inovativen pristop, ki je osnovan na analizi kovariance intenzitete normalizacijskih sond. Razvili smo ga z namenom kontrole kvalitete mikromrež Steroltalk in aplicirali na podatkih iz študije učinka rifampicina

in rosvastatina, kjer smo na ta način ovrednotili razlike v izražanju genov.

## Metode

Hibridizacija in odčitavanje mikromrež Steroltalk sta bili opravljena v Centru za funkcijsko genomiko in bio-čipe Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani. Za normalizacijo podatkov in izračun diferencialne izraženosti smo uporabili programski paket Orange<sup>6</sup> (Fakulteta za računalništvo in informatiko, Univerza v Ljubljani) Predlagan pristop za kontrolo kvalitete smo izvedli v programu SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, ZDA).

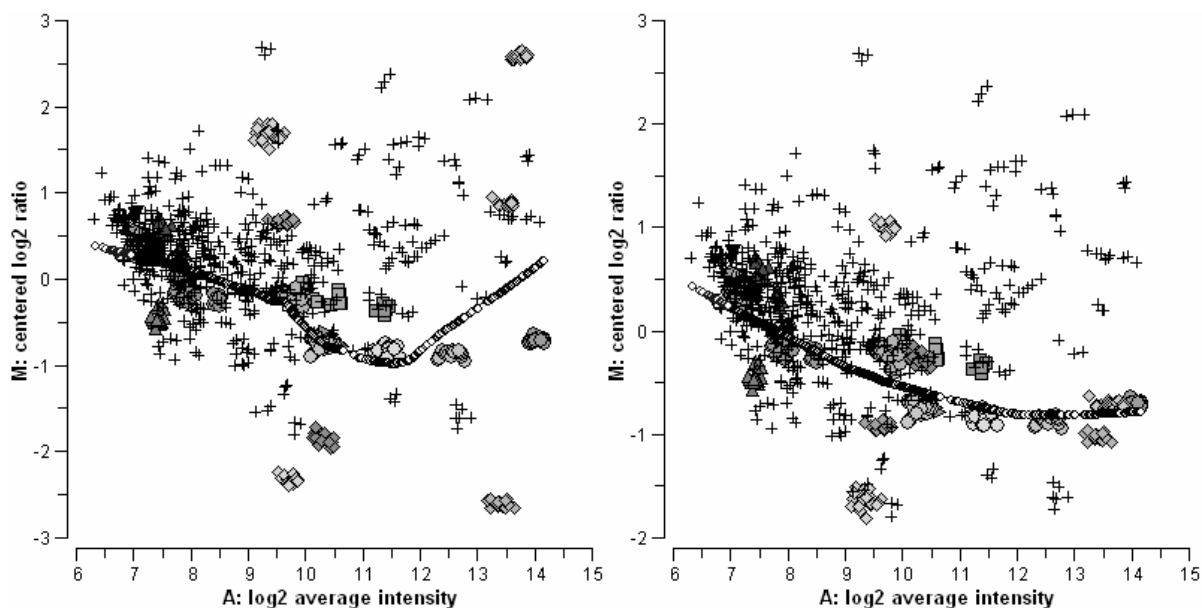
### Mikromreža Steroltalk

Mikromreža Steroltalk v2 vsebuje cDNA sonde za 288 človeških genov, 18 vrst normalizacijskih kontrolnih sond kompleta Lucidea Universal ScoreCard (Amersham Biosciences), 7 vrst pozitivnih in 5 vrst negativnih kontrolnih sond. Geni so na mikromreži nanesti v treh in kontrolne sonde v šestih ponovitvah. Mikromreža omogoča hibridizacijo dveh vzorcev hkrati, ki ju predhodno označimo z različnima fluorescentnima barviloma, npr. cianin-3 (Cy3) in cianin-5 (Cy5). Negativne in pozitivne kontrolne sonde uporabljamo za kontrolo izvedbe poskusa, normalizacijske pa za določitev izhodiščnega razmerja med signaloma primerjanih vzorcev.

Normalizacija mikromrež nizke gostote temelji na normalizacijskih sondah, ki so na mikromreži nanese skupaj s sondami genov. Na normalizacijske sonde hibridizira tuja RNA, ki jo dodamo k iz vzorcev izolirani RNA pred začetkom označevanja. Normalizacijska RNA sestoji iz dveh v naprej pripravljenih mešanic RNA prepisov, ki

se razlikujeta v koncentracijah posameznih transkriptov. Na ta način je pričakovano razmerje med signaloma posamezne normalizacijske sonde pogojeno z razmerjem med koncentracijama RNA, ki se hibridizira na to sondo. V procesu normalizacije izmerjeno razmerje med signaloma normalizacijskih sond popravimo na pričakovano razmerje, za enak faktor pa popravimo tudi razmerja signalov genov. Najpreprostejši način normalizacije je, da za vse gene uporabimo enak normalizacijski faktor. Pogosteje se uporablja normalizacija v odvisnosti od logaritma povprečne intenzitete signalov  $A_i = \log_2 \sqrt{R_i * G_i}$ , kjer  $R_i$  in  $G_i$  predstavljata intenziteti signalov sonde  $i$ . Normalizacijsko funkcijo v odvisnosti od  $A$  ponavadi določimo neparametrično z uporabo metode lokalno utežene regresije (LOWESS)<sup>7</sup> skozi normalizacijske sonde.

Slika 1 prikazuje primer MA grafa mikromreže Steroltalk in LOWESS krivuljo skozi normalizacijske sonde; na ordinatni osi je prikazan logaritem razmerja intenzitet signalov posameznih sond ( $M_i = \log_2(R_i/G_i)$ ), na abscisni osi pa logaritem njihove povprečne intenzitete ( $A$ ). Mikromreža Steroltalk vsebuje 10 vrst normalizacijskih sond, pri katerih je pričakovano razmerje med signaloma 1:1 (Lcal1-Lcal10, označene s krogci), ter 8 vrst normalizacijskih sond s pričakovanimi razmerji med signaloma 1:3, 3:1, 1:10 in 10:1 (Lratio1-Lratio8, označene z rombi). Slednje lahko centriramo glede na pričakovano razmerje med signaloma in na ta način dosežemo boljše prilaganje normalizacijske krivulje kontrolam. Slika 1 levo prikazuje normalizacijske sonde in krivuljo pred centriranjem, desno pa po centriranju. S centriranjem dosežemo, da je normalizacijska krivulja gladka tudi pri izbiri ožjega okna (širina okna je bila v obeh primerih enaka) in s tem bolj natančno določa izhodiščno razmerje med signaloma primerjanih vzorcev.



**Slika 1.** Primer MA grafa iz podatkov mikromreže Steroltalk in LOWESS krivulja nad normalizacijskimi sondami. S križci (+) so označeni geni, s krožci (o) normalizacijske kontrole z razmerjem koncentracij 1:1, z rombi (◊) pa normalizacijske kontrole z razmerjem koncentracij 1:3, 3:1, 1:10 in 10:1. Levo so prikazane normalizacijske sonde pred centriranjem, desno pa po centriranju.

### Študija aplikacije rifampicina in rosuvastatina

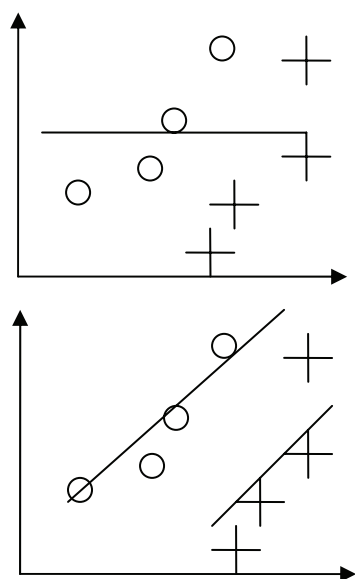
V okviru EU FP6 projekta Steroltalk so bili v laboratorijih K. Monostory, Madžarska akademija znanosti, Madžarska, in P. Maurel, INSERM, Montpellier, Francija, pripravljene človeški primarni hepatociti iz jeter sedmih donorjev. Vzorci so bili tretirani s 5  $\mu\text{M}$  rifampicinom ali z 10  $\mu\text{M}$  rosuvastatinom (oba v 0,1% DMSO). Po 48 urah je bila iz celic izolirana celokupna RNA z uporabo reagenta TRIZOL po navodilih proizvajalca (Invitrogen). Za analize transkriptoma smo uporabili 20 mikrogramov celokupne RNA ter jo označili in hibridizirali po protokolih, razvitih za mikromreže Steroltalk.<sup>1</sup> Pred označevanjem smo RNA dodali tuje oz. normalizacijske RNA.

### Pristop za kontrolo kvalitete podatkov mikromrež na osnovi normalizacijskih sond

Normalizacijske sonde lahko poleg za izračun normalizacijske krivulje uporabimo tudi za kontrolo kvalitete meritev DNA mikromrež. Z njihovo pomočjo lahko odkrijemo mikromreže

nižje kvalitete in pripadajoče podatke izločimo iz nadaljnje analize. Kontrola kvalitete temelji na analizi kovariance (ANCOVA) normalizacijskih sond, ki jih predhodno centriramo z razmerjem koncentracij, v katerih smo dodali tujo RNA k primerjanima vzorcema.

Model ANCOVA je nadgrajen model analize variance (ANOVA) z dodano spremenljivko, ki kovariira z osnovno spremenljivko. Je mešanica modela ANOVA in linearne regresije. Moč testa ANCOVA je povečana tako, da odstrani tisti del variance, ki ga povzroči kovariiranje osnovne in dodane spremenljivke.<sup>8</sup> Variabilnosti spremenljivke pri modelu ANOVA izrazimo z vsoto kvadriranih odklonov za tretmaje, pri modelu ANCOVA pa kot vsoto kvadriranih odklonov od regresijske krivulje (Slika 2). Tako izračunana vsota kvadratov je manjša od tiste pri modelu ANOVA.



**Slika 2.** ANOVA (zgoraj) – ena regresijska krivulja v sredini, ANCOVA (spodaj) – dve regresijski krivulji. Različni tretmaji so ponazorjeni s križci (+) in krožci (o).

Predlagani pristop je osnovan na testiranju ničelne hipoteze ( $H_0$ ), da med razmerji intenzitet normalizacijskih kontrol, ki jih predhodno centriramo, ne obstajajo statistično značilne razlike, pri čemer upoštevamo tudi vrednost njihove povprečne intenzitete ( $A$ ). Vrsta kontrole predstavlja fiksni faktor, logaritem razmerja intenzitet signalov ( $M$ ) neodvisno spremenljivko, logaritem povprečne intenzitete ( $A$ ) pa sospremenljivko (angl. covariate). Test opravimo po parih; pri 18 vrstah normalizacijskih kontrol, ki so prisotne na mikromreži Steroltalk, torej opravimo 153 testov. Število statistično značilnih rezultatov uporabimo kot mero za kvaliteto podatkov posamezne mikromreže (nižja vrednost pomeni višjo kvaliteto).

S testom primerjamo razlike med istovrstnimi normalizacijskimi sondami (na mikromreži Steroltalk so vse nanese v šestih ponovitvah), ki so posledica tehničnih omejitev pri izdelavi mikromreže in meritvene napake laserskega čitalca (torej faktorjev, na katere tekom poskusa ne moremo vplivati), z razlikami med različnimi vrstami normalizacijskih sond, do katerih lahko

pride v tekom izvedbe poskusa in katere lahko nadzorujemo: uspešnost integracije barvila, natančnost pipetiranja, uspešnost spiranja... Na ta način kontroliramo kvaliteto izvedbe poskusa in posledično kvaliteto izvedenih podatkov. S predlaganim pristopom tudi zagotovimo, da se normalizacijska krivulja dobro prilega podatkom normalizacijskih sond, in hkrati opozorimo na potencialna odstopanja posameznih vrst normalizacijskih sond, katere lahko tekom normalizacije izločimo iz izračuna normalizacijske krivulje.

### **Evaluacija predlaganega pristopa kontrole kvalitete podatkov mikromrež**

Predlagani pristop kontrole kvalitete podatkov DNA mikromrež smo aplicirali na študijah učinka rifampicina in rosuvastatina z uporabo mikromreže Steroltalk v2, katerih namen je bil ovrednotiti razlike v izražanju genov, ki jih povzroči administracija omenjenih dveh učinkovin. Primerjali smo razlike v izražanju genov, do katerih pridemo brez in z uporabo predlaganega pristopa, in jih ovrednotili s stališča poznavanja učinka omenjenih učinkovin.

Mikromreže, ki so bile hibridizirane v omenjenih študijah, smo razvrstili glede na število signifikantnih rezultatov testov ANCOVA pri  $\alpha=0,05$  od najslabše ocenjene (najvišje število signifikantnih testov) do najboljše. Postopno smo odstranjevali podatke najslabše ocenjenih mikromrež in iz vsakega nabora podatkov ovrednotili diferencialno izražene gene z uporabo dvostranskega t-testa za neodvisne vzorce pri statistični značilnosti  $\alpha=0,05$ . Primerjali smo sezname diferencialno izraženih genov iz šestih naborov podatkov: osnovnega nabora, ki je vseboval vse podatke, in petih naborov, pri katerih smo odstranili podatke od ene do pet najslabše ocenjenih mikromrež. Gene smo razvrstili v skupine glede na njihov vzorec pojavljanja v seznamih diferencialne izraženosti in jih ovrednotili na podlagi poznavanja njihovih bioloških funkcij in s pomočjo literature.

## Rezultati

Predlagan pristop kontrole kvalitete podatkov DNA mikromrež smo ovrednotili s stališča razlik v izražanju genov pri študiji učinka rifampicina in rosuvastatina. Za vsako študijo smo primerjali šest seznamov diferencialno izraženih genov: nabor (a) je vseboval vse podatke, pri naborih (b)-(f) pa smo odstranili podatke od ene do pet najslabše ocenjenih mikromrež. Glede na vzorec pojavljanja genov v seznamih diferencialne izraženosti smo določili sledeče skupine genov:

1. geni, ki z odstranitvijo najslabše ocenjenih podatkov izginejo s seznama diferencialne izraženosti;
2. geni, ki se z odstranitvijo najslabše ocenjenih podatkov pojavijo na seznamu diferencialne izraženosti;
3. geni, pri katerih se z odstranjevanjem najslabše ocenjenih podatkov diferencialna izraženost spreminja;
4. diferencialno izraženi geni, na katere predlagan pristop ne vpliva.

Gene, pri katerih se z odstranjevanjem najslabše ocenjenih podatkov diferencialna izraženost spreminja (skupina 3), smo na podlagi manj stroge statistične značilnosti  $\alpha=0,1$  poskusili prerazporediti v eno izmed drugih skupin. Pri preostalih (neprerazporejenih) genih pa smo primerjali njihove p-vrednosti po posameznih obravnavah in poskusili sklepati o njihovi diferencialni izraženosti.

### Poskus na študiji rifampicina

Tabela 1 prikazuje 5 najslabše ocenjenih in 2 najbolj ocenjeni mikromreži pri poskusu z rifampicinom. Postopno smo odstranjevali podatke najslabše ocenjenih mikromrež in ovrednotili diferencialno izražene gene. Tabela 2 prikazuje primerjavo diferencialno izraženih genov, ovrednotenih iz vseh podatkov (a), po odstranitvi podatkov mikromreže Rif48h269 (b), po

odstranitvi podatkov mikromrež Rif48h269 in Rif48h271 (c), itd. Gene smo glede na vzorec njihove diferencialne izraženosti preko posameznih obravnav razvrstili v zgoraj opisane štiri skupine.

**Tabela 1.** Število statistično značilnih rezultatov analize kovariance med pari normalizacijskih sond pri petih najslabše (zgoraj) in dveh najboljše (spodaj) ocenjenih mikromrežah, hibridiziranih pri študiji učinka rifampicina.

Oznaka mikromreže	Št. stat. značilnih rezultatov ( $\alpha=0,05$ )
Rif48h269	146
Rif48h271	138
Rif48h270	137
UnRif270	136
Rif48h89	135
...	...
UnRif129	114
UnRif89	102

**Tabela 2.** Diferencialno izraženi geni pri študiji vpliva rifampicina glede na različne obravnave podatkov ( $t$ -test,  $\alpha=0,05$ ). (a) vsi podatki, (b)-(f) odstranjenih 1-5 meritev najnižje kvalitete. S # je označena skupina genov glede na vzorec njihovega pojavljanja v seznamih diferencialne izraženosti. + (-) označujeta statistično značilno povišano (znižano) izražanje genov s seznama.

a b c d e f	Seznam genov	#	
+	CYP39A1		
++	CYP4F8,CYP4F11	1	
+++	GFPT2		
	+	HMGCL,LDHA	2
	----	CYP8B1	
	--	NR1I2	
	+	APOC1,CEBPG,INSIG2,PPARA	
	++	NFKBIE	
	++	DHCR24	3
	++	SLCO1B1	
	+++	NR1D2	
	+++	CYP2A6,CYP2A7,CYP2A13	
	+++	NOS1	
	++++	ALAS1,CEBPA,CYP2C8,CYP2C9, CYP2C18,CYP2C19,CYP3A4,CYP3A5, CYP3A7,CYP3A43,DBP,NR5A2	4

Tabela 3 prikazuje p-vrednosti genov, pri katerih se z odstranjevanjem najslabše ocenjenih mikromrež diferencialna izraženost spreminja



(skupina 3). Gene smo z uporabo manj stroge statistične značilnosti  $\alpha=0,1$  poskusili prerazporediti v eno izmed drugih skupin.

**Tabela 3.** Diferencialno izraženi geni pri študiji vpliva rifampicina iz skupine 3 in pripadajoče p-vrednosti po posameznih obravnavah. S # je označena skupina genov, določena glede na vzorec diferencialne izraženosti preko posameznih obravnav pri statistični značilnosti  $\alpha=0,1$ .

a	b	c	d	e	f	Gen	#
0,250	0,305	0,048	0,028	0,051	0,112	<i>NR112</i>	3
0,051	0,022	0,052	0,076	0,061	0,085	<i>APOC1</i>	4
0,101	0,033	0,056	0,111	0,132	0,132	<i>CEBPG</i>	3
0,062	0,030	0,064	0,140	0,155	0,155	<i>INSIG2</i>	1
0,124	0,047	0,102	0,130	0,182	0,182	<i>PPARA</i>	3
0,065	0,018	0,045	0,070	0,116	0,116	<i>NFKBIE</i>	1
0,021	0,036	0,057	0,149	0,109	0,019	<i>DHCR24</i>	3
0,011	0,025	0,062	0,191	0,011	0,011	<i>SLCO1B1</i>	3
0,011	0,022	0,045	0,111	0,097	0,015	<i>NR1D2</i>	3
0,013	0,016	0,035	0,090	0,035	0,078	<i>CYP2A6</i>	4
0,013	0,016	0,036	0,093	0,034	0,085	<i>CYP2A7</i>	4
0,015	0,017	0,037	0,094	0,037	0,081	<i>CYP2A13</i>	4
0,017	0,014	0,036	0,055	0,048	0,048	<i>NOS1</i>	4

**Poskus na študiji rosuvastatina**

Tabela 4 prikazuje 5 najslabše ocenjenih in 2 najboljše ocenjeni mikromreži pri poskusu z rosuvastatinom. Na enak način kot pri študiji rifampicina smo postopno odstranjevali podatke najslabše ocenjenih mikromrež in ovrednotili diferencialno izražene gene, ki so prikazani v Tabeli 5. Gene smo glede na vzorec njihove diferencialne izraženosti preko posameznih obravnav razvrstili v zgoraj opisane štiri skupine.

Tabela 6 prikazuje p-vrednosti genov, pri katerih se z odstranjevanjem najslabše ocenjenih mikromrež diferencialna izraženost spreminja (skupina 3). Gene smo z uporabo manj stroge statistične značilnosti  $\alpha=0,1$  poskusili prerazporediti v eno izmed drugih skupin.

**Tabela 4.** Število statistično značilnih rezultatov analize kovariance med pari normalizacijskih sond pri petih najslabše (zgoraj) in dveh najboljše (spodaj) ocenjenih mikromrežah, hibridiziranih pri študiji učinka rosuvastatina.

Oznaka mikromreže	Št. stat. značilnih rezultatov ( $\alpha=0,05$ )
UnRo271	150
Ro48h114	147
UnRo270	147
Ro48h89	142
Ro48h270	141
...	...
UnRo129	96
Ro48h271	90

**Tabela 5.** Diferencialno izraženi geni pri študiji vpliva rosuvastatina glede na različne obravnave podatkov (t-test,  $\alpha=0,05$ ). (a) vsi podatki, (b)-(f) odstranjenih 1-5 meritev najnižje kvalitete. S # je označena skupina genov glede na vzorec njihovega pojavljanja v seznamih diferencialne izraženosti. + (-) označujeta statistično značilno povišano (znižano) izražanje genov s seznama.

a b c d e f	Seznam genov	#
+++	<i>INSIG1</i>	1
---	<i>SAA2</i>	2
----	<i>ORM1</i>	
+	<i>ACAT2,FDFT1</i>	3
----	<i>C9</i>	
--	<i>APCS</i>	4
+++++	<i>ACAS2,FDPS,HMGCS1,IDI1,SQLE</i>	
-----	<i>ABCG5</i>	

**Tabela 6.** Diferencialno izraženi geni pri študiji vpliva rosuvastatina iz skupine 3 in pripadajoče p-vrednosti po posameznih obravnavah. S # je označena skupina genov, določena glede na vzorec diferencialne izraženosti preko posameznih obravnav pri statistični značilnosti  $\alpha=0,1$ .

a	b	c	d	e	f	Gen	#
0,063	0,039	0,076	0,149	0,185	0,105	<i>ACAT2</i>	1
0,066	0,044	0,078	0,078	0,130	0,062	<i>FDFT1</i>	3
0,103	0,037	0,048	0,013	0,024	0,051	<i>C9</i>	2
0,039	0,066	0,034	0,030	0,061	0,139	<i>APCS</i>	1

## Diskusija

Predlagani pristop postopnega odstranjevanja podatkov mikromrež nižje kvalitete smo s stališča izvedbe ovrednotili na podlagi primerjave skupin genov, ki smo jih določili glede na vzorec njihove diferencialne izraženosti preko posameznih obravnav. Geni, ki se z odstranitvijo najslabše ocenjenih podatkov na novo pojavijo na seznamu diferencialne izraženosti (skupina 2), kažejo na uporabnost predlaganega pristopa, s katerim smo uspeli iz analize diferencialne izraženosti odstrani tiste meritve, ki so največ prispevali k šumu v podatkih. Taki geni so trije od skupno 32 pri študiji vpliva rifampicina (rif) in 2 od skupno 13 pri študiji vpliva rosuvastatina (ros). Geni, ki z odstranitvijo najslabše ocenjenih podatkov izginijo iz seznama diferencialne izraženosti (skupina 1), kažejo na problem zmanjševanja moči statističnega testa za ugotavljanje diferencialne izraženosti, do katerega pride z odstranjevanjem podatkov posameznih meritev. Taki geni so štirje pri rif in eden pri ros.

Največjo skupino predstavljajo geni, na katere predlagan pristop ne vpliva. Sem spadajo diferencialno izraženi geni iz skupine 4 (12 genov pri rif in 6 pri ros), in hkrati tudi vsi geni, za katere diferencialna izraženost ni bila potrjena v nobeni izmed obravnav.

Geni, pri katerih se z odstranjevanjem najslabše ocenjenih podatkov diferencialna izraženost spreminja (13 genov pri študiji vpliva rifampicina in 4 pri študiji vpliva rosuvastatina), izkazujejo tako uporabnost pristopa kot tudi problem zmanjševanja moči statističnega testa, do katerega pride z odstranjevanjem podatkov posameznih meritev. Za te smo s primerjavo p-vrednosti preko posameznih obravnav pokazali, da jih lahko v večini primerov z uporabno manj stroge statistične značilnosti  $\alpha=0,1$  prerazporedimo v eno izmed prej omenjenih skupin. Na ta način smo uspeli prerazporediti 7 od 13 genov pri rif (Tabela 3) in 3 od 4 genov pri ros (Tabela 6). Pri preostalih neprerazporejenih genih smo opazili, da se njihove p-vrednosti preko vseh obravnav gibljejo blizu

mejne vrednosti izbrane statistične značilnosti, zaradi česar je njihove diferencialne izraženosti ne moremo zanesljivo napovedati.

Primerjava p-vrednosti genov iz skupine 3 (Tabela 3 in 6) pokaže, da z odstranjevanjem podatkov najslabše ocenjenih mikromrež dosežemo tako pozitiven učinek odstranjevanja šuma v podatkih kot tudi negativen učinek zmanjševanja moči statističnega testa za ugotavljanje diferencialne izraženosti (t-test). Pozitiven učinek odstranjevanja šuma je najbolj opazen pri genu *NR1I2* (Tabela 3) po odstranitvi podatkov dveh najslabše ocenjenih mikromrež (obravnav (c)) in pri genu *C9* (Tabela 6) po odstranitvi podatkov najslabše ocenjene mikromreže (obravnav (b)).

Smotrnost uporabe predlaganega pristopa smo ovrednotili tudi s stališča poznanih bioloških funkcij genov, za katere smo v različnih obravnavah lahko potrdili statistično značilno diferencialno izraženost, in s pomočjo rezultatov iz obstoječe literature. Gene, vključene v mikromrežo Steroltalk, smo na podlagi poznavanja njihovih bioloških funkcij razdelili v funkcijske razrede; za obravnavane gene so prikazani v Tabelah 7 in 8 v Prilogi. S pomočjo razredov smo ovrednotili celovitost in smiselnost diferencialne izraženosti posameznih genov. Pri tem smo izhajali iz predpostavke, da geni znotraj posameznih razredov delujejo v skupnih genskih poteh, torej je njihovo izražanje v medsebojni soodvisnosti. Diferencialna izraženost večjega števila genov, ki pripadajo istemu funkcijskemu razredu, na ta način potrjuje dejansko spremembo v genski poti, ki uravnava določene biološke funkcije. Pristop evaluacije je konceptualno podoben pristopu GSEA (angl. Gene Set Enrichment Analysis)<sup>9</sup> za avtomatsko analizo podatkov o izraženosti večjega števila genov na podlagi njihove razdelitve v razrede. Pri primerjavi z literaturo smo se osredotočili na poskuse, ki so bili biološko podobni našim v smislu opazovanega biološkega sistema (primarni človeški hepatociti) in učinkovin (statini oz. antibiotiki).

## Poskus z rifampicinom

Rifampicin je antibiotik, ki se uporablja za zdravljenje tuberkuloze in nekaterih drugih bakterijskih okužb. V znanosti pa se uporablja kot klasičen aktivator človeškega jedrnega receptorja PXR (pregnanski X receptor) in preko njega aktivira metabolizem ksenobiotikov. Pri poskusu z rifampicinom smo na vzorcu primarnih človeških hepatocitov lahko potrdili naslednje diferencialno izražene gene (Tabela 2):

- Encimi faze I presnove ksenobiotikov:

Geni **CYP2A6**, **CYP2A7** in **CYP2A13** imajo na mikromreži Steroltalk skupno sondo, tako da se mRNA enega hibridizira z sondami vseh treh genov, kar pomeni, da bi se morali naštetni geni obnašati enako v vseh obravnavah.

Oscarson in soavtorji<sup>10</sup> navajajo, da se gen **CYP2A6** inducira po aplikaciji ksenobiotika karbamazepina, ki tako kot rifampicin tudi inducira mnoge družine citokromov P450 preko PXR. V obravnavah (d) in (f) diferencialne izraženosti teh treh genov ne moremo potrditi, kar lahko pripišemo zmanjšani moči t-testa, do katerega pride z odstranjevanjem podatkov mikromrež nižje kvalitete.

Geni družine **CYP2C** imajo skupno sondo. Oscarson in soavtorji<sup>10</sup> navajajo, da se morajo geni **CYP2C8**, **CYP2C9**, **CYP2C19** po aplikaciji rifampicina inducirati. Geni so diferencialno izraženi v vseh obravnavah.

Oscarson in soavtorji<sup>10</sup> navajajo, da se morajo geni **CYP3A4** in **CYP3A7** in **CYP3A43** po aplikaciji rifampicina inducirati. Geni **CYP3A4**, **CYP3A5** in **CYP3A7** imajo na mikromreži Steroltalk skupno sondo. Našteti geni so diferencialno izraženi v vseh obravnavah; na te gene podobno kot na gene družine **CYP2C** odstranjevanje podatkov ne vpliva.

Gena **CYP4F8** in **CYP4F11** se v obravnavah (a) in (b) prikažeta kot diferencialno izražena

zaradi nespecifične hibridizacije gena **CYP4F3**, kar je v skladu z navedbo Oscarsona in soavtorjev.<sup>10</sup> Geni **CYP4F2**, **CYP4F8** in **CYP4F11** imajo na mikromreži Steroltalk skupno sondo. Kljub temu diferencialne izraženosti gena **CYP4F2** ne moremo potrditi v nobeni od obravnav.

Znižano izražanje gena **CYP8B1**, kar je v skladu z navedbo Bhalla in soavtorjev,<sup>11</sup> smo potrdili šele po odstranitvi podatkov dveh najslabše ocenjenih mikromrež, torej v obravnavah (c)-(f).

- Jedrni receptorji: gen **NR1I2** (PXR) se po administraciji karbamazepina inducira.<sup>10</sup> V obravnavah (c) in (d), torej po odstranitvi podatkov dveh oziroma treh najslabše ocenjenih mikromrež, smo potrdili njegovo diferencialno izražanje. V nasprotju z navedbo Oscarsona in soavtorjev<sup>10</sup> smo pokazali negativno spremembo v njegovi izraženosti, vendar pri relativno nizki vrednosti M: -0,220 v obravnavi (b) in -0,356 v obravnavi (c).
- Skupina Hem: Gen **ALAS1** se inducira po aplikaciji ksenobiotika,<sup>12</sup> kar lahko potrdimo v vseh obravnavah.
- Transport in presnova žolčnih kislin in ksenobiotikov: Gen **SLCOB1** se po administraciji karbamazepina inducira,<sup>10</sup> kar lahko potrdimo v vseh obravnavah z izjemo obravnav (c) in (d).

Pri poskusu z rifampicinom smo s predlaganim pristopom potrdili diferencialno izraženost devetih genov (**HMGCL**, **LDHA**, **CYP8B1**, **NR1I2**, **APOC1**, **CEBPG**, **INSIG2**, **PPARA** in **NFKBIE**), ki jih v primeru obravnave podatkov vseh mikromrež ne moremo potrditi. Zmožnost potrditve diferencialne izraženosti trinajstih genov iz skupine 3 (**NR1I2**, **APOC1**, **CEBPG**, **INSIG2**, **PPARA**, **NFKBIE**, **DHCR24**, **SLCO1B1**, **NR1D2**, **CYP2A6**, **CYP2A7**, **CYP2A13** in **NOS1**) je odvisna od izbrane obravnave. Zmožnost potrditve diferencialne izraženosti dvanajstih genov iz skupine 4 (**ALAS1**, **CEBPA**, **CYP2C8**, **CYP2C9**,

*CYP2C18, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43, DBP* in *NR5A2*) pa se z aplikacijo predlaganega pristopa ne spreminja.

Na podlagi dobljenih rezultatov pri poskusu z rifampicinom lahko v obravnavah (a) in (b) potrdimo diferencialno izraženost največjega števila genov (16), ki so bili predhodno opisani v literaturi.

### Poskus z rosuvastatinom

Rosuvastatin spada med statine, ki se uporabljajo za zdravljenje hiperholestemije in preprečevanje bolezni srca in ožilja. Celostna študija presnove tega statina v človeških jetrih oz. na modelu primarnih človeških hepatocitov predhodno še ni bila opisana. Pri poskusu z rosuvastatinom smo lahko potrdili naslednje diferencialno izražene gene (Tabela 5):

- Biosinteza holesterola in njeno uravnavanje: Iz te skupine smo v vseh obravnavah potrdili diferencialno izraženost genov **ACAS2**, **FDPS**, **HMGCS1**, **ID11** in **SQLE**, v obravnavi (b) gena **ACAT2** in **FDFT1** ter v obravnavah (a)-(c) gen **INSIG1**. Administracija lovastatina v primarne človeške hepatocite poveča količino aktivne oblike transkripcijskega dejavnika SREBP2 (angl. sterol response element binding protein 2), le-ta pa poviša izražanje vseh zgoraj omenjenih genov.<sup>13</sup>
- Transport holesterola: Gen **ABCG5** se po administraciji statinov poviša izražanje v jetrih miši in podgan ter črevesju človeka.<sup>14-16</sup> V nasprotju z omenjenimi navedbami smo pokazali negativno spremembo v njegovi izraženosti, vendar pri relativno nizki vrednosti *M* (-0,467 v obravnavi (a)). Slednje lahko pojasnimo z dejstvom, da je bil v našem primeru uporabljen drug statin in drugo tkivo.
- Geni **APCS**, **C9**, **ORM1**, **SAA2** sodelujejo v vnetnem odgovoru, za katerega je bila pokazana inhibicija s statini.<sup>17</sup>

Pri poskusu z rosuvastatinom smo s predlaganim pristopom potrdili diferencialno izraženost petih genov (**SAA2**, **ORM1**, **ACAT2**, **FDFT1** in **C9**), ki jih v primeru obravnave podatkov vseh mikromrež ne moremo potrditi. Zmožnost potrditve diferencialne izraženosti štirih genov iz skupine 3 (**ACAT2**, **FDFT1**, **C9** in **APCS**) je odvisna od izbrane obravnave. Zmožnost potrditve diferencialne izraženosti šestih genov iz skupine 4 (**ACAS2**, **FDPS**, **HMGCS1**, **ID11**, **SQLE** in **ABCG5**) pa se z aplikacijo predlaganega pristopa ne spreminja.

Na podlagi dobljenih rezultatov pri poskusu z rosuvastatinom lahko v obravnavah (b)-(d) potrdimo diferencialno izraženost največjega števila genov (10), ki so bili predhodno opisani v literaturi.

## Zaključek

Predlagan pristop je uporaben predvsem pri DNA mikromrežah nizke gostote, pri katerih normalizacija ni osnovana na predpostavki o enakosti količine mRNA v vzorcih, pač pa na večjem številu kontrolnih sond, kamor hibridiziramo visoko-kalibrirano tujo RNA. Pristop je neodvisen od uporabljene vrste DNA mikromreže in kot tak lahko pomembno prispeva k izoblikovanju enotne sheme kontrole kvalitete DNA mikromrež in posledično k hitrejšemu prenosu te tehnologije v klinično prakso.

Pristop izkorišča normalizacijske sonde za oceno variance v meritvah, na katero tekom poskusa ne moremo vplivati, in variance, ki jo tekom poskusa lahko nadzorujemo. S primerjavo obeh komponent varianc lahko zaznamo potencialna odstopanja posameznih vrst normalizacijskih sond, ki privedejo do slabšega prileganja normalizacijske krivulje in posledično manj natančne normalizacije podatkov. S pristopom lahko izpostavimo meritve nižje kvalitete in jih izločimo iz nadaljnje analize.

Pri študijah učinka rifampicina in rosuvastatina na modelu primarnih človeških hepatocitov se je predlagan pristop izkazal kot učinkovit in v smislu fiziologije tudi koristen. Z odstranitvijo podatkov mikromrež nižje kvalitete smo natančneje analizirali spremembe v izražanju genov, kar smo potrdili z navedbami iz literature. Pokazali smo, da je pristop postopnega odstranjevanja podatkov pri analizi diferencialne izraženosti uporaben do meje, kjer izguba na moči statističnega testa preseže prednosti odstranjevanja šuma, ki ga dosežemo z izločitvijo podatkov mikromrež nižje kvalitete iz analize.

### Zahvala

Zahvalili bi se dr. Katalin Monostory iz Madžarske akademije znanosti v Budimpešti (HAS) in dr. Jean-Marc Pascussiju z INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médicale), Montpellier v Franciji, ki sta pripravila in tretirala človeške primarne hepatocite. Zahvalili bi se tudi dr. Juan A. Contrerasu, ki je opravil del hibridizacij mikromrež Steroltalk. Študiji aplikacije rifampicina in rosuvastatina sta bili financirani iz EU FP6 projekta Steroltalk.

### Literatura

1. Režen T: *S ksenobiotiki posredovano uravnavanje lanosterol 14alfa-demetilaze (CYP51) in drugih genov homeostaze holesterola pri miši in človeku*. Ph.D. thesis. Ljubljana, Slovenija 2007: Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani.
2. Režen T, Contreras JA, Rozman D: Functional Genomics Approaches to Studies of the Cytochrome P450 Superfamily. *Drug Metabolism Reviews* 2007; 39(2): 389-399.
3. Canales RD, Luo Y, Willey JC, et al.: Evaluation of DNA microarray results with quantitative gene expression platforms. *Nat Biotechnol* 2006; 24(9): 1115-1122.
4. Tibshirani R: Immune signatures in follicular lymphoma. *N Engl J Med* 2005; 352(14): 1496-1497; author reply 1496-1497.
5. Ji H, Davis RW: Data quality in genomics and microarrays. *Nat Biotechnol* 2006; 24(9): 1112-1113.
6. Demšar J, Zupan B, Grega L: Orange: From Experimental Machine Learning to Interactive Data Mining. White paper. Ljubljana, Slovenia 2004: Faculty of Computer and Information Science, University of Ljubljana.
7. Cleveland WS: Robust Locally Weighted Regression and Smoothing Scatterplots. *Journal of the American Statistical Association* 1979; 74(368): 829-836.
8. Gaddis ML: Statistical methodology: IV. Analysis of variance, analysis of covariance, and multivariate analysis of variance. *Acad Emerg Med* 1998; 5(3): 258-265.
9. Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, et al.: Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(43): 15545-15550.
10. Oscarson M, Zanger UM, Rifki OF, et al.: Transcriptional profiling of genes induced in the livers of patients treated with carbamazepine. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80(5): 440-456.
11. Bhalla S, Ozalp C, Fang S, et al.: Ligand-activated pregnane X receptor interferes with HNF-4 signaling by targeting a common coactivator PGC-1alpha. Functional implications in hepatic cholesterol and glucose metabolism. *J Biol Chem* 2004; 279(43): 45139-45147.
12. Maglich JM, Stoltz CM, Goodwin B, et al.: Nuclear pregnane x receptor and constitutive androstane receptor regulate overlapping but distinct sets of genes involved in xenobiotic detoxification. *Mol Pharmacol* 2002; 62(3): 638-646.
13. Horton JD, Shah NA, Warrington JA, et al.: Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(21): 12027-12032.
14. Kamisako T, Ogawa H: Effects of pravastatin and bezafibrate on biliary lipid excretion and hepatic expression of Abcg5 and Abcg8 in the rat. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19(8): 879-883.
15. Lally S, Tan CY, Owens D, et al.: Messenger RNA levels of genes involved in dysregulation of postprandial lipoproteins in type 2 diabetes: the role of Niemann-Pick C1-like 1, ATP-binding cassette, transporters G5 and G8, and of microsomal triglyceride transfer protein. *Diabetologia* 2006; 49(5): 1008-1016.
16. Tang W, Ma Y, Yu L: Plasma cholesterol is hyperresponsive to statin in ABCG5/ABCG8

transgenic mice. *Hepatology* 2006; 44(5): 1259-1266.

hypercholesterolaemia: effect of atorvastatin therapy. *J Intern Med* 2005; 257(6): 523-530.

17. Sampietro T, Bigazzi F, Rossi G, et al.:  
Upregulation of the immune system in primary

## Priloga

**Tabela 7.** Seznam potencialno diferencialno izraženih genov pri administraciji rifampicina, njihova identifikacijska številka (angl. Accession number), slovensko ime in pripadajoči funkcijski razred.

Gen	Accession	Slovensko ime	Funkcijski razred
ALAS1	NM_003920	Aminolevulinat-sintaza 1	Hem
NFKBIE	BC063609	Jedrni faktor inhibitor ojačevalca gena	Adipocitokin
NOS1	BC051765	Dušikov oksid-sintaza 1, nevrnska	Aterogeneza
DHCR24	NM_004820	24-dehidroholesterol-reduktaza	Biosinteza holesterola
HMGCL	BC010570	HMG-CoA-liaza	Biosinteza holesterola
DBP	AF237982	Vezavni protein D mesta promotorja albumina	Cirkadični ritem
NR1D2	NM_006446	Jedrni receptor, 1D2	Cirkadični ritem
GFPT2	NM_000771	Glutamin:fruktoza-6-fosfat transaminaza 2	Glukoza
LDHA	NM_001645	Laktat-dehidrogenaza A	Glukoza
CYP4F11	NM_022820	Citokrom P450, 4F11	Maščobne kisline
CYP4F8	NM_000777	Citokrom P450, 4F8	Maščobne kisline
PPARA	NM_005036	Jedrni receptor peroksisomske proliferacije alfa	Maščobne kisline
CEBPA	BC021116	CCAAT/ojačevalec vezavni protein, alfa	Maščobne kisline, glukoza
CYP2A13	BC001491	Citokrom P450, 2A13	Metabolizem in transport ksenobiotikov
CYP2A6	NM_021187	Citokrom P450, 2A6	Metabolizem in transport ksenobiotikov
CYP2C18	BC005807	Citokrom P450, 2C18	Metabolizem in transport ksenobiotikov
CYP3A4	NM_000104	Citokrom P450, 3A4	Metabolizem in transport ksenobiotikov
CYP3A43	NM_000766	Citokrom P450, 3A43	Metabolizem in transport ksenobiotikov
CYP3A5	AF182275	Citokrom P450, 3A5	Metabolizem in transport ksenobiotikov
CYP3A7	NM_000772	Citokrom P450, 3A7	Metabolizem in transport ksenobiotikov
NR1I2	NM_003889	Pregnan X receptor	Metabolizem in transport ksenobiotikov
CYP39A1	NM_000392	Citokrom P450, 39A1	Metabolizem in transport žolčnih kislin
CYP8B1	NM_004391	Sterol 12 $\alpha$ -hidroksilaza	Metabolizem in transport žolčnih kislin
SLCO1B1	NM_002107	Nosilec organskih anionov, 1B1	Metabolizem in transport žolčnih kislin in ksenobiotikov
NR5A2	X03225	Jedrni receptor, 5A2, jetrni receptor homolog 1	Metabolizem in transport žolčnih kislin, steroidnih hormonov in holesterola
CYP2C19	NM_000778	Citokrom P450, 2C19	Metabolizem ksenobiotikov in eikozanoidov
CYP2C8	NM_004364	Citokrom P450, 2C8	Metabolizem ksenobiotikov in eikozanoidov
CYP2C9	NM_004827	Citokrom P450, 2C9	Metabolizem ksenobiotikov in eikozanoidov
CEBPG	NM_005566	CCAAT/ojačevalec vezavni protein, gama	Neznana funkcija
CYP2A7	NM_007253	Citokrom P450, 2A7	Neznana funkcija
INSIG2	AA197454	Inzulin inducirajoči gen 2	SREBP signalna pot
APOC1	NM_001486	Apolipoprotein C1	Transport holesterola

**Tabela 8.** Seznam potencialno diferencialno izraženih genov pri administraciji rosuvastatina, njihova identifikacijska številka (angl. Accession number), slovensko ime in pripadajoči funkcijski razred.

Gen	Accession	Slovensko ime	Funkcijski razred
ACAS2	NM_018677	Acil-CoA-sintetaza 2	Biosinteza holesterola
ACAT2	NM_005891	Acetil-CoA-acetiltransferaza 2	Biosinteza holesterola
FDFT1	BC009251	Farnezil-pirofosfat-farneziltransferaza 1	Biosinteza holesterola
FDPS	BC010004	Farnezil-pirofosfat-sintaza	Biosinteza holesterola
HMGCS1	NM_002130	HMG-CoA-sintaza 1	Biosinteza holesterola
IDI1	BC005247	Izopentenil-pirofosfat-delta-izomeraza	Biosinteza holesterola
SQLE	BC017033	Skvalen-epoksidaza	Biosinteza holesterola
APCS	BC007039	P-element serumskega amiloida	Serumski proteini
C9	BC020721	Komplement 9	Serumski proteini
ORM1	BC026238	Orozomukoid 1	Serumski proteini
SAA2	BC020795.1	Serumski amiloid A2	Serumski proteini
INSIG1	BC001880	Z inzulinom inducirani gen 1	SREBP signalna pot
ABCG5	NM_022436	ABC prenašalec, G5	Transport holesterola

Izvirni znanstveni članek ■

## Meta-analiza v tehnologiji genskih mikromrež

## Meta-Analysis in the Technology of DNA Microarrays

### Andrej Kastrin

**Izvleček.** Genske mikromreže so v zadnjih letih dobile primat rutinske metode za merjenje izraženosti genov. Kljub hitri rasti števila raziskav vprašanje ponovljivosti rezultatov posameznih poskusov ostaja odprto. S sistematično integracijo rezultatov primerljivih poskusov v obliki meta-analize povečamo velikost vzorca, kombinirana ocena velikosti učinka za proučevanje genski produkt pa je posledično bolj zanesljiva. Poveden je preprost način združevanja rezultatov mikromrežnih poskusov na osnovi statističnega modela s fiksnimi in slučajnimi vplivi. Uporaba modela je prikazana na integraciji treh različnih podatkovij izraženosti genov pri človeških zarodkih s trisomijo kromosoma 21. Uporaba, razvoj in implementacija metod za integracijo mikromrežnih podatkov je ključnega pomena za kakovost in posplošljivost rezultatov genomskih raziskav.

**Abstract.** With the explosion of microarray technology, an enormous amount of data is being generated. Systematic integration of gene expression data from different sources increases reliability of detecting differentially expressed genes. The challenge, however, is in designing and implementing efficient analytic methodologies for combination of data generated by different studies. We consider the meta-analysis of different microarray data sets using a fixed and random effect paradigm and demonstrate how relatively standard statistical approach yield promising results. We illustrated proposed method by integrating gene expression profiles from three different prenatal trisomy 21 studies. Our results show that this approach would serve as a plausible method for analyzing microarrays beyond the specific implications for trisomy 21.

---

Institucija avtorja: Inštitut za medicinsko genetiko, Univerzitetni klinični center Ljubljana.

Kontaktna oseba: Andrej Kastrin, Inštitut za medicinsko genetiko, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Šlajmerjeva 4, 1000 Ljubljana. email: andrej.kastrin@guest.arnes.si.

■ **Infor Med Slov:** 2007; 12(2): 14-21



## Uvod

Z vprašanjem zanesljivosti se srečujemo v vseh znanstvenih disciplinah, ki poskušajo svoje raziskovalne domneve preveriti z empiričnimi izsledki. Zanesljivi rezultati so ključnega pomena za doseganje osnovnega cilja znanstvenega raziskovanja, t.j. ugotavljanja zakonitosti, ki nam omogočajo pojasnjevanje in napovedovanje opazovanih pojavov. Zanesljivost v širšem smislu pomeni, da bomo s ponavljanjem meritev istega pojava v istih okoliščinah dobili podobne rezultate. Zanesljivost merjenja je tem večja, čim bolj so razlike v izmerjenih vrednostih posledica dejanskih sprememb merjenega pojava in čim manjši je vpliv slučajnih dejavnikov.

Razmerje med eksplozivno uporabo tehnologije genskih mikromrež ter potrebo po implementaciji računskih modelov in statističnih metod za njihovo analizo se je v zadnjih letih ustalilo.<sup>1,2</sup> Kljub temu, da so v bioloških znanostih mikromreže dobile primat rutinske metode za merjenje izraženosti genov in njihovih produktov, vprašanje ponovljivosti rezultatov posameznih poskusov ostaja odprto. Na izmerjeno vrednost izraženosti genskega produkta namreč poleg dejanske, biološke vrednosti, vplivajo tudi sistematične napake (npr. način normalizacije), slučajne napake ter napake, ki so sicer slučajne glede na dejansko vrednost, a korelirajo med seboj pri ponovljenih meritvah.<sup>3</sup>

Smiseln odgovor na problem zanesljivosti posameznih poskusov ponuja njihova integracija v obliki meta-analize. Gre za statistično analizo, v kateri na sistematičen način združujemo rezultate posameznih med seboj (ne)odvisnih poskusov.<sup>4</sup> Ideja o združevanju podatkov večih neodvisnih raziskav je Fisherjeva, temelje moderne meta-analize pa je pred slabimi tremi desetletji postavil Glass, ko je na metodološko rigorozen način ovrgel smelo Eysenckovo tezo o ničnosti učinka psihoterapije.<sup>4</sup> Ustrezno izvedena meta-analiza (i) ponuja sistematične, hitre in zanesljive odgovore na raziskovalne domneve, (ii) zaradi večje količine podatkov povečuje statistično moč zaključevanja,

(iii) daje pregled nad metodologijo izvedbe posameznih poskusov ter nenazadnje (iv) omogoča velik prihranek sredstev na račun ponovitvenih poskusov.

Termin meta-analiza morda v kontekstu analize mikromrežnih podatkovij nekoliko zavaja, saj v primerjavi s klasičnimi meta-analitičnimi študijami ne združujemo končnih rezultatov posameznih poskusov v skupno oceno, pač pa le to sestavimo na osnovi ponovne analize surovih rezultatov. Na ta način normaliziramo razlike med poskusi, ki so posledica uporabe različnih tipov mikromrež na genomih oz. transkriptomih enakih ali različnih organizmov, različnih protokolov hibridizacije, odčitavanja in analize rezultatov. Velikost vzorca in s tem statistična moč se povečata, kombinirana ocena velikosti učinka za proučevan genski produkt pa je bolj zanesljiva, kar posredno vpliva tudi na večjo klasifikacijsko točnost merskega instrumenta.<sup>3</sup> Glavna problema, na katera naletimo pri taki vrsti analize, sta (i) definiranje univerzuma genov, ki so skupni vsem poskusom ter (ii) opredelitev cenilke, ki ustrezno povzame informacijo posameznih poskusov v skupno oceno.

Kljub razmeroma dolgi tradiciji uporabe meta-analize v biomedicini je njena aplikacija na področju mikromrež še v povojih.<sup>5-20</sup> Prvi korak v tej smeri je naredil Rhodes,<sup>5</sup> ki je združil profile genske izraženosti pri bolnikih z rakom na osnovi Fisherjeve metode združevanja  $p$ -vrednosti. Surova statistična pomembnost izračunana za posamezen gen pa nam ničesar ne pove o njegovi praktični pomembnosti. Zato je bila kasneje izvedena serija praktičnih eksperimentov in teoretičnih simulacij z različnimi merami velikosti učinka.<sup>6,9</sup> Trenutno sta v središču pozornosti razvoj in implementacija metod, ki temeljijo na Bayesovih hierarhičnih modelih.<sup>19,21</sup>

V nadaljevanju prispevka obravnavamo preprosto in hitro Choievo<sup>6</sup> metodo združevanja rezultatov mikromrežnih poskusov na osnovi statističnega modela s fiksnimi in slučajnimi vplivi.

## Metoda

### Statistični model

V poskusu  $i=1,2,\dots,k$  obravnavamo proučevano ( $t$ ) in kontrolno ( $c$ ) skupino. Z  $n_{it}$  in  $n_{ic}$  označimo število vzorcev po skupinah v poskusu  $i$ . Kot mero razlike v izraženosti gena oz. zaporedja med proučevano in kontrolno skupino v poskusu  $i$  definiramo cenilko velikosti učinka:

$$d_i = \frac{\bar{X}_{it} - \bar{X}_{ic}}{S_{ip}}, \quad (1)$$

kjer sta v  $\bar{X}_{it}$  in  $\bar{X}_{ic}$  povprečni vrednosti izraženosti gena v proučevani in kontrolni skupini v poskusu  $i$ ,  $S_{ip}$  pa skupni standardni odklon. Pokazati se da, da je ta ocena na majhnih vzorcih pozitivno pristrana.<sup>4</sup> Zato uporabimo popravek za končnost populacije:

$$d'_i = d_i - \frac{3d_i}{4(n-2)-1}. \quad (2)$$

V nadaljevanju privzemimo, da z  $d_i$  označujemo nepristrano popravljeno oceno. Njeno varianco izračunamo po enačbi:

$$\hat{\sigma}_{d_i}^2 = \left( \frac{1}{n_{it}} + \frac{1}{n_{ic}} \right) + \frac{d_i^2}{2(n_{it} + n_{ic})}. \quad (3)$$

Za gen  $g$  naj  $d_i$  označuje izmerjeno vrednost dejanskega učinka  $\theta_i$  v poskusu  $i$ ,  $\mu$  pa njegovo dejansko velikost učinka, t.j. verjetnostno limito, ki se ji približuje aritmetična sredina velikosti učinkov  $d_i$  za gen  $g$  med skupinama  $t$  in  $c$ , če število poskusov  $k$  narašča čez vse meje. Velikost učinka za gen  $g$  v poskusu  $i$  zapišemo v obliki dvostopenjskega hierarhičnega modela:<sup>6</sup>

$$\begin{cases} d_i = \theta_i + \varepsilon_i, & \varepsilon_i \sim N(0, s_i^2) \\ \theta_i = \mu + \delta_i, & \delta_i \sim N(0, \tau^2) \end{cases} \quad (4)$$

Prva stopnja opisuje fiksni, druga pa slučajni model učinka. V modelu je s  $\tau^2$  označena varianca

med poskusi,  $s_i^2$  pa označuje varianco znotraj poskusov, ki jo ocenimo po enačbi (3). V modelu s fiksnimi vplivi je homogenost med poskusi popolna, zato velja  $\theta_1=\theta_2=\dots,\theta_n$ . Komponento napake v celoti pojasnimo s slučajnimi napakami in zanemarimo variabilnost med poskusi, torej velja  $\tau^2=0$  in  $d_i \sim N(\mu, s_i^2)$ . V modelu s slučajnimi vplivi pa upoštevamo tudi variabilnost med poskusi, zato velja  $d_i \sim N(\theta_i, s_i^2)$  in  $\theta_i \sim N(\mu, \tau^2)$ . Veljavnost modela s fiksnimi vplivi preverimo s testiranjem domneve  $\tau^2=0$ . V ta namen uporabimo Cochranovo testno statistiko:<sup>21</sup>

$$Q = \sum w_i (d_i - \hat{\mu})^2, \quad (5)$$

$$\text{kjer sta } w_i = \frac{1}{s_i^2} \text{ in } \hat{\mu} = \frac{\sum w_i d_i}{\sum w_i}.$$

Ničelna porazdelitev testne statistike sledi  $\chi^2_{k-1}$  porazdelitvi. Če ničelno domnevo zavrnilo, ocenimo  $\tau^2$  po obrazcu, ki sta ga predlagala DerSimonian in Laird:<sup>22</sup>

$$\tau^2 = \max \left\{ 0, \frac{Q - (k-1)}{\sum w_i - \sum w_i^2 / \sum w_i} \right\}. \quad (6)$$

Oceno dejanske vrednosti velikosti učinka  $\mu$  izračunamo kot:

$$\hat{\mu} = \frac{\sum (s_i^2 + \tau^2)^{-1} d_i}{\sum (s_i^2 + \tau^2)^{-1}}, \quad (7)$$

njeno varianco pa po enačbi:

$$\text{Var}(\hat{\mu}) = \frac{1}{\sum (s_i^2 + \tau^2)^{-1}}. \quad (8)$$

Vrednosti statistik za model s fiksnimi učinki izračunamo enako, upoštevamo pa, da velja  $\tau^2=0$ . Oceno velikosti učinka za gen  $g$  v  $k$  poskusih standardiziramo in izrazimo v  $z$ -vrednostih:

$$z_g = \frac{\hat{\mu}}{\text{Var}(\hat{\mu})} \quad (9)$$

Standardizirane vrednosti se porazdeljujejo normalno, zato nivo statistične značilnosti gena  $g$  izpeljemo po standardnem postopku.

### Opis eksperimenta

Statistični model smo uporabili za integracijo rezultatov izraženosti genov pri človeških zarodkih s trisomijo kromosoma 21 (Downov sindrom). Ob pregledu spletnega podatkovnega skladišča mikromrežnih podatkov Gene Expression Omnibus<sup>23</sup> so vključitvenemu kriteriju ustrezali trije poskusi: GSE1397,<sup>24</sup> GSE1789<sup>25</sup> in GSE6283. Poskusi so bili opravljeni na celicah tkiv velikih in malih možganov, srca, amniona in horionskih resic ter v različnih razvojnih obdobjih zarodka. Z izjemo poskusa GSE1397 so bili vzorci znotraj poskusov med seboj neodvisni. Vsi poskusi so bili izvedeni v okolju Affymetrixovih genomskih biočipov (HG-U133A oz. HG-U133 Plus 2.0). Za normalizacijo surovih podatkov je bil uporabljen mas5 algoritem.<sup>26</sup>

Da se izognemo nevšečnostim, ki nas doletijo pri uporabi  $p$ -vrednosti v analizi mikromrežnih podatkovij, smo izračunali še recipročne  $q$ -vrednosti, pri katerih rezultat izrazimo z deležem napačno pozitivnih zadetkov (*angl.* false discovery rate) med dejansko različno izraženimi zaporedji med proučevano in kontrolno skupino.<sup>27-29</sup>

Statistični model smo implementirali v okolju R.<sup>30</sup> Programska koda v Sweave zapisu je dostopna na spletnem naslovu <http://www2.arnes.si/~akastr1/>.

### Rezultati

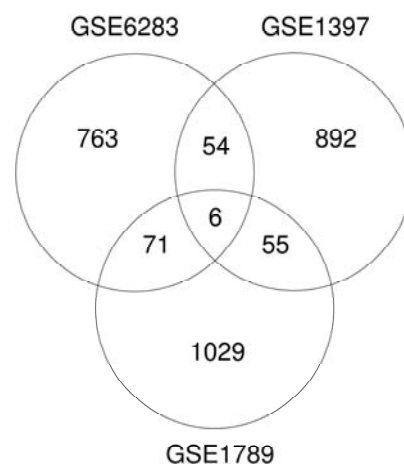
V meta-analizo je bilo vključenih 55 vzorcev; 27 zarodkov s trisomijo kromosoma 21 in 28 kontrolnih zarodkov (Tabela 1). Uporabljenim okoljem je bilo skupnih 22277 zaporedij.

**Tabela 1** Opisne statistike poskusov vključenih v meta-analizo.

GEO	Okolje	$n_i$	$n_c$
GSE1397	HG-U133A	11	14
GSE1789	HG-U133A	10	5
GSE6283	HG-U133A Plus 2.0	6	9

Pojasnilo: GEO - identifikator poskusa;  $n_i$  - število proučevanih zarodkov;  $n_c$  - število kontrolnih zarodkov.

Pred aplikacijo predlaganega statističnega modela smo najprej preverili prosto ujemanje statistično značilno izraženih zaporedij med poskusi. V ta namen smo znotraj vsakega poskusa zaporedjem priredili ocene velikosti učinka, jih izrazili v standardiziranih  $z$ -vrednostih, izračunali gostoto verjetnosti ter zaporedja uredili po stopnji statistične značilnosti. Vennov diagram (Slika 1) prikazuje število statistično značilno izraženih zaporedij znotraj poskusov in med poskusi. Na nivoju tveganja  $\alpha=0.05$  je v preseku šest skupnih zaporedij, na nivoju tveganja  $\alpha=0.01$  pa je presek prazna množica.



**Slika 1** Vennov diagram prikazuje število statistično značilno izraženih zaporedij znotraj poskusov ter njihovo ujemanje med poskusi ( $\alpha=0.05$ ).

Veljavnost modela s fiksnim učinkom najlaže preverimo s Q-Q grafikonom (Slika 2), ki prikazuje odnos med dejansko in pričakovano porazdelitvijo Cochranove testne statistike. Prednost takega prikaza pred uvedbo dodatne testne statistike je v tem, da lažje vidimo, kje in v kolikšni meri dejanska porazdelitev odstopa od

pričakovane. V našem primeru se odstopanje med porazdelitvama povečuje z večanjem dejanskih  $Q$  vrednosti, zato veljavnost modela s fiksnimi učinki zavrnamo.

Standardiziranim vrednostim velikosti učinka za posamezna zaporedja priredimo gostote verjetnosti ( $p$ -vrednosti). V Tabeli 2 je povzeto število statistično značilnih zaporedij za izbrane stopnje tveganja  $\alpha$ . Na nivoju tveganja  $\alpha=0.01$  izločimo 231 zaporedij, za katere trdimo da se statistično značilno razlikujejo med proučevanimi in kontrolnimi zarodki. Ob bolj liberalnem kriteriju ( $\alpha=0.05$ ) je takih zaporedij 1071.

Ujemanje med zaporedji izbranimi po povedenem statističnem modelu s slučajnimi vplivi ter posameznimi poskusi najlažje predstavimo grafično s pomočjo toplotnega grafikona (Slika 3). Vrstice v matriki odgovarjajo zaporedjem, ki smo jih opredelili kot statistično značilno različna znotraj vsaj enega poskusa. Na nivoju tveganja  $\alpha=0.01$  dobimo 711 takih zaporedij. Toplotni grafikon odkriva največje prekrivanje s poskusom GSE1789; ujemanje z ostalima poskusoma je manjše. Takšna primerjava je smiselna predvsem zaradi tega, ker je meta-analiza občutljiva na velikosti učinkov, ki so med poskusi stalni in ne nujno veliki. Praktično to pomeni, da bo v meta-analizi višji rezultat doseglo zaporedje, pri katerem je ocenjena velikost učinka približno enaka prek vseh treh poskusov, kot pa zaporedje, ki je močno izraženo le v enem poskusu.

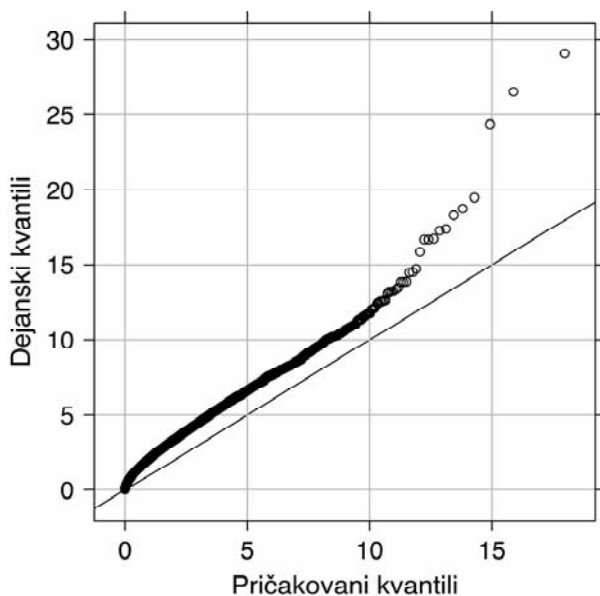
**Tabela 2** Število statistično značilno izraženih zaporedij za izbrane stopnje tveganja  $\alpha$ .

$\alpha$	0.001	0.01	0.025	0.05	0.1
$p$ -vrednost	48	231	559	1071	2201
$q$ -vrednost	0	3	5	14	21

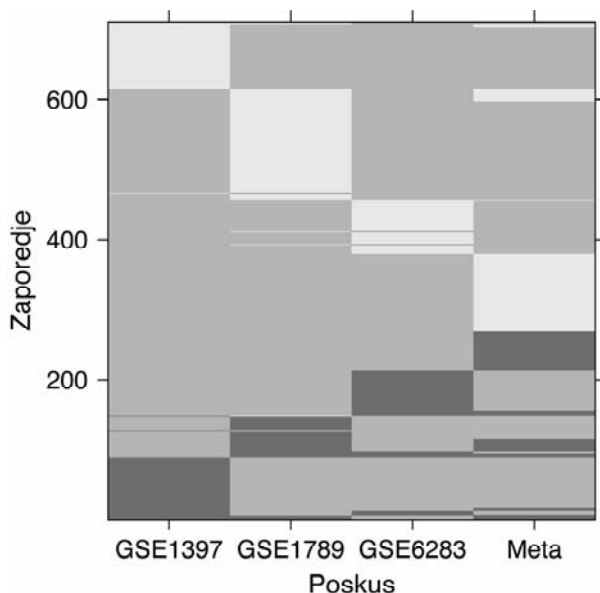
Pojasnilo: Za podrobnosti o  $p$  in  $q$ -vrednostih glej besedilo.

Ob isti stopnji tveganja je med 14 izbranimi zaporedji 5% lažno pozitivnih zadetkov (Tabela 2). Izbrana množica zaporedij, odgovarjajoči geni, standardizirane velikosti učinkov ter natančne  $q$ -vrednosti so povzete v Tabeli 3. 14 zaporedij

ustreza 13 genom na kromosomu 21; vsi geni so nadpovprečno izraženi.



**Slika 2** Q-Q grafikon za preizkus veljavnosti modela s fiksnim učinkom.



**Slika 3** Toplotni grafikon. Črne proge se nanašajo na nadpovprečno izražena, bele pa na podpovprečno izražena zaporedja. Sive proge označujejo statistično neznačilna zaporedja. Za podrobnosti glej besedilo.

**Tabela 3** Množica genov izbrana na osnovi rangiranih  $q$ -vrednosti ( $\alpha=0.05$ ).

Zaporedje	Gen	$z$	$q$
201086_x_at	SON	-5.380	0.002
200642_at	SOD1	-5.204	0.005
214988_s_at	SON	-4.952	0.005
202671_s_at	PDXK	-4.723	0.013
202217_at	C21orf33	-4.580	0.021
200944_s_at	HMGNI	-4.431	0.030
219767_s_at	CRYZL1	-4.428	0.030
201644_at	TSTA3	-4.292	0.049
202749_at	WRB	-4.246	0.049
218386_x_at	USP16	-4.262	0.049
200740_s_at	SUMO3	-4.204	0.049
213000_at	MORC3	-4.192	0.049
211065_x_at	PFKL	-4.185	0.049
216954_x_at	ATP5O	-4.165	0.049

Pojasnilo: Oznaka zaporedja se nanaša na Affymetrixov identifikator.

## Razprava

Integracija empiričnih izsledkov je bistven del sodobne statistične analize mikromrežnih podatkov, s tem pa tudi raziskovalnega in strokovnega dela v biologiji in njenih sorodnih področjih. Prikazan primer uporabe meta-analize za integracijo mikromrežnih podatkov je preprosto izračunljiv, povedeni rezultati pa neposredno razložljivi, bodisi na nivoju genov, bodisi na nivoju ontologij (npr. Gene Ontology). Zaradi metodološke narave prispevka se v biološko interpretacijo rezultatov ne spuščamo.

Nujnost uporabe integrativnega pristopa implicirajo tako rezultati simulacijskih eksperimentov kot tudi klinične raziskave, ki pri preverjanju enakih raziskovalnih domnev in ob primerljivih sospremenljivkah prihajajo do nasprotujočih si ugotovitev. Ein-Dor<sup>31</sup> je npr. dokazal, da je stabilnost razvrstitve genov kandidatov znotraj enega poskusa močno odvisna od izbrane kombinacije proučevanih in kontrolnih vzorcev. Michiels<sup>32</sup> pa pred interpretacijo in pripisovanjem biološkega pomena takim rezultatom celo priporoča uporabo vzorčenja z vračanjem. Klinični primer zmede v raziskovalnih

izsledkih sta nedavno objavljena mikromrežna poskusa, ki sta ugotavljala možne bioznačevalce poteka razvoja Huntingtonove bolezni in v primerljivih pogojih generirala neprimerljive izsledke.<sup>33,34</sup>

Prosto dostopna skladišča mikromrežnih podatkov (npr. GEO,<sup>23</sup> ArrayExpress,<sup>35</sup> SMD,<sup>36</sup> CIBEX<sup>37</sup>) odpirajo nove možnosti integrativnemu pristopu v raziskovanju mikromrežnih podatkov. Kljub temu, da so najbolj vplivne revije (<http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/journals.html>) že pred časom kot pogoj za objavo znanstvenega prispevka zahtevale dosledno upoštevanje MIAME standarda (*angl.* Minimum Information About a Microarray Experiment), pa je kvaliteta povzetkov o uporabljenih metodah obdelave podatkov pogosto nezadovoljiva.<sup>38</sup> Standard jasno zahteva objavo surovih podatkov (npr. CEL ali GPR datoteke), raziskovalne skupine pa pogosto objavljajo zgolj normalizirane rezultate, kar onemogoča kvalitetno integracijo podatkov prek različnih poskusov.

Glavna pomanjkljivost študije je omejena posplošljivost rezultatov, ki izhajajo iz aplikacije modela s slučajnimi napakami na izbranem vzorcu poskusov.<sup>4,6,39</sup> Kljub omejitvam aparata statističnega sklepanja zaradi majhnega števila poskusov in naivni predpostavki neodvisnosti vzorcev v enem od poskusov,<sup>24</sup> smo močno skrčili množico genov kandidatov, aktivnih v razvoju humanega zarodka s trisomijo kromosoma 21. Izkopano znanje in predstavljen metodološki okvir lahko služita kot odskočna deska za nadaljno raziskovalno delo na področju genomike slučajnih kromosomskih nepravilnosti združljivih z življenjem.

Statistika se kljub oviram in težavam, ki izhajajo iz njenega izrazito interdisciplinarnega področja delovanja, čedalje bolj uspešno integrira tako v teoretične kot aplikativne biološke vede. Uporaba, nadaljnji razvoj in implementacija metod za integracijo mikromrežnih podatkov lahko bistveno pripomorejo k večji kakovosti, razložljivosti in posplošljivosti rezultatov genomskih raziskav.

## Literatura

1. He YD: Genomic approach to biomarker identification and its recent applications. *Cancer Biomark* 2006; 2(3-4): 103-133.
2. Phan JH, Quo CF, Wang MD: Functional genomics and proteomics in the clinical neurosciences: data mining and bioinformatics. *Prog Brain Res* 2006; 158: 83-108.
3. He W, Bull SB, Gokgoz N, Andrulis I, Wunder J: Application of reliability coefficients in cDNA microarray data analysis. *Stat Med* 2006; 25(6): 1051-1066.
4. Whitehead A: *Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials*. Chichester 2002: Wiley.
5. Rhodes DR, Barrette TR, Rubin MA, Ghosh D, Chinnaiyan AM: Meta-analysis of microarrays: interstudy validation of gene expression profiles reveals pathway dysregulation in prostate cancer. *Cancer Res* 2002; 62(15): 4427-4433.
6. Choi JK, Yu U, Kim S, Yoo OJ: Combining multiple microarray studies and modeling interstudy variation. *Bioinformatics* 2003; 19 Suppl 1: i84-i90.
7. Ghosh D, Barrette TR, Rhodes D, Chinnaiyan AM: Statistical issues and methods for meta-analysis of microarray data: a case study in prostate cancer. *Funct Integr Genomics* 2003; 3(4): 180-188.
8. Jiang H, Deng Y, Chen H, Tao L, Sha Q, Chen J, Tsai C, Zhang S: Joint analysis of two microarray gene-expression data sets to select lung adenocarcinoma marker genes. *BMC Bioinformatics* 2004; 5: 81.
9. Parmigiani G, Garrett-Mayer ES, Anbazhagan R, Gabrielson E: A cross-study comparison of gene expression studies for the molecular classification of lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10(9): 2922-2927.
10. Rhodes DR, Yu J, Shanker K, Deshpande N, Varambally R, Ghosh D, Barrette T, Pandey A, Chinnaiyan AM: Large-scale meta-analysis of cancer microarray data identifies common transcriptional profiles of neoplastic transformation and progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9309-9314.
11. Shen R, Ghosh D, Chinnaiyan AM: Prognostic meta-signature of breast cancer development by two-stage mixture modeling of microarray data. *BMC Genomic* 2004; 5(1): 94.
12. Wang J, Coombes KR, Highsmith WE, Keating MJ, Abruzzo LV: Differences in gene expression between B-cell chronic lymphocytic leukemia and normal B cells: a meta-analysis of three microarray studies. *Bioinformatics* 2004; 20(17): 3166-3178.
13. Hu P, Greenwood CMT, Beyene J: Integrative analysis of multiple gene expression profiles with quality-adjusted effect size models. *BMC Bioinformatics* 2005; 6: 128.
14. Stevens JR, Doerge RW: Combining Affymetrix microarray results. *BMC Bioinformatics* 2005; 6: 57.
15. Warnat P, Eils R, Brors B: Cross-platform analysis of cancer microarray data improves gene expression based classification of phenotypes. *BMC Bioinformatics* 2005; 6: 265.
16. Xu L, Tan AC, Naiman DQ, Geman D, Winslow RL: Robust prostate cancer marker genes emerge from direct integration of inter-study microarray data. *Bioinformatics* 2005; 21(20): 3905-3911.
17. Conlon EM, Song JJ, Liu JS: Bayesian models for pooling microarray studies with multiple sources of replications. *BMC Bioinformatics* 2006; 7: 247.
18. Park T, Yi SG, Shin YK, Lee S: Combining multiple microarrays in the presence of controlling variables. *Bioinformatics* 2006; 22: 1682-1689.
19. Conlon EM, Song JJ, Liu A: Bayesian meta-analysis models for microarray data: a comparative study. *BMC Bioinformatics* 2007; 8: 80.
20. Fishel I, Kaufman A, Ruppin E: Meta-analysis of gene expression data: a predictor-based approach. *Bioinformatics* 2007; 23(13): 1599-1606.
21. Cochran BG: The combination of estimates from different experiments. *Biometrics* 1954; 10: 101-129.
22. DerSimonian R, Laird N: Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986; 7(3): 177-188.
23. Barrett T, Troup DB, Wilhite SE, et al.: NCBI GEO: mining tens of millions of expression profiles—database and tools update. *Nucleic Acids Res* 2007; 35(Database issue): D760-D765.
24. Mao R, Wang X, Spitznagel EL, et al.: Primary and secondary transcriptional effects in the developing human Down syndrome brain and heart. *Genome Biol* 2005; 6(13): R107.
25. Conti A, Fabbri F, D'Agostino P, et al.: Altered expression of mitochondrial and extracellular matrix genes in the heart of human fetuses with chromosome 21 trisomy. *BMC Genomics* 2007; 8: 268.
26. Irizarry RA, Hobbs B, Collin F, et al.: Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data. *Biostatistics* 2003; 4(2): 249-264.

27. Storey JD, Tibshirani R: Statistical significance for genomewide studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(16): 9440-9445.
28. Pyne S, Futcher B, Skiena S. Meta-analysis on control of false discovery rate: combining yeast ChIP-chip datasets. *Bioinformatics* 2006; 22(20): 2516-2522.
29. Pawitan Y, Michiels S, Koscielny S, Gusnanto A, Ploner A: False discovery rate, sensitivity and sample size for microarray studies. *Bioinformatics* 2005; 21(13): 3017-3024.
30. R Development Core Team: *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria 2007: R Foundation for Statistical Computing.
31. Ein-Dor L, Kela I, Getz G, Givol D, Domany E: Outcome signature genes in breast cancer: is there a unique set? *Bioinformatics* 2005; 21(2): 171-178.
32. Michiels S, Koscielny S, Hill C: Prediction of cancer outcome with microarrays: a multiple random validation strategy. *Lancet* 2005; 365(9458): 488-492.
33. Borovecki F, Lovrecic L, Zhou J, et al.: Genome-wide expression profiling of human blood reveals biomarkers for Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(31): 11023-11028.
34. Runne H, Kuhn A, Wild EJ, et al.: Analysis of potential transcriptomic biomarkers for Huntington's disease in peripheral blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(36): 14424-14429.
35. Parkinson H, Kapushesky M, Shojatalab M, et al.: ArrayExpress—a public database of microarray experiments and gene expression profiles. *Nucleic Acids Res* 2007; 35(Database issue): D747-D750.
36. Ball CA, Awad IAB, Demeter J, et al.: The Stanford Microarray Database accommodates additional microarray platforms and data formats. *Nucleic Acids Res* 2005; 33(Database issue): D580-D582.
37. Ikeo K, Ishi-i J, Tamura T, Gojobori T, Tateno Y: CIBEX: center for information biology gene expression database. *C R Biol* 2003; 326(10-11): 1079-1082.
38. Imbeaud S, Auffray C: 'The 39 steps' in gene expression profiling: critical issues and proposed best practices for microarray experiments. *Drug Discov Today* 2005; 10(17): 1175-1182.
39. Ades AE, Lu G, Higgins JPT: The interpretation of random-effects meta-analysis in decision models. *Med Decis Making* 2005; 25(6): 646-654.

Research Paper ■

# A Simple Assessment of Left Ventricular Function and Mass with Cine MRI

**Rakesh Sharma, Avdhesh Sharma, Charles D. Williams**

**Abstract.** The purpose of the study was to evaluate the reproducibility of a proposed modified assessment method of end-diastolic volume (EDV), end-systolic volume (ESV), ejection fraction (EF) and mass of the left ventricle (LV). Cine MRI was performed in ten healthy volunteers and eight patients with heart disease presenting focal or global thinning of the LV wall and chamber dilatation. In LV, EDV, ESV, EF and LV mass were determined from the horizontal long axis slice by Simpson's disk method. The results were compared with the values computed from short-axis slices by Simpson's rule. Inter-observer and intra-observer reproducibility of Simpson's disk method in assessing LV volumes were 5.06% and 4.03% in percent variability, respectively. The agreement between Simpson's disk method and Simpson's rule, expressed in standard deviation of the mean bias, was acceptable regarding LV for EDV, ESV, EF and LV mass in the healthy volunteers as well as in the patients. Simpson's disk method may therefore serve as an alternative to assess LV for EDV, ESV, EF, and LV mass if the LV maintains its symmetry, and is clinically useful in patients who cannot tolerate long scan time.

■ **Infor Med Slov:** 2007; 12(2): 22-28

---

Authors' institutions: Department of Chemical & Biomedical Engineering, FAMU-FSU College of Engineering, Tallahassee, Florida, USA (RS), Electrical Engineering Department, JNV University College of Engineering, Jodhpur, Rajasthan, India (RS, AS), Radiology Department, Tallahassee Memorial Hospital, Tallahassee, Florida, USA (CDW).

Contact person: Rakesh Sharma, 901 West Jefferson Street, Jeffwood B-7, Tallahassee, FL 32304, USA. email: rs2010@columbia.edu.



## Introduction

Global function and mass of the left ventricle (LV) are important indicators of stratification, treatment planning and prognosis for a patient with cardiac disease. There exist various imaging modalities and analysis methods to assess LV function and mass. MRI has been recognized a modality of choice because it is non-invasive, free of ionizing radiation, and has excellent image quality, including superior temporal and spatial resolution, and high image contrast between the myocardium and blood. Moreover, MRI provides tomographic images of the heart, allowing determination of LV volumes with Simpson's rule. Typically multiple parallel short-axis slices are acquired encompassing the whole LV. The volumes are determined by summing up areas of the LV cavity at each level multiplied by the slice thickness. Simpson's rule determines LV volumes from three-dimensional data of the LV cavity. The assessment is considered accurate because no geometric assumption is involved. To date, using cardiac MRI and Simpson's rule has become a standard method for clinical assessment of LV function and mass.<sup>1</sup>

The major disadvantage of MRI assessment with Simpson's rule is long scan time. This method requires ECG-gated cine MRI in multiple short-axis slices, steady state free precession (SSFP) sequences with successful intermittent breath holds but intolerable to cardiac patients who are critically ill. The method to assess LV function and mass from a single cine acquisition is still desirable with short scan time in clinical settings. To acquire fewer slices and assuming various geometric shapes to approximate the LV cavity suffers with errors because of mismatch between global shape of the LV cavity and simple shape of geometry. Biplane Simpson's disk method seems more accurate than other methods in assessing LV volumes.<sup>2</sup> A Simpson's disk method was proposed to assess LV volumes with a single cine MRI. The method assumed that the shape of the LV cavity at each short-axis level approximates a disk. Based on this assumption, a series of cine MRI was

acquired in a horizontal long-axis view. The LV volumes were determined by summing up a stack of disks along the LV long axis. The purpose of this paper was to compare the proposed Simpson's disk method with standard Simpson's rule in assessing LV function and mass.

## Materials and methods

### Subjects

Ten healthy subjects were enrolled in the study. All subjects completed informed consent before MRI examination. The study was performed under the approval of the Institutional Review Board of the hospital.

### Imaging techniques

A study was performed on a 1.5 Tesla MRI system (GE Signa) with a four-channel phase array receiver coil. Procedures of prescribing a horizontal long-axis view and short-axis views were described as follows. A transverse slice through the left and right ventricles was obtained. A vertical long-axis slice paralleling the interventricular septum was prescribed from the transverse slice. The horizontal long-axis view (or four-chamber view) was determined by prescribing a slice plane perpendicular to the vertical long-axis slice, and the line of intersection coincided with the line between mitral orifice and cardiac apex. Short-axis views were then determined with the slice planes perpendicular to the horizontal long-axis view and to the LV long axis shown in this view. Cine MRI was acquired in multiple short-axis views covering the whole LV and in a single horizontal long-axis view.

We used prospective electrocardiographic R-wave trigger to synchronize MRI data acquisition. The pulse sequence used a non breath-hold two-dimensional (2D) gradient echo technique with TR/TE/flip angles = 30 ms/7 ms/30°. Short-axis slices were prescribed from cardiac base to apex with slice thickness/gap = 10 mm/0 mm. To avoid

cross talks between adjacent excitation pulses, two slice levels separated by a half range of the coverage were scanned in the same acquisition. Nine to eleven short-axis slices were obtained depending on the cardiac size. Setting temporal resolution at 30 ms, the total number of cardiac phases was determined as 90% of R-R interval divided by 30 ms. In-plane resolution of 1.2 mm was obtained with the field-of-view (FOV) of 30 cm and a matrix size of  $128 \times 256$  interpolated to  $256 \times 256$ . To reduce respiratory motion artifacts we used two number of excitation (NEX). The resulting images showed clear distinction between LV cavity and endocardial border. Blurring of the border was observed at the most apical slices due to partial volume effect. The scan time was  $RR \text{ interval} \times 128 \text{ (number of phase encoding)} \times 2 \text{ (NEX)} \times 5 \text{ (five acquisitions for ten levels)}$ , approximately 21 minutes if  $RR \text{ interval} = 1 \text{ sec}$ . Heart rate was recorded at the beginning, middle and end of the examination.

### Image analysis

To define endocardial boundary of the LV in short-axis views, we used an in-house semi-automated edge detection method based on a gray-level auto-contouring algorithm provided by MATLAB 5.2 (Mathworks, Inc., Natick, MA, USA). Once the coordinates of the points on the boundaries were determined, the area enclosed by the boundary was computed. LV volumes were then determined by Simpson's rule:

$$LV \text{ volume} = \sum_{i=1..n} A_i t \quad (1)$$

where  $n$  is the total number of slices,  $A_i$  is the area of the LV cavity at the  $i$ -th level, and  $t$  is the slice thickness. From the time course of LV volumes, we identified the volumes at end diastole (EDV), end systolic (ESV) and calculated the ejection fraction (EF). We included slices at cardiac base containing the mitral valves. If the short-axis plane showed the left atrium and left ventricle, we identified the LV cavity enclosed by the ventricular wall and mitral annulus, and traced the endocardial border manually. The number of

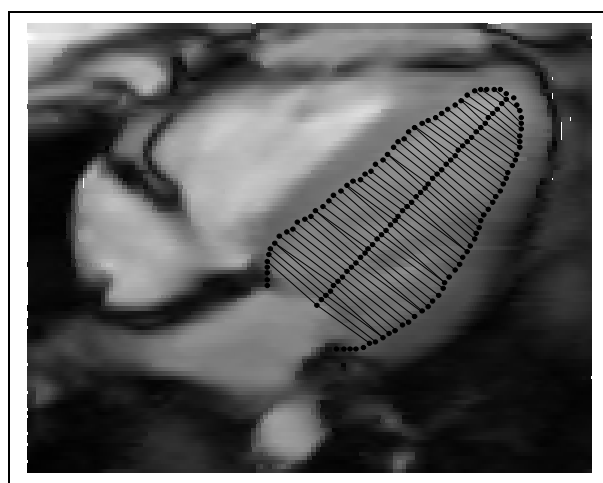
slices at end diastole was one to two slices more than that at end systole.

To determine the LV mass, we used the same edge-detection algorithm to define the endocardial and epicardial boundaries at end diastole. The volume of the LV wall was computed by subtracting the volume enclosed by the endocardial boundary from the volume enclosed by the epicardial boundary. We obtained the LV mass by multiplying the wall volume with the density of the myocardium, assuming 1.05

The LV volumes in the horizontal long-axis cine MRI were determined by manually tracing the borders of the endocardium and epicardium. To apply Simpson's disk method, The LV long axis was defined with a line connecting mitral orifice and cardiac apex in the horizontal long-axis view. Multiple parallel segments were produced along the LV long axis with equal increment (Figure 1). These segments were perpendicular to the LV long axis and were bounded by the septum and lateral wall. The lengths of the segments were taken as the diameters of the disks of the same levels. Knowing the diameters of individual disks and the increment, LV volumes were determined by summing up the volumes of these disks:

$$LV \text{ volume} = \sum_{i=1..m} \pi a d_j^2 / 4 \quad (2)$$

where  $m$  is the total number of disks along the LV long axis,  $d_j$  is the diameter of the disk at the  $j$ -th level, and  $a$  is the distance of increment. As described above, we determined the EDV, ESV, EF and LV mass from the measured volumes. Papillary muscles were excluded from the myocardium in both Simpson's rule and Simpson's disk method.



**Figure 1** Simpson's disk method using a single horizontal long-axis slice by 1.5 T MRI.

**Inter-observer and intra-observer reproducibility**

To evaluate the reproducibility of the Simpson's rule and Simpson's disk method, we evaluated the variability of individual methods between two observers, and between two analyses by the same observer. Inter-observer variability was studied by comparing pairs of results analyzed by two observers. Intra-observer variability was studied by comparing pairs of results from the repeated analyses by the same observer two months apart.

**Statistical analysis**

Reproducibility of each method was quantified in terms of the mean difference between paired measurements, SD of the mean differences and percent variability. Bland-Altman analysis<sup>3,4</sup> was used to evaluate the agreement of LV volumes between the Simpson's disk method and Simpson's rule expressed in terms of the mean bias, upper and lower limits of agreement (mean bias ± 2SD), and 95% confidence interval of the mean bias in the assessment of LV EDV, ESV, EF and LV mass. Data analysis was performed with MATLAB 5.2 (Mathworks, Inc., Natick, MA, USA) software.

**Patient study**

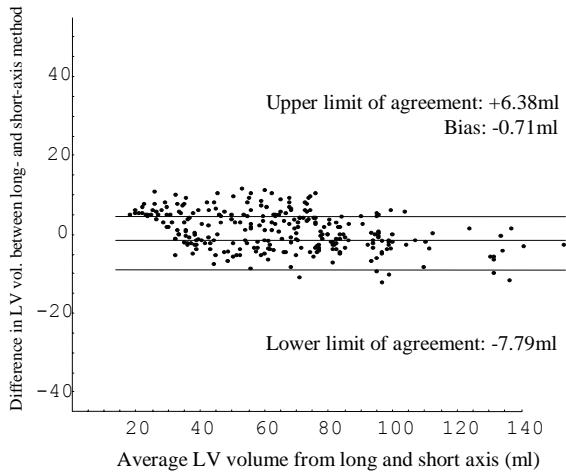
To test the feasibility of Simpson's disk method in disease heart, we studied eight patients who presented with focal or global thinning of the LV wall and chamber dilatation. Cine MRI was performed in a 1.5 T scanner (GE Signa) using balanced SSFP (TrueFISP; TR/TE/flip angle = 22ms/1.8ms/60°). Multiple short-axis slices and one horizontal long-axis slice were obtained at the same spatial and temporal resolution as described above. To demonstrate the LV wall abnormality, delayed enhancement study was performed using inversion-recovery prepared segmented turbo FLASH sequences (TR/TE/flip angle = 750 ms/4.38ms/10°; TI = null point of the myocardial signal; 16 segments per acquisition). Data analysis was performed as described above.

**Results**

Both Simpson's disk method and Simpson's rule showed high intra-observer and inter-observer reproducibility in assessing LV volumes (Table 1). Intra-observer and inter-observer reproducibility in Simpson's disk method were 4.03% and 5.06% in percent variability, respectively, and those in Simpson's rule were 3.02% and 8.49%, respectively.

**Table 1** Reproducibility of left ventricular volumes in Simpson's disk method and Simpson's rule.

Type of variability, Method	SD of mean difference (ml)	Mean difference (ml)	% variability
Intra-observer, Simpson's disk	2.8	0.1	4.03
Inter-observer, Simpson's disk	4.1	-0.7	5.06
Intra-observer, Simpson's rule	1.7	0.4	3.02
Intra-observer, Simpson's rule	5.2	1.7	8.49

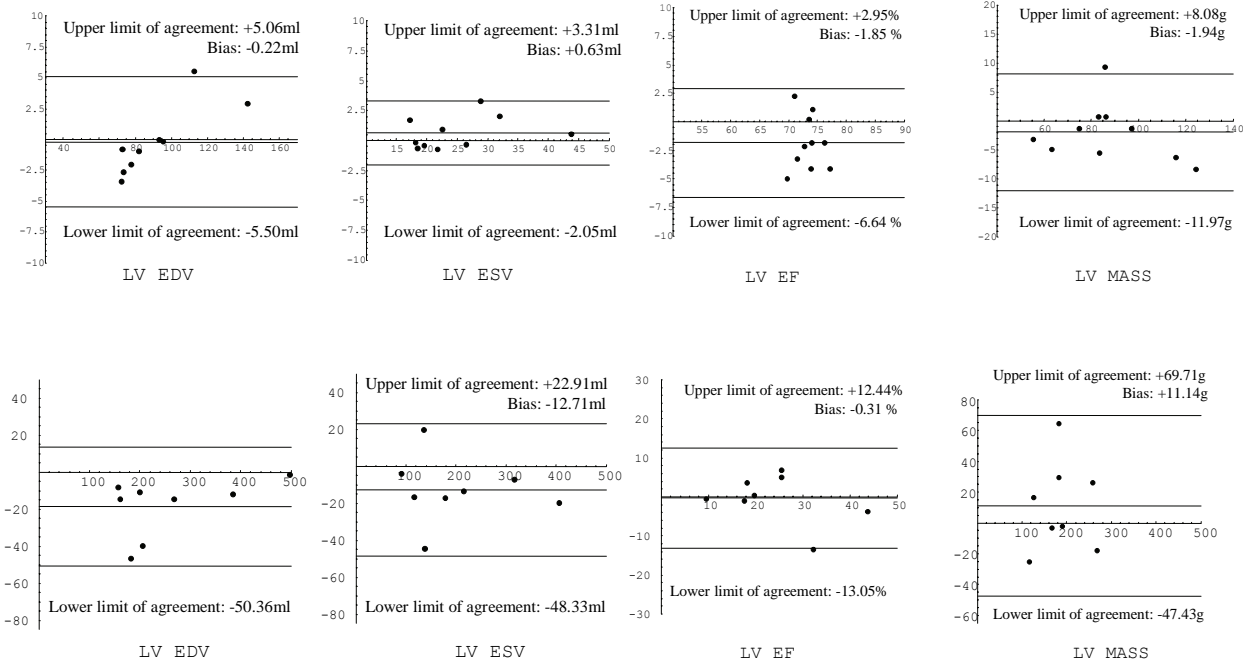


**Figure 2** Bland-Altman plot showing agreement between Simpson’s disk method and Simpson’s rule in the evaluation of LV volumes during cardiac cycle in ten healthy volunteers.

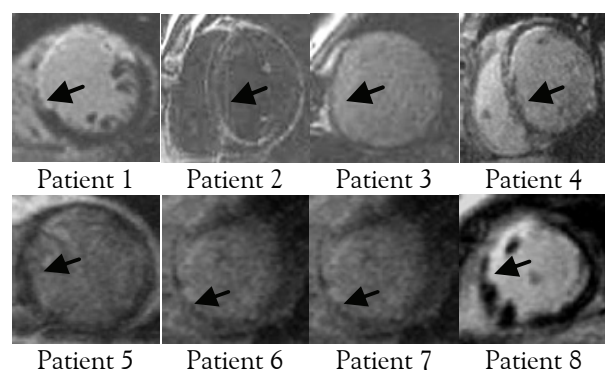
**Table 2** Demographic characteristics and normalized left ventricular functional parameters.

Variable (Mean ± SD)	Healthy volunteers (N=10)	Patients with heart disease (N=8)
Age (years)	31.5 ± 10.3	61.6 ± 9.9
Height (cm)	164.0 ± 9.0	167.0 ± 4.7
Weight (kg)	64.0 ± 12.3	64.0 ± 7.9
BSA (m2)	1.97 ± 0.20	1.72 ± 0.13
HR (beats/min)	70 ± 8.0	79 ± 10
EDVI (ml/m2)	45.4 ± 9.8	152.3 ± 67.2
ESVI (ml/m2)	12.4 ± 3.7	117.4 ± 62.7
EF (%)	73.4 ± 2.4	24.1 ± 12.1
Mass (g/m2)	44.4 ± 9.5	103.1 ± 31.3

Abbreviations: BSA=body surface area; HR=heart rate; EDVI=end diastolic volume index; ESVI=end systolic volume index; EF=ejection fraction.



**Figure 3** Bland-Altman plots showing agreement between Simpson’s disk method and Simpson’s rule in the evaluation of in the evaluation of LV EDV, ESV, EF, and LV mass in ten healthy volunteers (top) and eight patients (bottom).



**Figure 4** Viability study of eight patients with heart disease by 1.5 T MRI using Cine MRI showing transventricular compartments (notice the regions with signal loss in patient 8).

The agreement between Simpson's rule and Simpson's disk method in the evaluation of LV volumes during cardiac cycles is shown in Figure 2. The mean bias (SD) was  $-0.71$  ml ( $3.54$  ml), 95% confidence interval of the mean bias being  $[-1.13, -0.28$  ml], and the upper/lower limit of agreement being  $6.38$  ml/ $-7.79$  ml.

Demographic data of healthy volunteers including LV function and mass are summarized in Table 2. Bland-Altman plots of the agreement between Simpson's rule and Simpson's disk method are shown in the top four graphs in Figure 3. The mean bias (SD) between the two methods was  $-0.22$  ml ( $2.64$  ml) for LV EDV,  $+0.63$  ml ( $1.34$  ml) for ESV,  $-1.85\%$  ( $2.40\%$ ) for EF, and  $-1.94$  g ( $5.01$  g) for LV mass.

Demographic data of the patients including LV function and mass are also summarized in Table 2. Clinical diagnosis and MRI findings of LV wall abnormality and selected images of viability study for each patient are shown in Figure 4. Four patients (patient 1, 2, 4 and 8) with previous history of acute myocardial infarction showed focal hyperenhancement in delayed enhancement study, three patients (patient 5, 6 and 7) with chronic coronary artery disease and one patient (patient 3) with dilated cardiomyopathy did not show hyperenhancement.

Bland-Altman plots of the agreement between Simpson's rule and Simpson's disk method for the patients are shown in the bottom four graphs in Figure 3. The mean bias (SD) between the two methods was  $-18.30$ ml ( $16.01$  ml) for LV EDV,  $-12.71$ ml ( $17.81$  ml) for ESV,  $-0.31\%$  ( $6.37\%$ ) for EF, and  $+11.14$ g ( $29.28$  g) for LV mass.

## Discussion

In the study, we evaluated the reproducibility of Simpson's disk method, and the agreement between this method and Simpson's rule in assessing LV function and mass.

The inter-observer reproducibility of Simpson's rule in our study ( $8.49\%$ ) is comparable with those of other methods reported previously.<sup>5</sup> The percent variability was  $4.0\%$  for EDV and  $8.6\%$  for ESV in conventional non breath-hold cine MRI;  $4.0\%$  for EDV and  $8.0\%$  for ESV in breath-hold cine MRI;  $6.1\%$  for EDV and  $7.8\%$  for ESV in turbo gradient echo; and  $2.8\%$  for EDV and  $5.5\%$  for ESV in balanced SSFP sequence. In this study, we found slightly better inter-observer reproducibility with Simpson's disk method than with Simpson's rule ( $5.06\%$  vs.  $8.49\%$ ).

In healthy volunteers, the agreement between Simpson's disk method and Simpson's rule in assessing LV EDV, ESV, EF, and LV mass revealed small mean bias and narrow SD's of the mean bias. This study in normal heart LV volume and mass by Simpson's disk method suggests that the assumption of disk configuration at each level of short-axis view is valid. Simpson's disk method approximates the shape of LV cavity in piecemeal fashion, reducing the possibility of large error. Single plane in a horizontal long-axis view is reliable to approximate disk diameter.

The agreement between Simpson's disk method and Simpson's rule in assessing LV EF was  $-0.31\%$  in terms of mean bias and  $6.37\%$  in terms of SD of the mean bias. The agreement in LV EDV and ESV in patients showed  $16.01$  ml and  $17.81$  ml in

terms of SD of the mean bias, respectively. Large variability in patients may be the consequence of large EDV and ESV (Table 2). The SD of the difference in EDV was 25 ml in patients with global dysfunction and 18 ml in those with regional dysfunction, respectively. For ESV, the SD's were 25 ml and 10 ml, respectively. If the difference between two measurements is normalized by the mean of the two measurements for individual patients, we obtain 6.0% for EDV and 8.7% for ESV, respectively. Therefore, the reliability of Simpson's disk method in assessing LV EDV and ESV in patients is acceptable. As for the agreement of LV mass in patients, the mean bias (SD) was +11.14 gm (29.28 gm), thus apparently larger than that of healthy volunteers. Nevertheless, the reliability of Simpson's disk method in assessing LV mass is also acceptable.

In this study, conventional gradient echo sequence and balanced SSFP sequence both have inherently different contrast mechanisms to define border. During late systolic phase, the contrast between the myocardium and blood around the apex became indistinguishable because blood flow was slow. To determine endocardial contour in this phase, one often needs to play cine loops back and forth to interpolate the contour location. Although error may still exist, we consider it insignificant because the apical volume is small relative to the total LV volume. Comparing with gradient echo sequences, balanced SSFP sequences provide better contrast between the myocardium and blood. The images obtained from balanced SSFP can reveal fine trabeculae, since greater thickness of trabeculae tends to be excluded from the myocardium in border definition. This subsequently leads to systematic difference. Further study on the definition of the border is required to achieve agreement between

the balanced SSFP sequences and the conventional gradient echo sequences.

The patients in this study were chosen consecutively with obvious symptoms of left heart failure. In these cases, the accuracy of Simpson's disk method may deteriorate because the LV in short-axis view can no longer be approximated by a disk.

## Conclusion

Simpson's disk method has comparable reproducibility with Simpson's rule. The two methods show reasonable agreement in both normal volunteers and patients. Therefore, Simpson's disk method may serve as an alternative for LV function and mass assessment if the LV maintains its original shape.

## References

1. Kramer CM: Imaging of Function. In *Imaging in Cardiovascular Disease*, Eds. Pohost GM, O'Rourke RA, Berman DS, et al., Philadelphia, NY 2000: Lippincott Williams & Wilkins, 417-422.
2. Lawson MA, Blackwell GG, Davis ND, et al.: Accuracy of Biplane Long-axis Left Ventricular Volume Determined by Cine Magnetic Resonance Imaging in Patients with Regional and Global Dysfunction. *Am J Cardiol* 1996; 77: 1098-1103.
3. Bland JM, Altman DG: Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; i: 307-310.
4. Bland JM, Altman DG: Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Meth Med Res* 1999; 8: 135-160.
5. Sakuma H, Fujita N, Foo TKF, et al.: Evaluation of Left Ventricular Volume and Mass with Breath-Hold Cine MR Imaging. *Radiology* 1993; 188: 377-380.

Strokovni članek ■

## **Nekaj malega o računanju velikosti vzorca**

## **Basics of Sample Size Calculations**

**Janez Stare**

**Izveček.** V članku predstavim računanje velikosti vzorcev za nekatere preproste primere, ki pa jih v raziskovalni praksi pogosto srečamo.

**Abstract.** Calculation of the sample size for some most commonly used statistics is presented.

■ **Infor Med Slov:** 2007; 12(2): 29-33

---

Institucija avtorja: Inštitut za biomedicinsko informatiko,  
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani.

Kontaktna oseba: Janez Stare, Inštitut za biomedicinsko  
informatiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,  
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana. email: janez.stare@mf.uni-lj.si.

## Uvod

Da ima velikost vzorca nekaj besede pri tem, kako značilni bodo rezultati statistične analize podatkov, je skoraj splošno znano dejstvo. Za kakšen vpliv gre pa ve že malokdo. Vendar vse več strokovnih in znanstvenih medicinskih revij zahteva izračun potrebne velikosti vzorca oz., obrnjeno, izračun moči testa. Tudi na našem inštitutu čutimo porast takšnih zahtev, zaenkrat žal pre pogosto šele po tem, ko je zbiranje podatkov že zaključeno.

Ko govorimo o potrebni velikosti vzorca, mislimo na določen namen. Najpreprostejši primer je ocenjevanje povprečja. Takrat želimo, da je vzorec dovolj velik, da bomo povprečje ocenili z določeno natančnostjo. Bolj pogosto pa nas zanima statistična značilnost. Recimo, želimo dovolj velika vzorca, da bo razlika med skupinama statistično značilna. Torej, če je med populacijama določena razlika, želimo, da jo naš test zazna. Ali jo bo vedno zaznal? Ne, lahko imamo smolo in izberemo vzorca, ki sta si zelo podobna, čeprav si populaciji nista. Na primer, vemo, da imajo starejši višji krvni pritisk kot mlajši, a če izberemo slučajna vzorca starejših in mlajših, se lahko zgodi, da sta si vzorčni povprečji blizu ali celo v obrnjenem razmerju kot v populaciji. Torej lahko govorimo le o *verjetnosti*, da bo naš test zaznal razliko, če ta obstaja. Tej verjetnosti pravimo *moč testa* in zanjo želimo, da je čim večja. To pa je odvisno od velikosti vzorca. Pogosto izbrana, in še sprejemljiva, moč testa je 0,8 oz. 80%. To pomeni, da bomo obstoječo razliko statistično zaznali v 80% primerov. In NE zaznali v 20% primerov!

Preden začnemo s konkretnimi primeri, naj spomnim še na tole: tudi če med populacijama ni razlik, je test lahko značilen. Kolikokrat? No, to res sodi v osnove statistike pa vseeno povem - v 5% primerov. Če smo mejo statistične značilnosti postavili pri 5% seveda, sicer pa pač ustrezno drugače.

V naslednjih treh razdelkih si bomo poglobljevali ogleдали nekaj najpogostejših primerov izračunavanja velikosti vzorca. Za to potrebujemo

nekaj statističnega znanja, ki ga v članku sicer ponovim, a ne razlagam. Ukvarjali se bomo samo z numeričnimi spremenljivkami, o atributivnih pa morda kdaj drugič.

## Ocenjevanje povprečja

Kadar ocenjujemo povprečje neke numerične spremenljivke želimo predvsem čim večjo natančnost. To pomeni, da želimo, da je naša ocena z določeno verjetnostjo največ za  $d$  oddaljena od pravega povprečja. Da ne bi komplicirali, se dogovorimo, da bomo v vsakem razdelku izbrali neko konkretno verjetnost, v tem vzemimo 95%. To je sicer veliko, v praksi se ponavadi zadovoljimo z manjšo verjetnostjo. Zavedati se moramo, da bodo naše ocene v 5% primerov vendarle za več kot  $d$  oddaljene od pravega povprečja.

Najprej se spomnimo, da se povprečja porazdeljujejo normalno. To je popolnoma res, če je spremenljivka v populaciji porazdeljena normalno, a dovolj dobro res tudi, če ni. Naj bo pravo povprečje  $\mu$ , prava standardna deviacija pa  $\sigma$ . Standardna deviacija porazdelitve povprečij, ki ji ponavadi rečemo standardna napaka, je  $\sigma/\sqrt{n}$ . Ker za normalno porazdeljeno spremenljivko velja, da je 95% njenih vrednosti znotraj intervala, ki seže 1,96 standardne deviacije levo in desno od povprečja in ker želimo, da je v 95% primerov vzorčno povprečje za manj kot  $d$  oddaljeno od povprečja populacije, mora torej biti  $d = 1,96\sigma/\sqrt{n}$  in odtod

$$n = \frac{1,96^2 \sigma^2}{d^2}.$$

Pozoren bralec seveda ne bo spregledal, da v gornji formuli nastopa populacijska  $\sigma$ , ki je v praksi praviloma ne bomo poznali. V formulo torej postavimo neko oceno in se pri tem zavedamo, da bo naš izračun pravilen le, če se pri oceni nismo zmotili. Če smo varianco precenili, ne bo hudega, saj bo zahtevani vzorec pač prevelik (toliko bolje!),



s podcenjevanjem variance pa seveda ne kaže računati velikosti vzorcev.

Primer: oceniti želimo povprečno vrednost sistoličnega krvnega pritiska v populaciji Slovencev. Pri tem hočemo, da se naša vzorčna ocena s 95% verjetnostjo ne bo razlikovala od prave vrednosti za več kot 2 mmHg. Potemtakem je  $d=2$ . Če privzamemo, da je  $\sigma=15$ , dobimo kot potrebno velikost vzorca  $n=216$ . Če bi bili zadovoljni z natančnostjo na 5 mmHg, pa bi potrebovali vsega 35 ljudi. Seveda izračun lahko tudi obrnemo in vprašamo, kako natančno bi ocenili povprečje na primer pri  $n=50$ . Dobili bi  $d=4,2$ . Naj še enkrat poudarim, da so ti rezultati zelo odvisni od tega, kaj smo privzeli za  $\sigma$ .

## Testiranje hipoteze o povprečju populacije

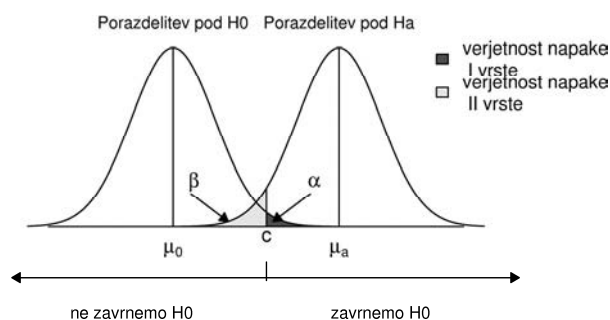
V prvem razdelku smo se ukvarjali z ocenjevanjem populacijskega povprečja. Šlo nam je za natančnost, ničesar nismo testirali. V nadaljevanju si bomo podrobneje pogledali, kako izračunamo potrebno velikost vzorca pri dveh najpogosteje uporabljenih testih: testiranju povprečja in testiranju razlike med dvema vzorcema. Recimo, da želimo preveriti hipotezo

$$H_0: \mu = \mu_0,$$

nasprotna hipoteza pa je

$$H_a: \mu > \mu_0.$$

Označimo dejansko povprečje v populaciji z  $\mu_a$ . Napaka prve vrste (verjetnost, da zavrtnemo pravilno ničelno hipotezo) naj bo  $\alpha$ , napaka druge vrste (verjetnost, da sprejmemo napačno ničelno hipotezo) pa  $\beta$ , moč torej  $1-\beta$ . Privzemimo, da je standardna deviacija enaka  $\sigma$ , tako pod ničelno kot alternativno hipotezo. Izberimo točko  $c$  takole (glej Sliko 1):



**Slika 1:** Testiranje hipoteze o povprečju populacije z enostranskim testom.

Če velja ničelna hipoteza, naj bo desno od nje  $\alpha$  (npr. 5%) vseh vrednosti pod vzorčno porazdelitvijo povprečij, če pa je pravilna alternativna hipoteza, naj  $\beta$  (npr. 10%) vseh vrednosti leži levo od  $c$ .

Potem je

$$c = \mu_0 + z_\alpha \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

in tudi

$$c = \mu_a - z_\beta \frac{\sigma}{\sqrt{n}}.$$

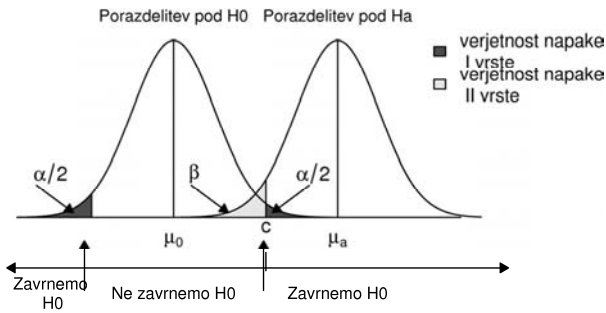
Izraza izenačimo in razrešimo na  $n$ :

$$n = \frac{\sigma^2 (z_\alpha + z_\beta)^2}{(\mu_a - \mu_0)^2}.$$

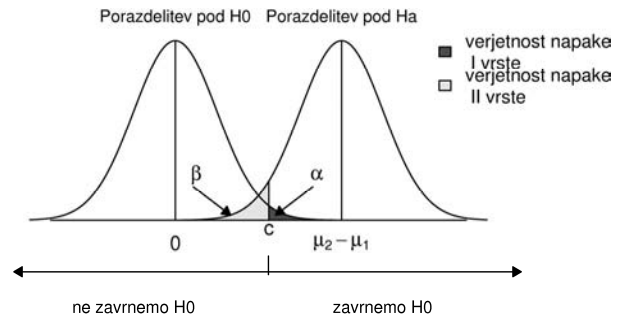
Če je alternativna hipoteza

$$H_a: \mu_a \neq \mu_0,$$

moramo  $z_\alpha$  v zgornjih formulah nadomestiti z  $z_{\alpha/2}$ . Slika 2 ilustrira takšno situacijo.



**Slika 2:** Testiranje hipoteze o povprečju populacije z dvostranskim testom.



**Slika 3:** Dva vzorca, enostranski test za  $H_0: \mu_1 = \mu_2$  proti alternativni hipotezi, da je  $H_a: \mu_2 > \mu_1$ .

## Ocenjevanje razlike dveh povprečij

Problem je enak kot pri ocenjevanju povprečja populacije, le da je standardna deviacija porazdelitve razlik povprečij enaka

$$\sigma_{x_1 - x_2} = \sqrt{\frac{\mu_1^2}{n_1} + \frac{\mu_2^2}{n_2}}$$

Če ponovno  $d$  predstavlja natančnost, je

$$d = z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{\mu_1^2}{n_1} + \frac{\mu_2^2}{n_2}}$$

kar je izraz, iz katerega lahko izračunamo npr.  $n_2$ , če določimo  $n_1$ . Ponavadi se odločimo za razmerje med  $n_1$  in  $n_2$ , torej  $n_2 = kn_1$ , od koder potem sledi

$$n_1 = \frac{z_{\alpha/2}^2 (k\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{kd^2} \tag{1}$$

Izraz se še nekoliko poenostavi, če lahko privzamemo enakost varianc in enako velikost obeh vzorcev.

## Testiranje razlike povprečij dveh neodvisnih vzorcev

Recimo, da želimo preveriti hipotezo

$$H_0: \mu_1 = \mu_2,$$

nasprotna hipoteza pa je

$$H_a: \mu_2 > \mu_1.$$

Označimo razliko med populacijskima povprečjema z  $\delta = \mu_1 - \mu_2$ . Potem lahko hipotezi zapišemo takole:

$$H_0: \delta = 0, H_a: \delta > 0.$$

Situacija je enaka kot pri testiranju enega vzorca, le da gre tukaj za razlike povprečij. Spet naj bo  $c$  točka, za katero velja (glej Sliko 3):

Če velja ničelna hipoteza, naj bo desno od nje  $\alpha$  (npr. 5%) vseh vrednosti pod vzorčno porazdelitvijo razlik, če pa je pravilna alternativna hipoteza, naj  $\beta$  (npr. 10%) vseh vrednosti leži levo od  $c$ . Zdaj je

$$c = 0 + z_{\alpha} \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}$$

in

$$c = \delta + z_{\beta} \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}.$$

Od tu lahko izrazimo  $n_2$  kot funkcijo  $n_1$  (pa še  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$ ,  $z_{\alpha}$  in  $z_{\beta}$ ). Računanje si nekoliko olajšamo, če zopet postavimo  $n_2 = kn_1$ , kar da

$$n_1 = \frac{(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 (k\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{k\delta^2}.$$

Če je alternativna hipoteza

$$H_a: \mu_1 \neq \mu_2,$$

moramo, tako kot prej,  $z_{\alpha}$  v zgornjih formulah nadomestiti z  $z_{\alpha/2}$ .

Strokovni članek ■

## Opremljenost in uporaba informacijskih tehnologij v bolnišnicah in zdravstvenih domovih v Sloveniji

## Equipment and the Usage of Information Technologies in Hospitals and Health Care Centers in Slovenia

**Matic Meglič, Dorjan Marušič, Aleš Anžur, Drago Kodele**

**Izvelek.** Ministrstvo za zdravje RS je leta 2006 izvedlo anketo o tehnološki opremljenosti in uporabi informacijskih orodij s strani izvajalcev zdravstvenega varstva. Opremljenost z računalniki in uporaba informacijskih orodij je primerljiva z državami EU z nekaj pomembnimi izjemami, kot so zdravstveni domovi. Trend opremljenosti zdravstvenih institucij je glede na leto 2003 pozitiven. V skladu z načrti izvajanja strategije eZdravja2010 se bo opremljenost še izboljšala. Uporaba računalnika je pri določenih profilih zaposlenih premajhna, vzroke pa lahko iščemo v pomanjkanju aplikacij (orodij za delo), storitev na nivoju sistema (standardizirana izmenjava podatkov ipd), pomanjkanju vzpodbud za njihov privzem in neustrezne organizacije delovnih procesov.

**Abstract.** In 2006 the Ministry of Health RS performed a survey of information technology equipment and its usage by health care providers in Slovenia. Equipment and the usage of information technologies are in large extent comparable to other EU countries with a few important exceptions, such as primary health care centers. The trend of usage of information technologies is positive in comparison to the year 2003. The situation will further improve as a result of eHealth2010 strategy implementation. There are certain profiles where the usage of computers is not sufficient. The reasons probably lie in the lack of available tools and system's services (e.g. exchange of data), low incentive for their adoption and in the need for adaptation to new work process.

---

Institucije avtorjev: Primorski inštitut za naravoslovje in tehnične vede Koper (MM), Vlada Republike Slovenije (DM), Data-bit d.o.o. (AA), Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije (DK).

Kontaktna oseba: Matic Meglič, Primorski inštitut za naravoslovje in tehnične vede, Muzejski trg 2, 6000 Koper, Slovenija. email: matic.meglic@pint.upr.si.

■ **Infor Med Slov:** 2007; 12(2): 34-39

## Uvod

Zdravstveno varstvo je področje, izredno bogato z informacijami. Uporaba sodobnih informacijskih in komunikacijskih tehnologij (IKT) lahko pomembno poveča učinkovitost zdravstvenega sistema in kakovost storitev.<sup>1-3</sup> Že od projekta RUSZV naprej<sup>4</sup> se v Sloveniji zavedamo potrebe po boljši informacijski podpori. Iljaž, Kersnik in Roženberger so leta 2005 že izvedli raziskavo na vzorcu 36 odzvanih zdravnikov iz primarnega zdravstvenega varstva o uporabi računalniške tehnologije in zadovoljstvu z njo.<sup>5</sup> V istem letu je Ministrstvo za zdravje s strategijo eZdravje 2010 postavilo ogroditve prihodnjega pospešenega razvoja IKT na področju zdravstvenega varstva v Sloveniji.<sup>6</sup>

Za uspešno privzemanje IKT s strani izvajalcev in osebja je potrebno zagotoviti orodja, znanje in veščine, motivacijo ter prilagojeno organizacijo procesov. Na privzemanje IKT vplivajo še številni drugi dejavniki, za primarno zdravstveno varstvo jih je že leta 1994 opisal Dixon.<sup>7</sup>

Na področju družinske medicine je v tujini je uporaba računalnikov zelo razširjena. Po podatkih Eurobarometra so v državah EU15 družinski zdravniki že leta 2002 uporabljali računalnik v 80%, elektronske zdravstvene zapise pa v 29%.<sup>12</sup> Laerum in sodelavci opisujejo, da bolnišnični zdravniki na Norveškem uporabljajo računalnik vsaj v 72% (so računalniško pismeni), v 93% pa ga imajo v svoji pisarni.<sup>13</sup>

Če želimo izboljšati stanje na področju uporabe IKT v zdravstvu, moramo odgovoriti na nekaj ključnih vprašanj. Kakšna je informacijska opremljenost v slovenskem zdravstvu? Kje smo v primerjavi s stanjem v ostalih državah Evropske Unije? Ali so procesi dela v zdravstvu oblikovani tako, da jih lahko informacijsko podpremo s standardnimi rešitvami? Kateri profili izvajalcev uporabljajo IKT in koliko? Obstajajo razlike tudi znotraj posameznih profilov? V prispevku bomo skušali odgovoriti na zastavljena vprašanja in opredeliti aktivnosti, potrebne za nadaljnje

privzemanje IKT s strani izvajalcev zdravstvenih storitev.

## Namen in cilji

Namen raziskave je bil oceniti stanje na področju opremljenosti izvajalcev zdravstvenega varstva z IKT v Sloveniji. To stanje lahko služi kot izhodišče za nadaljnje aktivnosti, ki bi pospešile privzemanje IKT rešitev s strani izvajalcev zdravstvenih storitev.

Cilji raziskave so bili izmeriti opremljenost izvajalcev z osebnimi računalniki (v nadaljevanju teksta "računalniki"), ki je osnovni pogoj za uporabo IKT; uporabo le-teh po posameznih profilih zaposlenih (shema 1) in opredeliti kritične profile, ki potrebujejo za privzemanje dodatne vzpodbude.

## Metode

Uporabili smo podatke iz ankete zaprtega tipa, ki jo je izvajalo Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije med 18. 7. 2006 in 11. 8. 2006. Ankete so v elektronski obliki prejeli vsi izvajalci zdravstvenih storitev v Sloveniji, ki jih vodi v evidenci Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije. Odgovore je Ministrstvo prav tako prejelo v elektronski obliki.

V prispevku smo se omejili na analizo odgovorov na sklop vprašanj o obstoječi informacijski opremi (osebni računalniki, mreže, strežniki ipd) in uporabi le-te. Anketa je sicer vsebovala še sklop vprašanj o komunikacijski opremi. Za analizo smo uporabili vprašanja o številu in sodobnosti osebnih računalnikov, konkretno vprašanje o tipu procesorja v osebnem računalniku. Iz zmogljivosti procesorja namreč sklepamo na njegovo zastarelost. Uporabili smo tudi pridobljene podatke o številu zaposlenih (glede na naslednje profile: zdravnik, zdravstveni tehnik/sestra, administrativno osebje, drugo zdravstveno osebje, nezdravstveno osebje) in številu zaposlenih iz

omenjenih kategorij, ki uporabljajo računalnike. Strategije za neodzivne anketirance pri izvajanju ankete ni bilo.

Pri izračunih števila zaposlenih, števila računalnikov in razmerij med njimi, smo upoštevali le izvajalce, ki so podali vse ustrezne podatke. Za razliko od primerljivih študij v Evropi,<sup>8</sup> kjer so računali število zaposlenih na posamezni računalnik, smo izračunali število zaposlenih, ki dejansko uporabljajo računalnik. Namen podrobnejše meritve je bil bolj natančno oceniti razmerje in se izogniti napaki, ki nastane pri posploševanju, da vsi profili, kot tudi osebje znotraj enakega profila, uporabljajo računalnike v enaki meri.

Za primerjanje različnih profilov zdravnikov in njihove uporabe računalnikov smo uporabili preverjanje hipotez o razlikah med dvema proporcema - dvosmerno testno statistiko s standardiziranim odmikom "z". Za statistično pomembne razlike smo upoštevali vrednost p manjšo od 0,05.

## Rezultati

### Reprezentativnost in struktura prejetih odgovorov

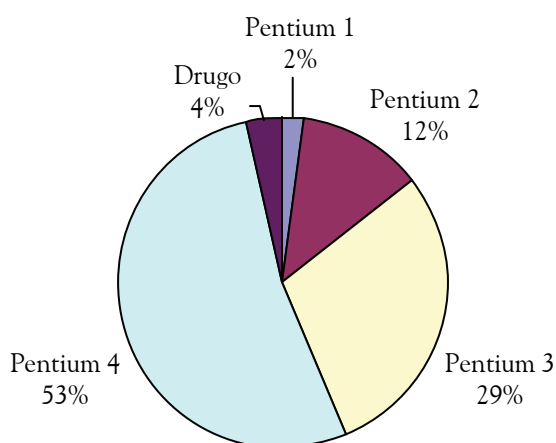
K sodelovanju v anketi je bilo povabljenih 1591 ustanov, ki spadajo v zdravstveni sektor glede na javno objavljene podatke. Odgovorilo je 365 izvajalcev, skupna odzivnost izvajalcev je bila tako 23%. Ustanove, ki so podale odgovore na anketna vprašanja, skupno zaposlujejo 31.190 ljudi različnih poklicev. Glede na podatke Statističnega letopisa iz leta 2002<sup>9</sup> to predstavlja 82% vseh zaposlenih v zdravstvenem sistemu. Odzivnost je bila največja pri bolnišnicah (80%) in zdravstvenih domovih (72%), najmanjša pa v zobozdravstveni dejavnosti (11%). Tabela 1 prikazuje strukturo ustanov, ki smo jih povabili k sodelovanju, in deleže prejetih odgovorov glede na celoto. Pri nadaljnjih izračunih uporabe po tipu ustanov smo se omejili na bolnišnice in zdravstvene domove,

kjer je bila odzivnost dovolj velika za reprezentativen vzorec (za primerjavo je sicer dodana še specialistična dejavnost, čeprav ima odzivnost samo 25%).

**Tabela 1** Struktura odgovorov glede na tip ustanove.

Tip ustanove	Št. povabil	Št. odgovorov	Odziv [%]	Delež [%]
Bolnišnica	30	24	80	7
Zdravstveni dom / Zasebnik koncesionar	79	57	72	16
Lekarna	105	22	21	6
Zdravilišče	19	3	16	1
Socialni in posebni zavodi	105	46	44	13
Spec. dejavnost	262	66	25	18
Zobozdravstvena dejavnost	549	63	11	18
Fizioterapija	83	25	30	7
Nega in patronaža	68	13	19	4
Reševalni prevozi	16	2	13	1
Drugo	275	37	13	10
<b>Skupaj odgovorov</b>	<b>1591</b>	<b>358</b>	<b>23</b>	<b>100</b>

Pojasnilo: Št. povabil: število povabljenih ustanov; Št. odgovorov: število prispelih odgovorov po ustanovah; Odziv [%]: delež prispelih odgovorov po ustanovah; Delež [%]: delež odgovorov od skupno prispelih.



**Slika 1:** Struktura delovnih postaj v bolnišnicah glede na tip procesorja.

### Število in vrsta računalnikov

Ustanove, ki so podale svoje odgovore na vprašanja o tipu delovnih postaj oziroma računalnikov, imajo skupaj 12.502 delovnih postaj. Kar 94 % procesorjev je od podizvajalca Intel (Slika 1). Več kot polovica delovnih postaj je tipa Intel Pentium IV, sledi Intel Pentium III z 29% in Intel Pentium II z 12%.

### Število računalnikov glede na število zaposlenih oseb

Upoštevali smo samo bolnišnice, saj je tako podatek primerljiv z anketo iz leta 2003 in podatki ankete HINE za države Evropske Unije.

V bolnišnicah, ki so poročale, je število zaposlenih 18.977, število računalnikov pa 7.118, kar pomeni, da je v povprečju na voljo en računalnik na 2,67 zaposlenega.

**Tabela 2** Struktura zaposlenih in oseb, ki pri delu uporabljajo računalnik.

Profil zaposlenih	Št. zaposl.	Št. upor. rač.	Delež upor. rač. [%]
Zdravnik	4.101	2.451	60
Sestra / zdravstvenik	9.825	8.194	83
Administrator	1.610	1.509	94
Drugo zdr. osebje (npr. fizioterapevt)	4.981	2.966	60
Nezdravstveno osebje (npr. računovodstvo)	6.135	2.909	47
Skupaj	26.652	18.029	68

Pojasnilo: Št. zaposl.: št. zaposlenih po profilih; Št. upor. rač.: število zaposlenih, ki pri delu uporabljajo računalnik; Delež upor. rač. [%]: delež zaposlenih, ki pri delu uporabljajo računalnik.

### Uporaba računalnikov po profilih zaposlenih:

V analizo profilov smo zajeli 26.652 zaposlenih iz ustanov, ki so odgovorile na vprašanje o tipu ustanove. V povprečju 68% zaposlenih pri svojem delu uporablja računalnik (Tabela 2). V največjem deležu uporablja računalnik pri delu administrativno osebje (94%), nekaj manj

medicinske sestre oziroma zdravstveniki, najmanj ga uporablja nemedicinsko osebje (47%). Od zdravnikov jih računalnik uporablja 60%, kar je sicer manj od EU povprečja, vendar pomembno več kot v letu 2003,<sup>4</sup> ko jih je računalnik uporabljalo le okrog 20%. Drugo zdravstveno osebje in nezdravstveno osebje ima sicer še nižji odstotek uporabe računalnikov, vendar zaradi narave njihovega dela uporaba računalnikov ni nujno del njihovega delovnega procesa.

**Tabela 3** Delež zdravnikov, ki uporabljajo računalnik, ločen glede na tip ustanove.

Tip ustanove	Št. zdrav.	Št. upor. PC	Delež [%]
Sekundarni nivo	2.781	1.999	71,9
Bolnišnica	2.701	1.936	71,7
Specialistična dejavnost	80	63	78,8
Primarni nivo - Zdravstveni dom	1.143	305	26,7
Javni zavod	1.108	278	25,1
Zasebnik s koncesijo	35	27	77,1
Zobozdravstvena dejavnost	71	49	69,0

Pojasnilo: Št. zdrav.: skupno število vključenih zdravnikov; Št. upor. PC: število vključenih zdravnikov, ki uporabljajo PC; Delež [%]: delež zdravnikov, ki uporabljajo PC.

### Uporaba računalnika med zdravniki glede na nivo zdravstvenega varstva in tip ustanove

Deleži zdravnikov, ki uporabljajo računalnik, razdeljeni glede na primarni nivo (kategorija "zdravstveni domovi") in sekundarni nivo zdravstvenega varstva (kategoriji "bolnišnice" in "specialistična dejavnost") in glede na tip ustanove so prikazani v Tabeli 3.

Po rezultatih statistične analize lahko sklepamo, da med zdravniki na primarnem in sekundarnem nivoju obstajajo pomembne razlike pri uporabi računalnikov ( $p < 0,001$ ). Med zdravniki na sekundarnem nivoju ne obstajajo pomembne statistične razlike pri uporabi računalnika glede na tip ustanove ( $p = 0,14$ ). Med zdravniki na

primarnem nivoju zdravstvenega varstva obstaja pomembna razlika med uporabo računalnika pri zdravnikih zasebnikih s koncesijo in zdravnikih zaposlenih v javnih zavodih ( $p < 0,001$ ).

## Diskusija

Odzivnost izvajalcev na anketo je bila v večji meri odvisna od velikosti posameznih izvajalcev. Manjkali so predvsem odgovori manjših izvajalcev, ki nimajo namenskega osebja za informatiko. Obstaja možnost, da so se v večji meri odzvali izvajalci, ki imajo boljšo informacijsko opremljenost. Posledično je lahko ocena opremljenosti nekoliko večja od dejanske.

V bolnišnicah, ki so izpolnile anketo, je v povprečju na voljo en računalnik na 2,67 zaposlenega. Primerjava z bolnišničnimi anketami iz leta 2003,<sup>4</sup> ko je bilo razmerje 3,49, pokaže pomembno zmanjšanje števila zaposlenih na računalnik. Tudi primerjava s povprečjem držav EU15 iz oktobra 2004, kjer je bilo razmerje 3,52 zaposlenih na delovno postajo,<sup>8</sup> nam pokaže, da je bila opremljenost vsaj v letu 2004 nad povprečjem 15 držav članic Evropske unije. Če pa upoštevamo še razmerje števila zaposlenih, ki dejansko uporabljajo računalnik, in števila računalnikov, je to razmerje 1,44. V povprečju si torej 10 računalnikov deli le 14 zaposlenih.

Rezultati ankete so pokazali, da oprema izvajalcev ni zastarela. Delovne postaje s procesorjem tipa Intel Pentium I ali podobnim, ki predstavljajo le manjši odstotek opreme so zastarele tako po računovodskih standardih,<sup>10</sup> kot tudi neustrezne po kriteriju sprejemljivih stroškov vzdrževanja.<sup>11</sup>

Iz dobljenih rezultatov je razvidno, da se je uporaba računalnikov med zdravniki/cami od leta 2003 povečala. Povečala se je uporaba med administrativnim osebjem in medicinskimi sestrami/tehnikami. Uporaba je pri zdravnikih na sekundarnem nivoju skoraj 72%. Razlike med uporabo računalnikov pri bolnišničnih in ambulantnih specialistih niso statistično

pomembne. Obstajajo pa pomembne razlike v uporabi računalnikov med zdravniki na primarnem (27%) in na sekundarnem zdravstvu. Razloge bi lahko iskali v pomanjkljivi funkcionalnosti obstoječih elektronskih kartotek, neobstoječih storitvah izmenjave podatkov med izvajalci (recepti, napotnice, odpustna pisma ipd), nevednosti zdravnikov pri uporabi IKT in premajhnega zavedanja prednosti IKT. Dejavnik je verjetno tudi razlika v delovnem procesu zdravnikov na primarnem in sekundarnem nivoju. na primarnem nivoju je namreč delovni proces bolj storilnostno naravnani, časovno omejen in terja od zdravnika tudi opravljanje nekaterih administrativnih nalog.

Velika razlika med uporabo računalnikov s strani zdravnikov v javnih zavodih (25%) in zasebnikih s koncesijo (77%) postavlja vprašanje, kje so vzroki. Gre morda za različne finančne vzpodbude - večjo naravnost koncesionarjev k stroškovni učinkovitosti in večji storilnosti?

Povzamemo lahko, da je kritičen profil v Sloveniji zdravnik zaposlen v zdravstvenem domu, saj uporablja računalnik le majhen delež zdravnikov. Primerjava s podatki iz tujine pokaže, da je uporaba računalnikov med zdravniki na sekundarnem nivoju in koncesionarjev v primarnem nivoju primerljiva z razvitimi državami članicami EU. Glede na anketo iz leta 2003 nakazuje uporaba močan pozitiven trend.

Med slabosti ankete lahko uvrstimo pomanjkanje strategije za neodzivne anketirance in prenizko odzivnost izvajalcev ambulantne specialistične dejavnosti in zasebnikov s koncesijo. V raziskavi prav tako nismo spraševali, katere funkcionalnosti, ki jih računalnik omogoča, zaposleni tudi v resnici uporabljajo (elektronska pošta, Internet, elektronski zdravstveni karton, ipd). Verjetno bi se izkazalo, da jih večji del uporablja zgolj za elektronsko pošto in urejevalnike besedil. Za to bo potrebno nadaljnje raziskovanje.



## Zaključek

Glede na našete kazalce, ki smo jih spremljali z anketo in primerjali z državami EU, menimo, da opremljenost z računalniki ni tako slaba, da bi zavirala širšo uporabo informacijskih orodij v podporo delu zdravstvenega osebja.

Vsaj na papirju je delež uporabe računalnika zadovoljiv pri večini zaposlenih z izjemo zdravnikov v javnih zdravstvenih zavodih na primarnem nivoju, kjer je zelo nizka tudi v primerjavi z drugimi Evropskimi državami. Svet za informatiko v zdravstvu pod okriljem Ministrstva za zdravje je v letu 2006 in 2007 zagotovil namenska dodatna sredstva izvajalcem (s poudarkom na primarnem nivoju) za nakup strojne in programske opreme. Še vedno pa se je potrebno zavedati, da za uspešen privzem IKT velja pravilo, da je zagotavljanje ustreznih IKT rešitev le manjši del vseh potrebnih aktivnosti. Izobraževanje, priučevanje, sodelovanje pri izboljševanju in prilagajanju ponujenih rešitev so le nekatere od dejavnosti, na katerih bo potrebno sistematično delati v bližnji prihodnosti.

Vzroke za premajhno uporabo IKT najdemo na področju organizacije procesov ter motivacije in znanja izvajalcev oziroma njihovih zaposlenih. Trendi v svetu informatike potekajo v smeri elektronskega zdravstvenega zapisa, spletnih rešitev in varnosti podatkov. S pomočjo izbranih standardov, tehnologije, vrednot in zakonov se lahko zdravstvenemu osebju in uporabnikom ponudi orodja, storitve in informacije. Bolj kot potreba po sodobnejši opremljenosti se v rezultatih ankete kaže potreba po sodobnih aplikacijah in storitvah izmenjave podatkov na nivoju sistema. Sorazmerno nizki odstotki uporabe računalnikov pri delu nekaterih profilov so lahko posledica premajhnega vedenja o možnostih, ki jih informacijska tehnologija lahko nudi, in pomanjkljivih vzpodbud.

## Literatura

1. Kaushal R, Shojania KG, Bates DW: Effects of computerized physician order entry and clinical decision support systems on medication safety: a systematic review. *Arch Intern Med* 2003; 163(12).
2. Potts AL, Barr FE, Gregory DF, Wright L, Patel NR: Computerized physician order entry and medication errors in a pediatric critical care unit. *Pediatrics* 2004; 113: 59-63.
3. Tamblyn R, Huang A, Perreault R, Jacques A, Roy D, Hanley J, McLeod P, Laprise R: The medical office of the 21st century (MOXXI): effectiveness of computerized decision-making support in reducing inappropriate prescribing in primary care. *CMAJ*. 2003; 169(6): 549-556.
4. Anžur A: Analiza in predlog informacijske opremljenosti bolnišnic, RUSZV. Interno gradivo Ministrstva za zdravje. Ljubljana 2003: Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije.
5. Iljaž R, Kersnik J, Roženberger M: Uporaba računalniške tehnologije med zdravniki v primarnem zdravstvu - pilotska študija. *Zdravstveno varstvo* 2005; (44): 206-214.
6. Kodele D, Košir F, Marusic D, Sušelj M: eZdravje 2010, Strategija informatizacije slovenskega zdravstvenega sistema 2005-2010. Ljubljana 2005.
7. Dixon DR, Dixon BJ: Adoption of information technology enabled innovations by primary care physicians: model and questionnaire development. *Proc Annu Symp Comput Appl Med Care* 1994; 631-635.
8. Lessens V: The 2003 Hospitals Study. 2005.
9. Moravec Berger D, Pribaković Brinovec R, Urdih Lazar T, Kujundžić B: *Zdravstveni statistični letopis* 2002. Ljubljana 2004: Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije.
10. Slovenski računovodski standardi 2006. *Uradni list Republike Slovenije* 118/2005. Ljubljana 2005: Uradni List RS.
11. Zakon o davku od dohodkov pravnih oseb (uradno prečiščeno besedilo) (ZDDPO-1-UPB2). *Uradni list Republike Slovenije* 33/2006. Ljubljana 2006: Uradni List RS.
12. Taylor H, Leit, nR: European Physicians Especially in Sweden, Netherlands and Denmark, Lead U.S. in Use of Electronic Medical Records. *Health Care News* 2002, 2(16).
13. Laerum H, Ellingsen G, Faxvaag A: Doctors' use of electronic medical records systems in hospitals: cross sectional survey. *BMJ* 2001; 323(7325): 1344-1348.

Bilten SDMI ■

# Informacijsko-komunikacijska tehnologija v praksi in teoriji zdravstvene nege

## Poročilo z letnega srečanja članov SDMI-SIZN

Na Jelenovem grebenu v Podčetrtku se je že 4 leto odvijalo tradicionalno srečanje članov Sekcije za informatiko v zdravstveni negi (SIZN), ki deluje v okviru Slovenskega društva za medicinsko informatiko (SDMI). Vabilu na dvodnevno srečanje (5. in 6. oktober 2007), ki je namenjen tako druženju kot strokovni rasti, se je skupaj odzvalo 20 članov.

Srečanje smo pričeli ob 17 uri (Slika 1). V uvodnih besedah predsednice mag. Vesne Prijatelj je bilo čutiti navdih, ki SIZN spremlja že vrsto aktivnih let. V začetku so bili člani seznanjeni z dogajanjem v tem letu, prav tako s poročilom o udeležbi nekaterih članov na MEDINFO 2007. Predstavila je tudi plan delovanja za naslednje leto. Ob aktualnih vprašanjih povezanih s tematiko dela v in za SIZN se je razvila debata in tvorno sodelovanje. Podrobnejše poročilo in sklepi sestanka so objavljeni na predstavitvenih straneh SIZN v rubriki "Sestanki".

Po krajšem oddihu so se člani zbrali ob dobri hrani, kjer se je porodilo nešteto novih idej. Po večerji je sledilo kar nekaj presenečenj. Vesna Prijatelj, Drago Rudel in Denis Musić so pripravili kreativne družabne igre v katerih so sodelovali vsi prisotni. Oblikovali sta se 2 ekipi Jelenčkovi in Suferji, ki jih kljub včasih zahtevnim igram in poznim večernim uram ni zapustila vnema za zmago. Tudi

v temu delu srečanja se je izkazalo, da timsko delo, inovacije in dobra volja prispevajo k uspehu. Smeh in dobra volja so zabrisali vse sledove delovnega dne, ki je bil za nami. Kot vsako leto nam je tudi tokrat gospod Borut Ježovnik (lastnik) gostišča Jelenov greben pripravil presenečenje. Večer nam je popestril z Brencl bando, za kar se mu najlepše zahvaljujemo. In ko se je ta prijeten par muzikantov poslovil je Drago vzel v roke kitaro in smo še skupaj zapeli. Izbor fotografij z mesta dogajanja si lahko ogledate na: <http://www.mf.uni-lj.si/sizn/> v rubriki "Galerija".



**Slika 1** Sestanek SIZN.

Drugega dne so od 10. do 14. ure sledila predavanja. Navajamo kratke povzetke predavanj v vrstnem redu kot so si sledila.

### **Branimir Leskošek: Nacionalna standardizacija v zdravstveni informatiki**

Asist. dr. Branimir Leskošek, univ. dipl. ing. rač. (Medicinska fakulteta, Inštitut za biomedicinsko informatiko, Ljubljana) je v predavanju z naslovom: "Nacionalna standardizacija v zdravstveni informatiki" predstavil delo v letošnjem letu ustanovljenega Odbora za zdravstveno informacijske standarde (OZIS), ki je nacionalni standardizacijski organ za zdravstveno informatiko pri Ministrstvu za zdravje (MZ). V skladu s strategijo eZdravje je OZIS začel z aktivnostmi na področju postavljanja nacionalnih normativnih dokumentov v zdravstveni informatiki. Predstavljeno je bilo preteklo delo in načrti za prihodnost. Do sedaj je OZIS deloval predvsem na prioritarnih področjih za standardizacijo Elektronskega zdravstvenega zapisa (EZZ) in varnosti v zdravstveni informatiki. Reševanja standardizacije se so v nasprotju z dosedanja prakso lotili v manjših korakih, ki dajo celovite in hitre rezultate za ožje skupine izvajalcev zdravstvenih storitev.

Hkrati si prizadevajo, da bodo vsi rezultati izvedenih projektov tudi javno dostopni zainteresirani javnosti. Trenutno je pripravljenih več manjših projektov, ki čakajo na realizacijo in sicer: za celovito rešitev na področju EZZ (medicinski povzetek); varnosti za ožjo skupino izvajalcev zdravstvenih storitev; elektronsko obveščanje zainteresiranih javnosti; standardizacijo minimalne zahtevane strojne opreme ter standardizacijo terminologije. OZIS bo v prihodnje nudil tudi tehnično in standardizacijsko podporo projektom, ki jih bo odobril Svet za informatiko (SIZ) pri MZ (žal še ni jasno kateri pilotski projekti bodo sprejeti). Hkrati so odprti za pobude s strani izvajalcev zdravstvenih storitev oz. drugih zainteresiranih. Pobude lahko pošljete na e-naslov: brane.leskosek@mf.uni-lj.si.

Tako smo ob koncu predavanja sklenili, da bo SIZN dala pobudo skupini, ki dela na projektu "Priprava modela orodja za zagotavljanje kakovosti s pomočjo dokumentacije v zdravstveni negi" in, ki je podprt s strani Ministrstva za zdravje, da poda

na RSK (Razširjeni strokovni kolegij) pri Zbornici zdravstvene in babiške nege Slovenije – Zvezi društev medicinskih sester, babic in zdravstvenih tehnikov Slovenije in po uskladitvi na OZIS predlog za minimalni nabor podatkov ZN. Več o OZIS-u si oglejte na:

[http://www.mz.gov.si/si/informatika\\_v\\_zdravstvu\\_siz\\_ozis/](http://www.mz.gov.si/si/informatika_v_zdravstvu_siz_ozis/).

### **Drago Rudel: Informacijska podpora izvajanju dolgotrajne oskrbe - priložnosti v okviru programa, ki ga predvideva osnutek zakona o dolgotrajni oskrbi**

Dr. Drago Rudel (podjetje MKS d.o.o. in Medicinska fakulteta, IBMI, Ljubljana) je v predavanju z naslovom "Informacijska podpora izvajanju dolgotrajne oskrbe - priložnosti v okviru programa, ki ga predvideva osnutek zakona o dolgotrajni oskrbi" podal kritično oceno predloga zakona "Zakon o dolgotrajni oskrbi in zavarovanju za dolgotrajno oskrbo" ([http://www.mddsz.gov.si/si/zakonodaja\\_in\\_dokumenti/predpisi\\_v\\_pripravi\\_ver\\_avgust\\_2006](http://www.mddsz.gov.si/si/zakonodaja_in_dokumenti/predpisi_v_pripravi_ver_avgust_2006)), ki bo bistveno vplival tudi na izvajanje zdravstvene nege v prihodnje.

Po mnenju predavatelja je v predlogu zakona nekaj pomembnih pozitivnih sprememb. Splošna ocena s stališča e-zdravja in zdravstvene informatike pa je, da so v predlogu premalo upošteevane nove rešitve z uporabo IKT tehnologij, ki so že na razpolago. Dokument ne pokaže jasne namere zakonodajalca, da bo vključevanje novih storitev, ki bi slonele na novih organizacijskih in IKT rešitvah, trajen proces. Prav tako ni nakazana povezanost dokumenta s strateškim dokumentom "eZdravje 2010".

Sekcija je sprejela sklep, da posreduje pripravljavcu zakona to je Ministrstvu za delo, družino in socialne zadeve naslednja priporočila:

- Zakon mora upoštevati strategijo RS na področju e-zdravja podano v dokumentu Ministrstva za zdravje "eZdravje 2010".

- V pripravo strokovnih podlag za zakon je potrebno vključiti strokovnjake za storitve s področja e-zdravja.
- Storitve, ki vključujejo nove organizacijske pristope, telekomunikacijske ter informacijske rešitve, naj se v največji možni meri vključujejo v programe izvajanje oskrbe, da bi učinkoviteje kot z ustaljenimi modeli dosegali postavljene cilje zakona.
- Med izvajalce dolgotrajne oskrbe je potrebno uvrstiti tudi ponudnike storitev e-zdravja (telemedicina na domu, oskrba na domu na daljavo).
- Liste pripomočkov za izvajanje dolgotrajne nege naj bodo odprte za nove rešitve, tudi s področja IKT.

### **Matjaž Savnik: Uporabne koristi brezžičnega omrežja v zdravstveni negi**

Mag. Matjaž Savnik, univ. dipl. ing. (Cisco Systems, Ljubljana) je predstavil predavanje z naslovom: "Uporabne koristi brezžičnega omrežja v zdravstveni negi" in le tega povzel: Brezžično radijsko omrežje, v strokovni javnosti poznano tudi pod oznako WiFi in v gospodarstvu ni več nobena posebnost. Z njim se razširja dostopnost aplikativne programske opreme od samo fizično omrežno povezanih računalnikov na vse radijsko pokrito območje organizacije. S tem se poveča njena dostopnost in uporabnost. V bolnišnicah je mobilnost uporabnikov, to je zdravnikov, medicinskih sester in drugega osebja, temeljna predpostavka procesa zdravljenja. Prispevek dokazuje, da je prav radijsko omrežje tisto, ki lahko naredi kritični preboj v stopnji uvedbe bolniških informacijskih sistemov. Inovativna nadgradnja radijskega omrežja pa se ponuja še na področjih učinkovitega komuniciranja osebja z bolniki, medicinskega monitoringa bolnikov in takojšnjega inteligentnega obveščanja osebja zdravstvene nege o lokaciji opreme ali bolnikov. S tem prispeva na področju vzdrževanje mobilne medicinske opreme k njeni boljši utilizaciji in bolj kakovostnemu vzdrževanju in uporabi. Prispevek

prek teoretične osvetlitve in konceptualnih možnosti zaključiti s praktično predstavitvijo dejanskih primerov uporabe radijskega omrežja v dveh evropskih bolnišnicah.

### **Denis Musić: Vloga zdravstvene nege pri oblikovanju in uvajanju kliničnih poti**

Denis Musić, zt, dipl. org. men. (SPS Pediatrična klinika, UKC Ljubljana) je zbranim predstavil predavanje: "Vloga zdravstvene nege pri oblikovanju in uvajanju kliničnih poti". Svoje predavanje je povzel: V slovenskih bolnišnicah smo zadnja leta začeli z uvajanjem kliničnih poti. Klinična pot (KP) je orodje, ki temelji na dokazih podprti medicini, zdravstveni negi ipd. in krajevni organizaciji, s katerim je opredeljen standardni načrt več-disciplinarne zdravstvene oskrbe tipične vrste pacientov z določenim obolenjem ali načrtovanim posegom. Obsega celotno oskrbo od začetka do konca obravnave pacienta in pod vodstvom celotnega več-disciplinarnega tima. Z vidika pacienta je KP dobrodošla, saj ga seznanja s potekom njegove zdravstvene oskrbe, pomembna je tudi z vidika izračuna stroškov. Pri oblikovanju dobre KP je pomembno sodelovanje vseh članov, ki sodelujejo pri obravnavi bolnika z določeno diagnozo. Največji izziv je pravzaprav, kako zdravstveno osebje (medicinske sestre in zdravnike) pripraviti do tega, da se bodo začeli pogovarjati, skupaj reševati težave, skupaj postavljati cilje, prevzemati odgovornost, drug drugega poslušati, namesto da se izgovarjajo na ustaljene primere. V našem prostoru je problem predvsem v tem, da so aktivne samo medicinske sestre, ki v celoti podpirajo uvajanje KP.

### **Uroš Rajkovič: Model dokumentiranja neželenih dogodkov v zdravstveni negi**

Asist. mag. Uroš Rajkovič, univ.dipl.org. (Univerza v Mariboru, Fakulteta za organizacijske vede Kranj) je predstavil prispevek s soavtorji (Olga Šušteršič, Vladislav Rajkovič v sodelovanju z raziskovalno skupino) z naslovom "Model dokumentiranja neželenih dogodkov v zdravstveni negi". Delo je nastalo v okviru projekta za

Zagotavljanje kakovosti s pomočjo e-dokumentacije zdravstvene nege, ki je financiran s strani Ministrstva za zdravje Republike Slovenije. Predstavljen je bil prenovljen dokument za evidentiranje neželenih dogodkov v zdravstveni negi, ki je sestavni del dokumentacije zdravstvene nege. Z anketno raziskavo in analizo obstoječih dokumentov za evidentiranje neželenih dogodkov v zdravstveni negi v sodelujočih institucijah so sestavili maksimalni nabor podatkov, ki omogoča beleženje obstoječih obrazcev in je bil v delovni skupini tudi dopolnjen. Rezultati: na osnovi maksimalnega nabora podatkov so sestavili papirni dokument, ki omogoča testiranje in entitetno-relacijski model za e-dokumentiranje neželenih dogodkov v zdravstveni negi. Le-tega bodo v prihodnje vključevali v informacijske rešitve v okviru projekta.

Poslušalci so bili mnenja, da gre za pomemben dokument v okviru zagotavljanja kakovosti v zdravstveni negi. S člani, ki so hkrati predstavniki podjetja Infonet d.o.o. so se dogovorili o izmenjavi izkušenj, saj so ugotovili, da se nekatere teme projektov na omenjenem področju pokrivajo.

### **Boštijan Žvanut: Kombinirano e-izobraževanje in njegova sprejetost v pedagoškemu procesu zdravstvene nege**

Predavanje z naslovom: "Kombinirano e-izobraževanje in njegova sprejetost v pedagoškemu procesu zdravstvene nege" je podal mag. Boštijan Žvanut, univ.dipl.el., pred. s sodelavci: Patrik Pucer, Matic Lukin, Irena Trobec, Nadja Plazar (Univerza na primorskem, Visoka šola za zdravstvo Izola). Z uvedbo Bolonjskih procesov in razvojem spletnih tehnologij je e-izobraževanje postala vse pogostejša oblika posredovanja znanja študentom. Zdravstvena nega pri tem ni izjema, zato so na Visoki šoli za zdravstvo Izola, Univerza na Primorskem (v nadaljevanju UP VŠZI), prizadevajo v pedagoški proces vpeljati tudi to obliko izobraževanja.

Ker gre za inovacijo na področju izobraževanja, ki vpliva tako na pedagoški kot organizacijski proces šole, je potrebno vpeljavo e-izobraževanja

spremljati tako s sociološkega kot tehničnega vidika. Zato so se pri uvedbi e-izobraževanja oprli na teorijo širjenja inovacij, ki te vidike obravnava. Postavili so hipotezo, da bodo študentje zdravstvene nege pozitivno sprejeli kombinirano e-izobraževanje (t.i. klasično izobraževanje v kombinaciji z e-izobraževanjem). Predpostavili so še, da študentje sprejmejo e-izobraževanje kot dopolnitev kontaktnega načina izobraževanja (vendar ne kot nadomestilo). Hipotezo so preverili s pomočjo ankete, ki so jo izvedli z anketiranjem rednih študentov drugega letnika UP VŠZI. Z raziskavo so hipotezi potrdili, vendar so izpostavili veliko število študentov, ki e-izobraževanju niso naklonjeni. Raziskava je pokazala, da je na področje zdravstvene nege smiselno vpeljati kombinirano e-izobraževanje, ki klasično izobraževanje ustrezno podpre. S kombiniranim e-izobraževanjem lahko klasičen pedagoški proces zdravstvene nege kakovostno dopolnijo, vendar ga ne morejo nadomestiti.

### **Andrej Planina: Sledenje izdaje zdravil pacientom**

Andrej Planina, univ.dipl.ing.el. (Špica International d.o.o) je svoje predavanje z naslovom: "Sledenje izdaje zdravil pacientom" kratko povzel: "Uporaba osebnih računalnikov se je v zdravstvu v zadnjem desetletju zelo razširila. Če zdravstveno osebje uporablja samo namizne računalnike, je omejeno z njihovo fiksno lokacijo, ki je navadno na mizi v pisarni. V zdravstvu pa se večina dogodkov, ki jih moramo spremljati, zgodi stran od pisarn - v bolniški sobi ali na terenu. Na predavanju so bili predstavljeni načini uporabe mobilnega računalništva ter črtne kode v razne zdravstvene namene: od sledenja izdaje zdravil pacientom do pregleda elektronskega zapisa podatkov o pacientu ob bolniški postelji."

### **Vesna Prijatelj: Projekt uvajanja črtne kode na KO za kirurgijo srca in ožilja, UKC Ljubljana**

Mag. Vesna Prijatelj, vms, univ. dipl. org. inf. (Univerzitetni klinični center Ljubljana) je

predstavila: "Projekt uvajanja črtne kode na KO za kirurgijo srca in ožilja, UKC Ljubljana". V maju leta 2007 se je začela implementacija klinične aplikacije, ki omogoča celovit zajem podatkov o zdravljenju bolnika. Ena od funkcij programa je tudi evidenca podatkov o izdanih zdravilih, porabljenem materialu in opravljenih postopkih pri bolniku. Zajem podatkov je planiran na vseh deloviščih kliničnega oddelka, vključno z operacijsko sobo. V ta namen smo pretvoriti ustrezno identifikacijsko številko primera v črtno kodo, ki je natisnjena na zapestnico in/ali nalepko. Zajem podatkov ob pacientu se opravlja z dlančnikom, ki ima tudi čitalnik črtnih kod. Po končanem evidentiranju se podatki prenesejo v Klinični informacijski sistem in so razpoložljivi za poznejše analize. Z povezavo z materialnim poslovanjem je omogočeno avtomatično evidentiranje in kontrola porabe materiala in zdravil (zmanjševanje zalog). Hkrati se podatki pošiljajo v centralni bolnišnični informacijski sistem za namen končnega obračuna in poročanja zunanjim ustanovam.

Namen uvedbe črtne kode je učinkovito spremljanje porabe materiala in zdravil ter opravljenih storitev na posameznega pacienta. Cilj projekta je evidentiranje podatkov ob bolniku, ter nadzor stroškov in izvajanja aktivnosti. Projekt je pilotni, usklajen z smernicam razvoja informatike v

UKC in smernicam uvajanja črtne kode v UKC. Celovita rešitev je enostavna in uporabniku prijazna, hkrati pa popolnoma integrirana z obstoječim IS. Zasnovana je tako, da se bo kasneje lahko razširila tudi na ostale klinike. To bi omogočalo optimizacijo procesov, nadzor nad opravljenim delom, natančno spremljanje stroškov, zmanjšanje operativnih stroškov in višjo kakovost. Uvedba črtne kode bo zagotovila racionalno izrabo virov in izvajanje zdravstvene obravnave bolnikov skladno z sprejetimi standardi kakovosti. Je podlaga za analizo in načrtovanje potreb.

### **Zahvala**

V zaključku poročila se zahvaljujemo Slovenskemu društvu za medicinsko informatiko, ki je podprlo naše srečanje. Tudi naprej se bomo trudili, da našim članom omogočimo tovrstna druženja z namenom boljšega medsebojnega spoznavanja, izmenjevanja izkušenj, oblikovanja novih idej in prijetnega druženja. Zahvaljujeva se tudi vsem predavateljem, ki so pripravili izjemno zanimiva predavanja in prispevali povzetke za objavo.

Pripravili: Ema Dornik, podpredsednica SIZN, in Vesna Prijatelj, predsednica SIZN

■ **Infor Med Slov:** 2007; 12(2): 40-44

Bilten SDMI ■

## **Poročilo o 12. mednarodnem kongresu MEDINFO, 20. - 24. 08. 2007, Brisbane, Avstralia**

### **O kongresu**

Vsaka tri leta Mednarodno združenje medicinskih informatikov (IMIA – International Medical Informatics Association) organizira svetovni kongres s področja informatike v zdravstvu "MEDINFO". Tokrat je kongres potekal v Brisbaneu, Avstralia od 20. do 24. avgusta 2007 pod delovnim naslovom "Building sustainable health system". Rdeča nit vseh tem je bila izgradnja podpore zdravstvenemu sistemu za varno in učinkovito zdravstvo.

Kongresa se je udeležilo približno 2500 predstavnikov zdravstvene stroke, informatikov in ponudnikov informacijske tehnologije v zdravstvu iz 50 držav, od tega 6 iz Slovenije. Na kongresu je bilo predstavljeno okrog 300 prispevkov v obliki referatov. Poleg tega je še veliko število prispevkov bilo predstavljeno na delavnicah, posterjih in strokovnih predstavitev. Na kongresu so bile obravnavane naslednje vsebine: biomedicina in informatika, klinična informatika, zaupnost in varnost, sistemi za podporo odločanju, izobraževanje zdravstvenih delavcev, elektronski zdravstveni zapis, internet in komunikacije, standardi v zdravstvu, vpliv organizacijskih sprememb, optimizacija procesov v zdravstvu, zdravljenje na daljavo (tele-health), mobilno zdravstvo, podaljšana zdravstvena oskrba, kakovost, vizualizacija informacij, elektronski zdravstveni zapis, analiza podatkov, podatki in raziskovanje.

V sklopu predavanj na temo "Dokumentiranje podatkov o bolniku" v prispevku "A New Approach in Nursing Documentation: Community Nursing Case" (Uroš Rajkovič, Olga Šušteršič, Vladislav Rajkovič, Vesna Prijatelj) smo predstavili nov pristop k dokumentiranju podatkov zdravstvene nege.

### **Ugotovitve in opažanja**

V začetku razvoja informatike v zdravstvu smo se ukvarjali z dvigom kakovosti, združevanjem politike in prakse, odpravljanjem napak, obvladovanjem stroškov, ter uvajanjem novih načinov evidentiranja podatkov v prakso. Novi elementi današnjega razvoja so fleksibilnost, združljivost in mobilnost informacijskih sistemov.

Informacijska tehnologija omogoča povezovanje znanj različnih ved, kliničnih in bolnikovih zahtev, širjenje novih spoznanj in vzpostavljanje baz znanja, ki vplivajo na varnost, kakovost in učinkovitost v zdravstvu.

Elektronski zdravstveni zapis, javno dostopne zdravstvene informacije, standardi (podatkovni, tehnični in varnostni), ter elektronska izmenjava zdravstvenih informacij so nekateri od rezultatov uvajanja informacijske tehnologije v zdravstveno okolje.

Prihodnost zdravstva je usmerjena posamezniku in hkrati celotni populaciji. Za posameznika pomeni večjo dostopnost do informacij in izobraževanja, ki so pomembna za ohranjanje zdravja in preprečevanje bolezni, ter možnost zdravljenja in zdravstvenega nadzora na daljavo. Za nacionalni interes je prav tako pomembna dostopnost do informacij, med-institucionalno in mednarodno povezovanje, ter nadzor stroškov.

Razširjenost in uporaba informacijske tehnologije v zdravstvu je glede na posamezne države še vedno neenakomerna. Kljub hitrem razvoju se v mnogih državah še vedno srečujejo z problemi kot so: pomanjkanje standardov, pomanjkanje enotnega elektronskega zdravstvenega zapisa, ter finančnih sredstev za nakup ustrezne informacijske tehnologije. Države, ki namenjajo več sredstev v ta namen so tehnološko bolj razvite vendar je za uvajanje sprememb v zdravstvu pomembna podpora države in dobro načrtovana nacionalna strategija.

Zdravstvo se vsekakor spreminja. Ni več samo domena ponudnikov in porabnikov zdravstvenih

storitev. Za doseg cilja "e-zdravje" se združujejo strokovnjaki iz področja informatike, informacijske in komunikacijske tehnologije, zdravstva, politike, ekonomike, prava, zavarovalništva. Razvoj zdravstva v tej smeri vpliva tudi na spremembe v miselnih procesih zdravstvenih delavcev. In prav na tem področju nas čaka še veliko vztrajnega dela.



Pripravila: Vesna Prijatelj, predsednica SIZN

■ **Infor Med Slov**: 2007; 12(2): 45-46