

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MAJA FRANKOVIČ

DIPLOMSKA NALOGA
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MAJA FRANKOVIČ

**KLINIČNI POMEN DOLOČANJA KONCENTRACIJE
ZGODNJEGA PROSTATIČNEGA KARCINOMSKEGA
ANTIGENA 2 PRI BOLNIKI Z RAKOM PROSTATE**

**THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF DETERMINING THE
CONCENTRATION OF EARLY PROSTATE CANCER
ANTIGEN 2 IN PROSTATE CANCER PATIENTS**

Ljubljana, 2013

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. Analize bioloških vzorcev so bile opravljene na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju za vsa koristna navodila in strokovne nasvete pri izdelavi diplomske naloge. Posebna zahvala gre tudi družini in prijateljem, za vse vzpodbudne besede, podporo in pomoč v času študija.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno, pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Maja Frankovič

Predsednica diplomske komisije:izr. prof. dr. Lucija Peterlin Mašič

Mentor: prof. dr. Joško Osredkar

Član diplomske komisije: doc. dr. Mitja Kos

KAZALO

KAZALO PREGLEDNIC	v
KAZALO SLIK	vi
POVZETEK.....	vii
ABSTRACT	ix
SEZNAM OKRAJŠAV	xi
1 UVOD.....	1
1.1 KARCINOGENEZA	1
1.2 BOLEZNI PROSTATE	2
1.2.1 BENIGNA HIPERPLAZIJA PROSTATE.....	2
1.2.2 PROSTATITIS	3
1.2.3 RAK PROSTATE.....	3
1.3 RAK PROSTATE.....	4
1.3.1 ANATOMSKE ZNAČILNOSTI PROSTATE.....	4
1.3.2 DEJAVNIKI TVEGANJA.....	6
1.3.3 SIMPTOMI RAKA PROSTATE	6
1.3.4 OPREDELITEV GRADUSA IN STADIJA (STOPNJE) BOLEZNI	7
1.3.5 DIAGNOSTIKA RAKA PROSTATE	8
1.3.5.1 Mednarodni vprašalnik IPSS (International Prostate Symptom Score)	9
1.3.5.2 Digitalni rektalni pregled (DRP)	9
1.3.5.3 Določanje serumskega prostatičnega specifičnega antigena (PSA).....	10
1.3.5.4 Transrektalni ultrazvok (TRUZ).....	10
1.3.5.5 Biopsija prostate	11
1.3.6 ZDRAVLJENJE RAKA PROSTATE.....	11
1.4 TUMORSKI OZNAČEVALCI	13
1.4.1 PROSTATIČNA KISLA FOSFATAZA	13
1.4.2 PROSTATIČNI SPECIFIČNI ANTIGEN (PSA)	14
1.4.3 ZGODNJI PROSTATIČNI KARCINOMSKI ANTIGEN 2 (EPCA2).....	14
2 NAMEN DELA	16
3 MATERIALI IN METODE	17
3.1 DOLOČANJE KONCENTRACIJE CELOTNEGA PSA	18
3.2 DOLOČANJE KONCENTRACIJE PROSTEGA PSA.....	20

3.2.1	DELO Z ANALIZATORJEM COBAS e411	20
3.3	DOLOČANJE KONCENTRACIJE EPCA2	23
3.3.1	PRINCIP DOLOČANJA	23
3.3.2	REAGENTI IN MATERIALI	24
3.3.3	IZBIRA TER RAVNANJE Z VZORCI	24
3.3.4	PRIPRAVA REAGENTOV	25
3.3.5	IZVEDBA ENCIMSKO-IMUNSKEGA TESTA	25
3.4	IZBOR PREISKOVANCEV	26
3.5	STATISTIČNA ANALIZA IN OBDELAVA PODATKOV	30
4	REZULTATI	33
4.1	PRIMERJAVA REZULTATOV MED OBEMA SKUPINAMA BOLNIKOV	33
4.1.1	KVANTILNI DIAGRAMI, PRIMERJAVA POVPREČNIH VREDNOSTI IN STANDARDNIH ODKLONOV	33
4.1.2	TESTIRANJE NORMALNOSTI PORAZDELITVE	35
4.1.3	UGOTAVLJANJE RAZLIK MED OBEMA SKUPINAMA BOLNIKOV	40
4.2	DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST IN SPECIFIČNOST	42
4.2.1	IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI EPCA2 GLEDE NA ZDRAVE PREISKOVANCE	42
4.2.2	IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI GLEDE NA BOLNIKE Z NEMALIGNIMI OBOLENJI PROSTATE	43
4.2.2.1	EPCA2	43
4.2.2.2	Celokupni PSA	43
4.2.2.3	Razmerje med prostim in celokupnim PSA	44
4.3	KORELACIJA MED EPCA2, CELOKUPNIM PSA IN PROSTO FRAKCIJO PSA PRI BOLNIKI Z RAKOM PROSTATE	44
4.4	MESEČNI PREGLED NAROČIL ZA TUMORSKA OZNAČEVALCA PSA IN pPSA	47
5	RAZPRAVA	49
6	SKLEP	53
7	LITERATURA	54
8	PRILOGA	59

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Najpogostejše lokacije raka in njihov odstotni delež po spolu, Slovenija 2008 (1) .	3
Graf 2: Groba letna incidenčna stopnja izbranih rakov po spolu, Slovenija 1950-2008 (1) .	4
Graf 3: Razmerje obravnavanih preiskovancev.....	27
Graf 4: Število preiskovancev v posameznih starostnih skupinah	27
Graf 5: Kvantilni diagram – EPCA2	33
Graf 6: Kvantilni diagram – PSA	33
Graf 7: Kvantilni diagram – pPSA/PSA.....	34
Graf 8: Nenormalna porazdelitev rezultatov prve skupine – EPCA2	37
Graf 9: Nenormalna porazdelitev rezultatov druge skupine – EPCA2	37
Graf 10: Normalna porazdelitev rezultatov prve skupine – PSA	38
Graf 11: Nenormalna porazdelitev rezultatov druge skupine – PSA	38
Graf 12: Normalna porazdelitev rezultatov prve skupine – pPSA/PSA.....	39
Graf 13: Normalna porazdelitev rezultatov druge skupine – pPSA/PSA.....	39
Graf 14: Korelacija med PSA in EPCA2	45
Graf 15: Korelacija med prosto frakcijo PSA in EPCA2	46
Graf 16: Korelacija med PSA in njegovo prosto frakcijo	46

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Opredelitev gradusa (25).....	7
Preglednica II: Koncentracije PSA, pPSA in EPCA2 pri bolnikih z rakom prostate (sk. 1)	28
Preglednica III: Koncentracije PSA, pPSA in EPCA2 pri bolnikih z benigno hiperplazijo prostate (BHP), vnetjem, atrofijo, HGPIN ali kombinacijo le-teh (sk. 2).....	29
Preglednica IV: Koncentracije EPCA2 pri kontrolni skupini zdravih preiskovancev	30
Preglednica V: Vrednosti statističnih parametrov obeh skupin – EPCA2	34
Preglednica VI: Vrednosti statističnih parametrov obeh skupin – PSA.....	35
Preglednica VII: Vrednosti statističnih parametrov obeh skupin – pPSA/PSA	35
Preglednica VIII: Testiranje normalnosti porazdelitve rezultatov – EPCA2	36
Preglednica IX: Testiranje normalnosti porazdelitve rezultatov – PSA.....	36

Preglednica X: Testiranje normalnosti porazdelitve rezultatov – pPSA/PSA	36
Preglednica XI: Povprečni rang in vsota rangov – EPCA2	40
Preglednica XII: Testne statistike (Mann-Whitneyev test) – EPCA2.....	40
Preglednica XIII: Povprečni rang in vsota rangov – PSA.....	41
Preglednica XIV: Testne statistike (Mann-Whitneyev test) – PSA	41
Preglednica XV: Rezultati t-testa za pPSA/PSA.....	41
Preglednica XVI: Število pozitivnih in negativnih testov za EPCA2 glede na zdrave preiskovance.....	42
Preglednica XVII: Število pozitivnih in negativnih testov za EPCA2 glede na bolnike z nemaligimi obolenji.....	43
Preglednica XVIII: Število pozitivnih in negativnih testov za PSA glede na bolnike z nemaligimi obolenji.....	43
Preglednica XIX: Število pozitivnih in negativnih testov za pPSA/PSA glede na bolnike z nemaligimi obolenji.....	44
Preglednica XX: Korelacija med PSA, pPSA in EPCA2.....	45
Preglednica XXI: Mesečni pregled naročil – PSA.....	59
Preglednica XXII: Mesečni pregled naročil – PSA in pPSA.....	72

KAZALO SLIK

Slika 1: Normalna in močno povečana prostata (5)	2
Slika 2: Lega prostate (19)	5
Slika 3: Razdelitev prostate po McNealu: 1: periferni del, 2: centralni del, 3: prehodni del, 4: anteriorni fibromuskularni del, M: mehur, S: sečevod, SI: semenska izvodila (22).....	5
Slika 4: Stopnje razširjenosti raka prostate (35).....	8
Slika 5: Digitalni rektalni pregled prostate (38).....	10
Slika 6: Analizator Cobas e411, Roche (55)	23
Slika 7: Postopek priprave standardne raztopine EPCA2 (57)	25
Slika 8: Analizator Personal LAB	26

POVZETEK

Prostata je moška spolna žleza, po obliki in velikosti podobna kostanju, ki z vseh strani obdaja sečevod. Pri odraslem moškem v dolžino meri 3-4 cm in tehta približno 20 g. Normalna prostata je gladka, elastična in neboleča na otip. Po 50. letu starosti se zaradi hormonskih sprememb prostata pogosto poveča, kar imenujemo benigna hiperplazija prostate. Bolezen povzroča predvsem težave pri odvajanju seča, ob napredovanju bolezni lahko pride celo do popolne zapore seča.

S starostjo pa se povečuje tudi verjetnost za pojav raka prostate. Bolezen je pogosto prikrita, saj se rak začne razvijati več let preden nastopijo same težave. Sama bolezen napreduje počasi, zato veliko bolnikov umre z in ne zaradi raka prostate.

Priporočila za moške po 50. letu starosti pravijo, da naj bi le-ti enkrat letno opravili preventivni pregled prostate, ki vključuje digitalni rektalni pregled prostate in določitev koncentracije prostatičnega specifičnega antigena. Pri moških, ki so družinsko obremenjeni zaradi bolezni prostate, pa naj bi se ta pregled izvajal že po 40. letu.

V diagnostiki raka prostate, se kot tumorski označevalec še vedno najpogosteje uporablja prostatični specifični antigen (PSA), katerega glavna pomanjkljivost je nekoliko slabša specifičnost. Zato potekajo številne raziskave v smeri odkritja novih, boljših tumorskih označevalcev.

V okviru diplomske naloge smo se osredotočili na zgodnji prostatični karcinomski antigen 2 (EPCA2), ki velja za enega novejših tumorskih označevalcev v diagnostiki raka prostate. Pri tem smo želeli ugotoviti, ali bi s to metodo lahko izboljšali sam diagnostični postopek in določanje EPCA2 celo uvedli v rutinsko laboratorijsko prakso.

Pri določanju klinične uporabnosti novega tumorskega označevalca smo preiskovance razdelili v tri skupine. V prvo skupino smo uvrstili bolnike s potrjenim rakom prostate. Druga skupina je vključevala bolnike z benigno hiperplazijo prostate, vnetjem, atrofijo oziroma kombinacijo le-teh oblik bolezni. Tretja skupina je bila kontrolna skupina zdravih preiskovancev.

Izsledki analize nakazujejo, da je EPCA2 v veliki meri povišan tako v primeru raka prostate kot tudi v primeru benigne hiperplazije prostate, ne moremo pa na osnovi določitve EPCA2 ločiti malignega procesa od benignega.

ABSTRACT

The prostate is a male sexual gland, in its shape and size similar to a chestnut. It surrounds the urethra on all sides. On an average male it measures 3-4 cm in length and weighs approximately 20 g. A normal prostate is smooth, elastic and painless to the touch. After the age of 50, due to hormonal changes, the prostate often gets enlarged. The condition is called benign prostatic hyperplasia of the prostate and in most cases causes problems with urination. As the condition progresses, anuria can occur.

With increasing age, the probability of prostate cancer also increases. The disease often remains hidden, because the cancer begins developing years before problems even occur. The disease itself progresses slowly, therefore most patients die with and not because of prostate cancer.

The recommendations for men over the age of 50 state, that they should undergo a precautionary prostate examination, that includes a digital rectal prostate examination and the determination of the concentration of prostate specific antigen, once a year. Men who have a family history of prostate cancer should start undergoing such examinations when they reach the age of 40.

The most commonly used tumor marker for diagnosing prostate cancer is still the prostate-specific antigen (PSA). The antigen's main deficiency is a somewhat bad specificity. Subsequently extensive research is being conducted to discover new and better tumor markers.

In this graduate paper we focused on the early prostatic cancer antigen 2 (EPCA2), which is one of the newest tumor markers for diagnosing prostate cancer. We wanted to determine, if this method could improve the diagnostic procedure and if the determination of EPCA2 could be introduced into routine laboratory practice.

To determine the clinical applicability of the new tumor marker, the test subjects were divided into three groups. The first group consisted of patients with confirmed prostate cancer. The second group consisted of patients with benign prostatic hyperplasia,

inflammation, atrophy or a combination of these diseases. The third group was a control group of healthy test subjects.

The results of the analysis indicate that EPCA2 is significantly elevated in cases of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. However, the determination of EPCA2 does not allow us to differentiate between a malignant and a benign process.

KLJUČNE BESEDE: zgodnji prostatični karcinomski antigen 2, prostatični specifični antigen, rak prostate, benigna hiperplazija prostate, diagnostična uporabnost

KEY WORDS: early prostate cancer antigen 2, prostate-specific antigen, prostate cancer, benign prostatic hyperplasia, diagnostic value

SEZNAM OKRAJŠAV

BHP	benigna hiperplazija prostate
BT	brahiradioterapija
DNK	deoksiribonukleinska kislina
DRP	digitalni rektalni pregled
EDTA	etilendiamintetraocetna kislina
ELISA	encimskoimunski test
EPCA2	zgodnji prostatični karcinomski antigen 2 (early prostate cancer antigen 2)
fPSA, pPSA	prosta frakcija prostatičnega specifičnega antigena
HGPIN	prostatična intraepitelna neoplazija visoke stopnje (high-grade PIN)
HRP	hrenova peroksidaza
IPSS	mednarodni vprašalnik za točkovno vrednotenje simptomov (International Prostate Symptom Score)
LIS	laboratorijski informacijski sistem
PIN	prostatična intraepitelna neoplazija
PSA	prostatični specifični antigen
rKORP	proti kastraciji odporen rak prostate
RP	radikalna prostatektomija
TMB	tetrametilbenzidin
tPSA	celokupni prostatični specifični antigen
TRUZ	transrektalni ultrazvok
5 α -DHT	5 α -dihidrotestosteron

1 UVOD

Po zadnjih podatkih Registra raka republike Slovenije pri nas zaradi raka prostate vsako leto umre približno 340 bolnikov. (1) Čeprav je zgodnja oblika raka prostate pogosto ozdravljiva, metastatska oblika te bolezni, kljub zdravljenju, najpogosteje vodi v smrt. Uspešnost zdravljenja je zato močno odvisna od tega, kdaj bolezen odkrijemo.

1.1 KARCINOGENEZA

Karcinogeneza (neoplazija) je proces preoblikovanja normalne celice v rakavo. Dejavnike, ki so sposobni izzvati nastanek rakave celice, delimo na fizikalne, kemične in biološke, skupna lastnost vseh pa je, da spremenijo celično DNK. (2)

Karcinogenezo v splošnem razdelimo v tri stopnje:

- 1. stopnja: **iniciacija**

Do iniciacije pride, ko izpostavimo celico delovanju neke karcinogene snovi, ki jo imenujemo iniciator. Ta povzroči nepovratne mutacije DNK. Posledica tega je nenadzorovano izražanje proto-onkogenov in/ali inaktivacija tumor-supresorskih genov. Za nastanek maligne neoplazme sam iniciator ni dovolj, saj se le-ta razvije šele po delovanju snovi, ki jo imenujemo promotor. (3)

- 2. stopnja: **promocija**

Promotorji sami po sebi niso karcinogeni, spodbujajo pa delovanje karcinogenih snovi tako, da skrajšajo latentno dobo od začetka delovanja iniciatorja do pojava maligne novotvorbe. (3)

V tej fazi se podvojujejo mutirane celice, kopičijo se nove mutacije, katerih število raste sorazmerno s številom celičnih delitev. (4)

- 3. stopnja: **progresija**

V fazi progresije pride do izražanja pridobljenih malignih lastnosti, sledi metastaziranje. (4)

1.2 BOLEZNI PROSTATE

1.2.1 BENIGNA HIPERPLAZIJA PROSTATE

Benigno povečanje oziroma benigna hiperplazija prostate (BHP) je ena od najpogostejših nerakavih (benignih) bolezni pri moškem. (5) Običajno se sicer ne razvije v raka prostate, vendar močno vpliva na kvaliteto bolnikovega življenja, saj povzroča težave pri odvajanju seča. Ponavadi se pojavi po 40. letu. (6) Za to boleznijo trpi okrog 40 % moških starih med 50 in 60 let, več kot 70 % moških starih med 61 in 70 let in več kot 80 % moških, starejših od 80 let. (7) Povečana prostata stiska sečnico, zato je pretok seča zmanjšan in vedno težje izteka iz sečnega mehurja. Mišica sečnega mehurja se sprva sicer okrepi in odebeli, s čimer se seč popolnoma iztisne iz mehurja, sčasoma pa stena sečnega mehurja tako oslabi, da tega ni več sposobna. Seč začne zastajati najprej v sečnem mehurju, sčasoma pa tudi v sečevodih in v ledvicah, kar lahko privede do resne okvare ledvic. (5)

V terapiji BHP, najpogosteje zasledimo kombinacijo α_1 -antagonista (tamsulozin, terazosin, doksazosin) in inhibitorja 5α -reduktaze (finasterid). (6) Zaviralci α_1 adrenoreceptorjev znižujejo tonus gladkih mišic prostate in izboljšajo pretok urina, zaviralci 5α -reduktaze pa preprečujejo pretvorbo testosterona v dihidrotestosteron. (8)



Slika 1: Normalna in močno povečana prostata (5)

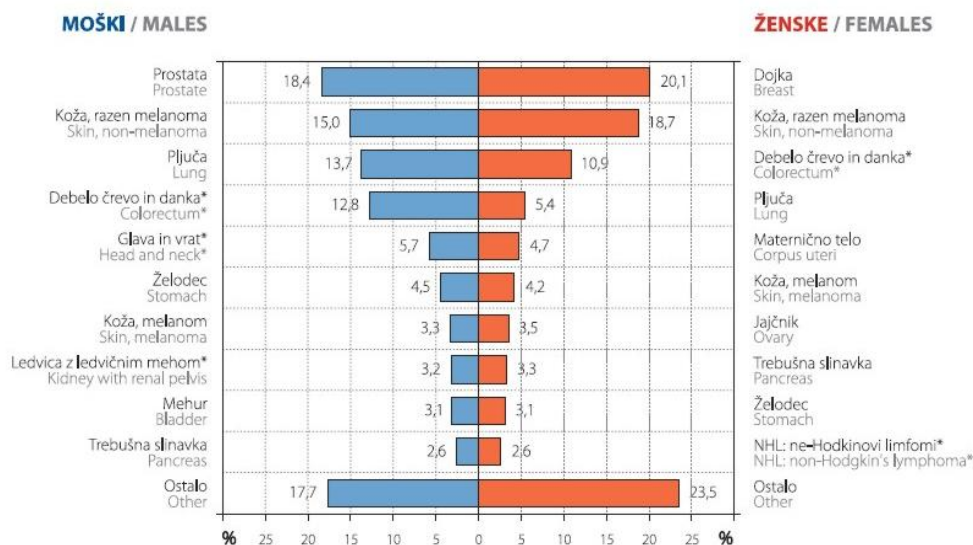
Na levi sliki sta tako sečni mehur kot prostata normalna, medtem ko je na desni sliki mišična stena sečnega mehurja zadebeljena. Močno povečana prostata pritiska na sečnico in ovira odtekanje urina.

1.2.2 PROSTATITIS

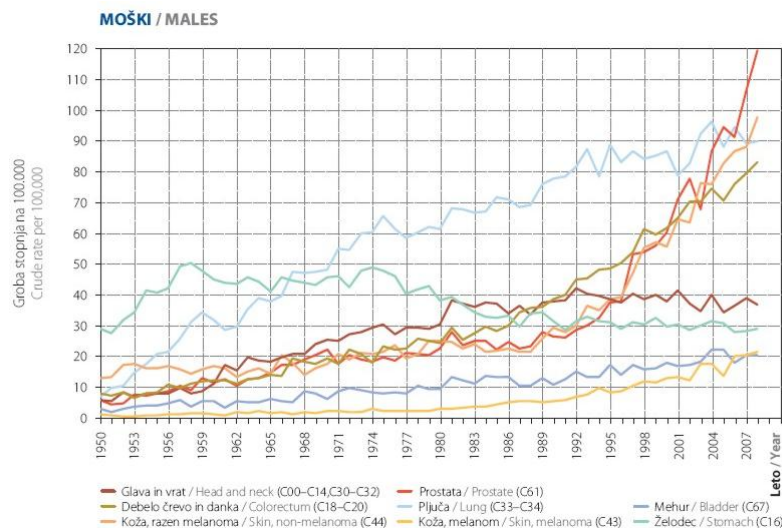
Vnetje prostate ali prostatitis lahko poteka kot akutni bakterijski prostatitis, kronični bakterijski prostatitis, kronični nebakterijski prostatitis / sindrom kronične medenične bolečine ali kot asimptomatski inflamatorni prostatitis. (9) Bakterije dokažemo le v 5-10 % primerov. Ponavadi gre za okužbo s klamidijo ali gonorejo, v večini ostalih primerov ostane vzrok nepojasnen. Zdravljenje poteka z antibiotki, dodatkom nesteroidnih antirevmatikov in zaviralcev adrenergičnih receptorjev. Pogost, ponavljajoči se prostatitis lahko povzroča motnje erekcije in ejakulacije, predvsem pa zmanjša oploditveno sposobnost, saj se poslabšata tako dozorevanje kot tudi gibljivost semenčic. (10) (11)

1.2.3 RAK PROSTATE

Rak prostate je danes eden izmed najpomembnejših zdravstvenih problemov moške populacije. Gre predvsem za bolezen moških, starejših od 65 let. (12) Z avtopsijami moških, ki so umrli zaradi drugih razlogov, so ugotovili, da ima pri starosti 80 let ali več, kar 80 % moških raka na prostati. (13) Zbolevanje za njim se je v zadnjih desetih letih več kot podvojilo, zato je danes prav rak prostate **najpogostejši rak pri moških** v Sloveniji. (14) Vse to je posledica množičnega določanja prostatičnega specifičnega antigena v serumu. (15) Domnevajo, da bi se rak prostate razvil pri vseh moških, če bi živeli dovolj dolgo. (16)



Graf 1: Najpogostejše lokacije raka in njihov odstotni delež po spolu, Slovenija 2008 (1)



Graf 2: Groba letna incidenčna stopnja izbranih rakov po spolu, Slovenija 1950-2008 (1)

Bolezen je sicer precej pogostejša pri starejših, vendar se lahko pojavi tudi pri mlajših. V takih primerih je praviloma zelo agresivna. Le izjemoma jo odkrijemo v zgodnjem obdobju, zato je napoved poteka bolezni razmeroma slaba. (17)

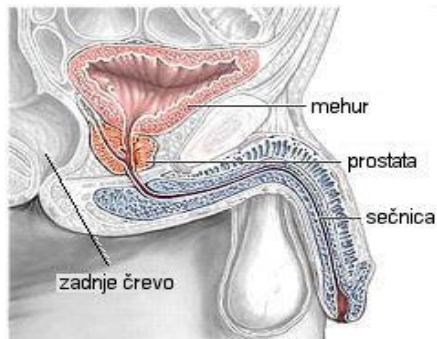
Rak prostate se razlikuje od drugih vrst raka. Gre za počasi napredujoč tumor, ki se podvoji v 4-5 letih. Kljub naraščanju števila obolelih, je tveganje, da bo bolezen povzročila smrt, le pri 3-3,5 % bolnikov. Pri moškem, starem okoli 65 let, ki ima digitorektalno netipno obliko raka prostate, je povprečen čas, ki preteče od diagnoze do smrti približno 17 let. (18) Veliko moških umre z in ne zaradi raka prostate. (17)

1.3 RAK PROSTATE

1.3.1 ANATOMSKE ZNAČILNOSTI PROSTATE

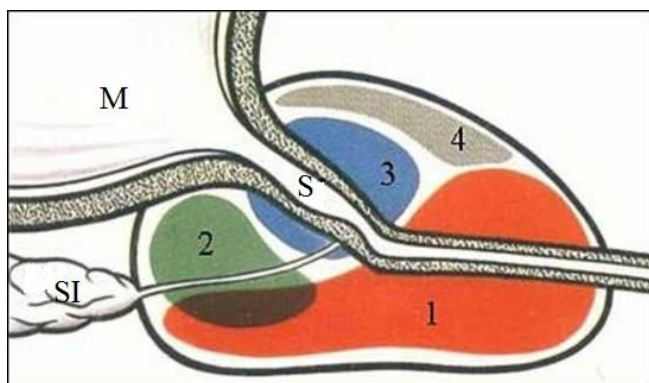
Prostata je moška spolna žleza z zunanjim izločanjem. Po obliki in velikosti jo lahko primerjamo s kostanjem. Sestavlja jo žlezno tkivo, ki ga obdaja ovojnica oziroma kapsula prostate. (13) Kapsula predstavlja pomembno pregrado pri širjenju karcinoma izven organa. (15) Prostata je velika približno 25 cm³ in tehta okrog 20 g. (19) V dolžino meri 3-4 cm. Leži neposredno pod sečnim mehurjem, med sramno kostjo spredaj in danko zadaj, kjer jo lahko tudi otipljemo. (5) Skozi njo poteka zgornji del sečnice, po kateri moški izločajo seč in semensko tekočino. Tvori poseben del semenske tekočine (30 %), v kateri

se nahajajo semenčice, nadzira pa tudi iztekanje seča iz mehurja. Zaradi te dvojne naloge, ki jo prostata opravlja, so znaki prostatičnih težav tako spolne motnje kot motnje mokrenja oziroma uriniranja. Prostata skladišči cink, ki jo s svojo protibakterijsko vlogo ščiti pred vnetji. (19)



Slika 2: Lega prostate (19)

Prostato (po McNealu) delimo na vezivno (anteriorno fibromuskularno) cono in na tri glandularne (žlezne) cone: periferno, centralno in prehodno. Največji del predstavlja periferna cona, ki vsebuje 70 % prostatičnega tkiva, sledita ji centralna cona s 25 % in prehodna cona s 5 %. (20) Kar 70 % karcinoma prostate se razvije v perifernem delu, medtem ko v prehodnem območju prostate vznikne do 25 % raka prostate. (15) (21)



Slika 3: Razdelitev prostate po McNealu: 1: periferni del, 2: centralni del, 3: prehodni del, 4: anteriorni fibromuskularni del, M: mehur, S: sečevod, SI: semenska izvodila (22)

Prostata se razvije že v dvanajstem tednu starosti zarodka in pri novorojenčku tehta približno 4 g. V obdobju pubertete nastopi faza rasti. Pri dvajsetih letih doseže približno 20 g, nato pa v glavnem miruje do 40. leta, ko se povečuje predvsem v prehodni coni in stiska periferno cono. (23)

Pri patogenezi imajo pomembno vlogo androgeni, saj posamezniki, ki trpijo za katero izmed genetskih bolezni, pri katerih je onemogočena sinteza in/ali delovanje androgenov, ne zbolijo za benigno hiperplazijo oziroma za rakom prostate. Ugotovili so, da v prostati 65-letnega moškega 60 % 5α -DHT nastane iz testosterona, 40 % pa iz androgenov nadledvične žleze. (16) Prostata delovanje ohrani večji del življenja, vendar svojo glavno funkcijo opravi do 40. leta. (8)

1.3.2 DEJAVNIKI TVEGANJA

Glavna dejavnika, ki vplivata na razvoj bolezni sta starost in družinska obremenjenost. Tveganje za nastanek raka prostate se začne pri belcih, brez družinske anamneze o bolezni, povečevati okrog 50. leta starosti. Pri črncih in belcih, ki imajo tovrstnega raka v družini, se tveganje za razvoj bolezni pojavi že deset let prej. (24) Kar 21 % bolnikov ima družinsko anamnezo. (21) Bolniki z rakom prostate, ki ga ima tudi več članov družine, umrejo trikrat hitreje kot tisti, pri katerih se rak v družini ne pojavlja. (25) Tveganje za nastanek raka prostate se povečuje s številom obolelih sorodnikov v prvem kolenu (oče, brat). (26)

Na pojavnost raka prostate vplivajo tudi hormoni. Visoka stopnja testosterona pospeši razvoj bolezni, zato lahko zaustavitev proizvodnje testosterona ali kastracija pozdravita napredovalega raka prostate. Moški, ki so jim bila odstranjena moda pred puberteto in tako niso proizvajali testosterona, zelo redko zbolijo za rakom. (25)

Opažanja kažejo, da tudi hrana vpliva na razvoj raka prostate. Dokazano je, da uživanje večjih količin paradižnika, ki vsebuje likopene, zmanjšuje verjetnost za nastanek obolenja. (27) Podoben učinek imajo verjetno tudi vitamin E, selen, omega nenasičene maščobe in zeleni čaj. (26)

1.3.3 SIMPTOMI RAKA PROSTATE

Simptome raka prostate v začetnem obdobju težko opazimo, saj se rak začne razvijati več let preden nastopijo same težave. (13) (17) V večini primerov začne rakasto tkivo rasti na obodu prostate in se nato širi proti sredini. (28) Rak začne pritiskati na sečnico, jo oži, in

povzroča težave pri uriniranju. Najpogosteje simptomi vključujejo težave z začetkom uriniranja, zmanjšano moč curka urina, pogosto uriniranje in potrebo po odvajanju urina ponoči. Bolniki imajo pogosto občutek, da mehurja ne izpraznijo v celoti. (29)

Rakavo tkivo se lahko začne širiti proti sečnemu mehurju, kjer preraste vrat mehurja in vstop sečevodov v mehur. Posledično je moten odtok urina iz ledvic. (13) Lahko pride do popolne blokade ledvic, kar se kaže kot popolna zapora urina. (30)

Najpogostejši znaki napredovalega raka prostate so bolečine v kosteh zaradi metastaziranja, utrujenost, pomanjkanje teka in hujšanje, bolečine v trebuhu, otekanje mod in spodnjih okončin. (31) Kadar je z rakastimi celicami preraščen tudi kostni mozeg, so bolniki slabokrvni (anemija). (32)

1.3.4 OPREDELITEV GRADUSA IN STADIJA (STOPNJE) BOLEZNI

Gradus predstavlja stopnjo malignosti oziroma zrelost tumorskih celic. Manjša kot je zrelost tumorskih celic, večja je malignost in obratno. Od stopnje malignosti je odvisen potek bolezni in pravilna izbira metode zdravljenja. Za ocenjevanje gradusa uporabljamo Gleasonov desetstopenjski sistem iz leta 1977. (33) Nizka Gleasonova ocena pomeni, da so rakave celice podobne normalnim celicam prostate, visoka ocena pomeni, da so rakave celice zelo spremenjene. (34) Velikost tumorja v povezavi z gradusom nam nakazuje, kako se bo tumor širil. (33)

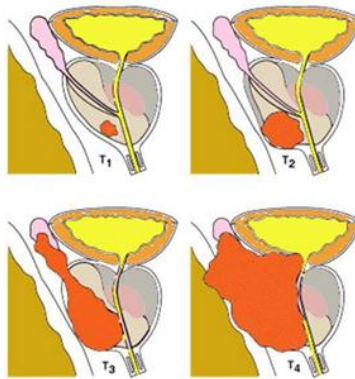
Preglednica I: Opredelitev gradusa (25)

GRADUS	GLEASONOVA OCENA	OPIS
1	2-4	počasi raste, manj verjetno da se širi
2	5-7	raste nekoliko hitreje od stopnje 1, lahko se hitro širi
3	8-10	ponavadi raste hitro, širjenje zelo verjetno

Stadij oziroma stopnja razširjenosti raka nam opiše velikost tumorja, hkrati pa nam pove ali se je ta že razširil iz prostate v okolišnja tkiva ali celo v bezgavke in oddaljene organe oziroma tkiva. (34) Pri tem uporabljamo sistem TNM klasifikacije. T opredeli velikost tumorja, N razširjenost tumorja na bližnje bezgavke in M prisotnost metastaz. (33)

Ločimo 4 stadije raka prostate:

- **1. stadij:** Ni nobenih simptomov. Rak je majhnega obsega in omejen na samo prostato. (35) Ti tumorji so ob običajnem kliničnem pregledu skriti. Ne moremo jih tipati in jih običajno najdemo v žlezah, ki so bile odstranjene zaradi benigne bolezni, ali pri biopsiji sumljive spremembe pod ultrazvokom. (25)
- **2. stadij:** To so tumorji, ki jih tipljemo, vendar so omejeni na prostato in ne preraščajo kapsule. Velikost tumorja in stopnja malignosti določata možnost zdravljenja. (35)
- **3. stadij:** Rak se je začel širiti izven kapsule prostate. Pojavijo se značilne težave pri uriniranju (pogosto in oteženo uriniranje, lahko tudi zapora urina). Ta faza je poznana kot lokalno napredovana, zato je manj možnosti, da bo rak v celoti pozdravljen. Zdravljenje je namenjeno upočasnitvi širjenja bolezni in preprečitvi popolne blokade mehurja in temu posledične zapore urina. (35)
- **4. stadij:** Rak se je razširil izven prostate na bezgavke in kosti. Pojavijo se retenca urina, bolečine v kosteh, hujšanje, utrujenost. Zdravljenje je usmerjeno k lajšanju bolečine (35), v tej fazi je namreč rak le redko ozdravljiv. (25)



Slika 4: Stopnje razširjenosti raka prostate (35)

1.3.5 DIAGNOSTIKA RAKA PROSTATE

Zgodnje odkrivanje raka prostate je zelo pomembno, saj ga lahko ozdravimo le v začetnem stanju. Pri diagnostiki se poslužujemo naslednjih postopkov in preiskav: izpolnitev mednarodnega vprašalnika IPSS (10), digitalni rektalni pregled (DRP), določanje serumskega prostatičnega specifičnega antigena (PSA), transrektalni ultrazvok (TRUZ) in biopsija prostate. (21) Takšno je tudi zaporedje preiskav.

1.3.5.1 Mednarodni vprašalnik IPSS (International Prostate Symptom Score)

Mednarodni vprašalnik pomaga pri natančnejši opredelitvi bolnikovih težav. IPSS točkuje odgovore in na podlagi skupnega seštevek točk oceni stopnjo bolezni ter kakovost bolnikovega življenja. (10)

Vprašalnik je sestavljen iz dveh delov. Prvi del vprašanj sprašuje po najrazličnejših simptomih:

- Kako pogosto ste v preteklem mesecu imeli občutek nepopolnega izpraznjenja mehurja po končanem uriniranju?
- Kako pogosto ste v preteklem mesecu morali urinirati pogosteje kot vsaki dve uri?
- Kako pogosto ste v preteklem mesecu opazili prekinitve v curku urina?
- Kako pogosto ste v preteklem mesecu imeli težave, da ste zadržali urin, potem ko ste začutili potrebo po uriniranju?
- Kako pogosto ste v preteklem mesecu opazili šibak curek urina?
- Kako pogosto ste v preteklem mesecu morali napeti oz. pritisniti, da ste lahko začeli urinirati?
- Kako pogosto ste se v preteklem mesecu med spanjem zbudili, ker ste morali urinirati?

Bolnik pogostost simptomov točkuje z vrednostmi med 0 in 5. Glede na skupni seštevek točk so simptomi: 0 - 7 majhni, 8 - 19 zmerni, 20 - 35 hudi

Drugi del vprašalnika z enim samim vprašanjem ocenjuje kvaliteto bolnikovega življenja:

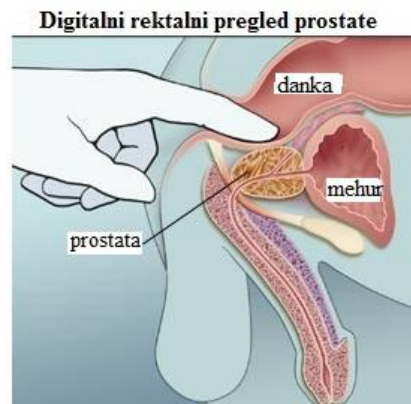
- Kako bi se počutili, če bi imeli ob uriniranju take težave, kakršne imate danes, ves čas?

Bolnik kakovost svojega življenja oceni na lestvici od 0 (zelo dobro) do 6 (zelo slabo). (36)

1.3.5.2 Digitalni rektalni pregled (DRP)

Osnovna preiskava prostate je digitalni rektalni pregled. Urolog skozi analno odprtino s prstom otipa prostato, oceni njeno velikost, konsistenco, omejenost in simetrijo. Ugotavlja tudi morebitno prisotnost zatrdlin, ki bi lahko kazale na tumor. Prostato poskuša otipati v celoti. Pri napredovanem raku je prostata običajno neravna, trda in asimetrične oblike,

poleg tega se je s prstom ne da natančno otipati. V diagnostiki raka prostate se ne smemo zanašati samo na metodo digitalnega rektalnega pregleda. Tudi na otip normalna prostata lahko vsebuje rakaste celice, še posebno, kadar gre za netipno obliko raka. (13) (21) (37)



Slika 5: Digitalni rektalni pregled prostate (38)

1.3.5.3 Določanje serumskega prostatičnega specifičnega antigena (PSA)

Veliko prelomnico v diagnostiki raka prostate predstavlja določanje serumskega prostatičnega specifičnega antigena. Pred tem so diagnozo postavljali le na osnovi digitalnega rektalnega pregleda in z določanjem serumske vrednosti prostatične kisle fosfataze. Kar 75 % moških, pri katerih so ugotovili raka prostate, je imelo že metastatsko obliko te bolezni. (39) Zdaj večino raka odkrijemo v zgodnjih fazah razvoja, ko je še potencialno ozdravljiv. (24) Določanje PSA se uporablja kot presejalna metoda. (21)

Povprečna serumska koncentracija PSA pri moških med 40. in 49. letom je 2,5 µg/L, med 50. in 59. letom 3,5 µg/L, med 60. in 69. letom 4,5 µg/L, med 70. in 79. letom pa že 6,5 µg/L. (39) V praksi se za mejno vrednost, pri kateri je potrebna nadaljnja diagnostika, uporablja 4 µg/L, po novem celo 3 µg/L. Kadar je koncentracija PSA med 4 in 10 µg/L je pri eni tretjini bolnikov rak že razširjen izven prostate. Pri moških, katerih vrednost PSA je višja od 10 µg/L je rak razširjen pri dobri polovici bolnikov. (17)

1.3.5.4 Transrektalni ultrazvok (TRUZ)

Transrektalni ultrazvok je eden izmed postopkov v diagnostiki raka prostate, pri katerem urolog v črevo vstavi ultrazvočno sondo in z njo pregleda prostato. Izmeri velikost prostate

in išče spremembe, ki bi lahko nakazovale na prisotnost bolezni. Te spremembe so ponavadi opazne le pri 60 % bolnikov. Kadar pri bolnikih obstaja sum na raka prostate, se naredi biopsija prostate, vodena s transrektalnim ultrazvokom. (13)

1.3.5.5 Biopsija prostate

Glavni diagnostični postopek, ki pomaga pri odkrivanju raka prostate je biopsija prostate. Ta poteka pod nadzorom transrektalnega ultrazvoka. (21) Ponavadi se jemlje 6 vzorcev iz različnih delov prostate, govorimo o standardni sekstantni biopsiji. Nekateri so mnenja, da daje sekstantna biopsija preveč lažno negativnih rezultatov in ne zadošča pri zgodnjem odkrivanju raka. (21) Po novem se zato raje odvzema nekje med 10 in 12 vzorcev prostatičnega tkiva. Dodatne biopsije se opravijo na sredini žleze, s čimer se zajame še prehodni del prostate. (40)

Patolog lahko v vzorcih tkiva prostate odkrije zgolj predstopnje raka prostate, kar imenujemo prostatična intraepitelna neoplazija (PIN). (13) Kadar so te spremembe zelo očitne (high grade PIN-HGPIN), je potrebno bolnika skrbno nadzorovati in ponavljati biopsije. V roku enega leta se namreč pri takih bolnikih kar v 26 % pojavi tudi karcinom prostate. (15) Biopsijo prostate je priporočljivo ponoviti do trikrat. (40)

1.3.6 ZDRAVLJENJE RAKA PROSTATE

Pri bolnikih, kjer je rak omejen na samo prostato in ne prehaja njene kapsule, običajno izbiro zdravljenja predstavlja operativna odstranitev prostate ali radikalna prostatektomija, ki ji lahko sledi obsevanje. (18) Za radikalno prostatektomijo morajo biti izpolnjeni naslednji pogoji: starost bolnika nižja od 70 let, omejenost tumorja zgolj na prostato, ni zasevkov v druge organe, vrednosti PSA so nizke. V primeru uspešnega operativnega posega je bolniku omogočena dokončna ozdravitev. Po radikalni prostatektomiji se lahko pojavi neželena uhajanje seča in upad spolne moči. (28) Težja inkontinenca se pojavi pri 10-15 % bolnikov, vendar gre največkrat za stresno inkontinenco, ko urin uhaja pri kašljanju ali napornejši telesni dejavnosti. Tiste prave inkontinence je nekje med 1 in 5 %, pa še ta se po enem letu bistveno izboljša. Eretilna disfunkcija se kot neželeni učinek pojavi pri 60-70 % operiranih bolnikov. (40)

Drugo možnost pri zdravljenju zgodnjega raka prostate predstavlja obsevanje. Prostate lahko obsevamo od zunaj - teleradioterapija ali pa od znotraj - brahiradioterapija (BT). (28) Brahiradioterapijo lahko izvedemo s trajnimi vsadki paladija oziroma joda ali pa kot kratkotrajno obsevanje z visokoaktivnim iridijem. Enega ključnih dejavnikov za uspeh obsevanja predstavlja doza, s katero prostate obsevamo. Želimo doseči čim večjo obsevalno dozo, brez negativnega vpliva na ostale organe. (41)

Pri napredovanem raku prostate zdravljenje obsega hormonsko zdravljenje, kemoterapijo in obsevanje. (28) Na hormonsko zdravljenje, ki predstavlja prvi izbor pri sistemskem zdravljenju raka prostate, se odzove do 80 % bolnikov. (12) (42) Izvajamo ga z operativno odstranitvijo mod ali/in s hormonskimi zdravili. Rak prostate je močno povezan z moškim spolnim hormonom testosteronom, katerega vrednost želimo v procesu zdravljenja čim bolj zmanjšati. Ker večina testosterona nastaja v modih, z operativno odstranitvijo mod odstranimo tudi vir nastajanja hormona, z dodatkom hormonskih tablet pa zaustavimo še nastajanje preostalega hormona v nadledvičnih žlezah. (28)

Drug način zdravljenja poteka brez operativne odstranitve mod. Nastajanje testosterona v modih zavremo s hormonskimi zdravili v obliki injekcij, nastajanje testosterona v nadledvičnih žlezah pa že s prej omenjenimi zdravili v obliki tablet. (28)

Čeprav je hormonsko zdravljenje za večino bolnikov z rakom prostate še vedno najučinkovitejše, lahko bolezen sčasoma postane neozdrivna na hormonska zdravila. (42) V takem primeru je potrebno poseči po kemoterapiji. (14) Standardno zdravljenje bolnikov z razsejanim, proti kastraciji odpornim rakom prostate (rKORP), predstavlja citostatik docetaksel, v kombinaciji z glukokortikoidom prednizonom. Kadar bolezen napreduje tudi po zdravljenju z docetakselom, novo možnost sistema zdravljenja predstavljata kabazitaksel in abirateron acetat. Kabazitaksel in docetaksel sta taksanska citostatika. (43) Abirateron acetat je selektiven, ireverzibilen inhibitor encima CYP 17. (44) Z njim dosežemo trajno superkastracijsko stanje, pri katerem so tako vrednosti serumskega testosterona kot tudi vrednosti drugih androgenov praktično nezaznavne. (43)

Kadar so zasevki v kosteh močno razširjeni, lahko uporabimo radioaktivni izotop stroncija. Ta po vbrizgu v žilo potuje po telesu ter se nalaga v prizadetih delih kosti. S tem neposredno uničuje rakave celice. (28)

1.4 TUMORSKI OZNAČEVALCI

Tumorski označevalci so snovi, ki se tvorijo v tumorskih celicah ali pod vplivom tumorskih celic in jih lahko določamo v telesnih tekočinah. Lahko gre za novosintetizirane snovi, ki v zdravem organizmu niso prisotne ali pa za snovi, ki so v normalnem organizmu sicer prisotne, vendar v veliko nižjih koncentracijah.

Idealni tumorski označevalec naj bi bil prisoten samo v malignih celicah, značilen naj bi bil za določen organ in vrsto tumorja. Določljiv naj bi bil pri vseh bolnikih z istim tipom tumorja in to že na začetni stopnji razvoja maligne bolezni, njegove serumske koncentracije pa naj bi bile sorazmerne z velikostjo tumorja.

Uporabno vrednost tumorskih označevalcev opredelimo s pojmom občutljivosti in specifičnosti. Občutljivost preiskave pomeni verjetnost, da bo preiskava pozitivna, če je bolezen prisotna. Specifičnost testa pomeni verjetnost, da bo test negativen, če bolezni ni. (45)

1.4.1 PROSTATIČNA KISLA FOSFATAZA

Prostatična kislina fosfataza nastaja v normalnem prostatičnem tkivu in predstavlja enega izmed prvih uporabnih tumorskih označevalcev v diagnostiki raka prostate. Ko je bolezen omejena na samo prostato, so serumske koncentracije prostatične kisle fosfataze običajno v mejah normale, medtem ko so vrednosti povišane (nad $3\mu\text{g/L}$) pri 67 % bolnikov z metastatsko obliko bolezni. Zvišana vrednost tega encima ponavadi predstavlja napredovalo fazo bolezni, ko tumor že preraste kapsulo prostate. Če kri odvzamemo prej kot v 48 urah po kakršnemkoli pregledu prostate, so lahko serumske koncentracije kar 5-krat višje od normale. V izogib lažno pozitivnim rezultatom, kri odvzamemo pred rektalnim pregledom ali več kot 48 ur po njem. (45) (46)

1.4.2 PROSTATIČNI SPECIFIČNI ANTIGEN (PSA)

Prostatični specifični antigen (PSA) je glikoprotein z molekulsko težo 35 kD. (45) (47) Uvrščamo ga v družino kalikreinov. Gre za podskupino encimov serinskih proteaz. To so encimi, ki cepijo peptidne vezi v proteinih in imajo v aktivnem mestu aminokislino serin. (48) Prvič so ga odkrili leta 1960, izolirali so ga leta 1979. Tvori se v tkivu prostate in se nato izloča v semensko tekočino, kjer doseže izjemno visoke koncentracije. PSA preprečuje koagulacijo semenske tekočine. Pri zdravih ljudeh pridejo v krvni obtok le majhne količine PSA, pri bolnikih s patološkimi spremembami prostate pa se količine, ki preidejo v krvni obtok, močno povečajo. S tem naraste tudi serumska koncentracija PSA. (45)

Na splošno velja, da vrednosti koncentracije PSA v serumu, višje od 10 µg/L kažejo na malignen proces. Bolj problematična je interpretacija izvidov med 2 in 10 µg/L. V takšnih primerih nam je v pomoč določanje razmerja med prostim in celokupnim PSA. Tudi za PSA velja, da lahko zaradi fizikalnega pregleda prostate koncentracija v krvi naraste. Bolnikom zato kri odvzamemo pred rektalnim pregledom ali več kot 48 ur po njem. (45)

1.4.3 ZGODNJI PROSTATIČNI KARCINOMSKI ANTIGEN 2 (EPCA2)

EPCA2 (Early prostate cancer antigen 2) je protein, katerega koncentracija v krvi je povišana pri raku prostate. (49) Gre za enega izmed bolj obetavnih tumorskih označevalcev, ki ga je odkril Robert Getzenberg s svojimi sodelavci v bolnišnici Johna Hopkinsa in objavil v študiji leta 2007. Odkrili so, da je EPCA2 prisoten le v rakavih celicah prostate, medtem ko ga v normalnih celicah ni moč zaslediti. (50) Njegova koncentracija je povečana pri 6 % bolnikov z benignimi obolenji prostate, kar dejansko lahko predstavlja tudi zgodnjo, še neodkrito bolezen raka prostate. (51) Čeprav je o EPCA2 kot tumorskem označevalcu še precej neznanega, dosedanje študije kažejo, da bi lahko le-ta zagotavljal večjo natančnost kot PSA pri odkrivanju raka prostate, s tem pa bi se zmanjšalo tudi število nepotrebnih biopsij. (49) (52) EPCA2 dokazujemo z encimsko-immunskim testom ELISA. (53) Gre za biokemijsko metodo, ki se uporablja v imunologiji za detekcijo protiteles ali antigenov v vzorcu ter predstavlja eno izmed najbolj občutljivih in specifičnih imunskih testov za kvantitativno določanje antigenov ali protiteles. (53) (54)

Getzenberg in njegova ekipa je merila raven EPCA2 v krvi 330 bolnikov, ločenih v več skupin:

- moški z normalno ravniyo PSA in brez dokazov o bolezni
- moški, ki imajo zvišano raven PSA in negativno biopsijo
- moški z benigno hiperplazijo prostate
- moški z rakom prostate in običajno ravniyo PSA
- moški z rakom prostate, omejenim na samo žlezo
- moški z rakom prostate, ki se je razširil izven žleze
- raznolika skupina bolnikov z drugimi boleznimi in posamezniki z drugimi vrstami raka

Pri bolnikih s koncentracijo EPCA2 **30 µg/L** ali več obstaja tveganje za raka prostate.

Analiza 330 meritev je pokazala, da je prišlo do zelo velike razlike v koncentraciji EPCA2 med bolniki z rakom prostate in zdravimi preiskovanci. (53) Zdravi moški in ženske, bolniki z drugimi oblikami raka in večina moških z benignimi obolenji prostate, je imela namreč precej nižjo koncentracijo EPCA2 v primerjavi z bolniki z rakom prostate. (50) Za razmejitveno vrednost so uporabili 30 µg/L. Test je imel 92 % specifičnost in 94 % občutljivost. 77 % bolnikov z BHP je imelo koncentracijo EPCA2 nižjo od mejne vrednosti 30 µg/L. (52) Pri testu PSA, kjer so za razmejitveno vrednost uporabili 2,5 µg/L, je bila specifičnost 65 %, občutljivost pa 90 %. (53) Med bolniki, ki obolevajo za rakom prostate, so rezultati pokazali tudi dobro korelacijo med koncentracijo EPCA2 in samim stadijem bolezni. Test je pravilno detektiral 36 od 40 pacientov z lokaliziranim rakom prostate in kar 39 od 40 pacientov, pri katerih se je rak že razširil. Gre za prvi test, ki naj bi dejansko razlikoval med moškimi z rakom, omejenim na prostato in tistimi, pri katerih se je bolezen že razširila izven žleze. (50)

2 NAMEN DELA

- Metoda določanja PSA je sicer precej zanesljiva, vendar kaže svoje pomanjkljivosti v razmeroma majhni selektivnosti in specifičnosti. Povišane vrednosti se pojavljajo tako pri raku prostate, kot tudi pri benigni hiperplaziji prostate in vnetju prostate. V okviru diplomske naloge želimo poleg PSA in proste frakcije PSA statistično oceniti tudi klinično uporabnost EPCA2, novega tumorskega označevalca v diagnostiki raka prostate.

Skušali bomo ugotoviti, ali določanje koncentracije EPCA2 lahko kaj prispeva k izboljšanju diagnostike raka prostate in ali lahko s to metodo ločimo bolnike z rakom prostate od bolnikov, ki trpijo za katerikoli drugim nemalignim obolenjem prostate.

Hipoteza:

Določanje koncentracije zgodnjega prostatičnega karcinomskega antigena 2 predstavlja uporaben pristop v diagnostiki raka prostate in s tem ponuja alternativo dosedanjim uveljavljenim diagnostičnim testom na tem področju, predvsem določanju koncentracije prostatičnega specifičnega antigena in določanju razmerja med prostim in celokupnim prostatičnim specifičnim antigenom.

- Naš drugi namen je pregledati vsa naročila za analizo tumorskih označevalcev PSA in pPSA skozi celoten mesec (10. julij – 10. avgust 2013). Zanima nas struktura naročil, od kje prihajajo pacienti (kdo jih je napotil na preiskavo), starost pacientov in pa seveda delež pozitivnih rezultatov.

3 MATERIALI IN METODE

Že pred začetkom eksperimentalnega dela smo na oddelku zbrali vse potrebne podatke o preiskovancih, za katere smo vedeli, da jih bomo vključili v našo nadaljno raziskavo določanja koncentracij EPCA2, PSA in pPSA. Iz bolnikovih kartotek smo pridobili informacije o starosti (datum rojstva), kliničnem stadiju bolezni in diagnozo, ki je bila potrjena na podlagi histološkega izvida.

Vse meritve smo opravili v laboratorijih Kliničnega inštituta za klinično kemijo in biokemijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. Prvi (preanalitski) del raziskave je potekal na Oddelku za sprejem biološkega materiala na Polikliniki, drugi (analitski) del pa v Laboratoriju za analitiko hormonov in tumorskih označevalcev na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja. Pridobljene podatke smo v nadaljevanju tudi statistično ovrednotili.

Bolnikom so na oddelku odvzeli kri in ustrezno zaščitene epruvete z vzorci dostavili na za to predpisano delovno mesto v laboratoriju. Pregledali smo celovitost vzorca in ustreznost vseh podatkov na primarnih vsebnikih. Hkrati smo preverili ali je prispelo dovolj vzorca in če je vrsta vzorca pravilna (plazma, serum). Večina vzorcev je bila vzeta v UKC Ljubljana. Ker se podatki vpisujejo preko elektronskega sistema LIS-a, smo v laboratorij dobili le primarne vzorce brez priloženih napotnic ali spremnih listov. Na primarnih vsebnikih morajo biti naslednji podatki: ime in priimek, datum rojstva ali EMŠO, številka napotne organizacije ter transportna številka za vpis v LIS. Podatke smo vnesli v LIS in za vsak posamezni vzorec natisnili nalepko, ki vsebuje črtno kodo, šestmestno laboratorijsko številko, oznako vzorca (S - serum, K - polna kri, P - plazma), oznako številke primarnega vzorca, datum vpisa ter ime in priimek preiskovanca. Nalepke smo nalepili na primarne vsebnike bioloških vzorcev, tako da je bila vsebina vidna.

Vzorci izven Kliničnega centra morajo biti vedno opremljeni z napotnico oziroma s spremnim listom, na katerem morajo biti vsi zahtevani podatki:

- podatki o preiskovancu: ime in priimek, datum rojstva ali EMŠO, spol, naslov, številka zdravstvenega zavarovanja

- podatki o naročniku: oddelek, klinika, zdravstvena ustanova, telefon, napotni zdravnik (številka in stampiljka s podpisom)

Vzorci smo pred samo analizo ustrezno pripravili. Pod preanalitsko obdelavo vzorcev spada predvsem centrifugiranje krvnih vzorcev za pridobitev seruma ali plazme. Centrifugiranje je separacijska metoda, ki loči tekočo frakcijo krvi od celičnih komponent. Centrifugiranje koagulirane krvi za pridobitev seruma se mora izvesti po tem, ko je krvni vzorec popolnoma koaguliral, običajno je to 30 – 60 minut po odvzemu. Koagulacija je hitrejša, če odzemna epruveta vsebuje aktivator koagulacije oziroma počasnejša, če je vzorec na ledu. Čas strjevanja krvi je lahko podaljšan pri preiskovancih, ki so na antikoagulantni terapiji ali pri tistih z motnjami koagulacije krvi. Koagulacija mora poteči v celoti, preden se vzorec krvi centrifugira, ker se sicer tvorba fibrina nadaljuje, kar lahko v nadaljevanju moti pipetiranje vzorca in njegovo analizo. S centrifugiranjem polne krvi po poteku koagulacije dobimo serum, po centrifugiranju polne krvi z antikoagulantom pa plazmo.

Po centrifugiranju smo vzorce razdelili na ustrezno število alikvotov. Vsak alikvot smo ustrezno označili z nalepko, ki poleg črtne kode vsebuje še laboratorijsko identifikacijsko številko, ki je enaka laboratorijski identifikacijski številki primarnega vzorca, ime in priimek preiskovanca ter številko alikvota.

Ker vzorcev nismo analizirali takoj, smo jih zamrznili in zamrznjene poslali v Laboratorij za analitiko hormonov in tumorskih označevalcev, kjer smo kasneje določali koncentracije PSA, pPSA in EPCA2.

3.1 DOLOČANJE KONCENTRACIJE CELOTNEGA PSA

Namen je kvantitativno določiti koncentracijo prostatičnega specifičnega antigena v plazmi ali serumu. PSA je namreč glavni tumorski označevalec za raka prostate.

Koncentracijo celotnega PSA določamo na analizatorju Cobas e411, proizvajalca Roche. Gre za avtomatizirano imunokemijsko metodo z dvojnimi protitelesi. Detekcija analita temelji na osnovi elektrokemiluminiscence. Elektroluminiscentni procesi potekajo pri

molekulah, ki vključujejo številne spojine rutenija, osmija, renija ali drugih elementov. Pri tem na površini elektrode nastajajo visoko reaktivne zvrsti. Med detekcijsko fazo se tvori končni kemiluminiscentni produkt, emisija svetlobe, ki jo sprožimo z električnim signalom.

Reagenti, kalibratorji, kontrole:

1. Reagent kit Total PSA Cobas (ref. 04641655190)
2. Set kalibratorjev: Total PSA CalSet (ref. 04485220190)
3. Kontrolni material: PreciControl Tumor Marker (ref. 11776452122)

Vsi reagenti so iz kompletov proizvajalca Roche in so namenjeni za uporabo na analizatorju Cobas e411.

Priprava reagentov in vzorcev:

- Priprava reagentov: reagenčni komplet segrejemo na sobno temperature (približno 20 °C), odpremo pokrove in vložimo v analizator. Preverimo, da ni zračnih mehurčkov ali pen. Reagente puščamo v analizatorju.
- Priprava vzorcev: zamrznjene vzorce pacientov predhodno odtalimo in jih nato skupaj s kontrolnimi vzorci postavimo v stojala in le-ta vložimo v aparat. IR čitalec prebere kode vzorcev in naročene preiskave. Počakamo, da se preiskave prenesejo preko mreže v aparat in poženemo izvajanje analiz. Po končani analizi se rezultati samodejno prenesejo v LIS (laboratorijski informacijski sistem), kjer jih pregledamo, potrdimo in odobrimo. Vzorce analiziramo v enojniku. Linearnost metode je do 100 µg/L, vzorce z višjo koncentracijo redčimo 10x, 50x ali 100x. Za redčenje se uporablja univerzalni diluent, ki je v analizatorju. Redčenje je avtomatizirano, v rezultatu je faktor redčenja že upoštevan.

Podajanje rezultatov:

- Rezultate podajamo v µg/L. Vrednosti, ki so nižje od 0,05 µg/L, podamo kot < 0,05 µg/L.
- Orientacijske referenčne vrednosti so do 3,0 µg/L.

3.2 DOLOČANJE KONCENTRACIJE PROSTEGA PSA

Koncentracijo prostega PSA določamo samo v povezavi s celokupnim PSA za diferencialno diagnostiko pri raku prostate. Princip določanja je v obeh primerih enak.

Reagenti, kalibratorji, kontrole:

1. Reagent kit free PSA Cobas (ref. . 03289788 190)
2. Set kalibratorjev: free PSA CalSet (ref. 03289796 190)
3. Kontrolni material: PreciControl Tumor Marker (ref. 11776452122)

Vsi reagenti so iz kompletov proizvajalca Roche in so namenjeni za uporabo na analizatorju Cobas e411.

Podajanje rezultatov:

Rezultate podajamo v $\mu\text{g/L}$. Vrednosti, ki so nižje od $0,03 \mu\text{g/L}$, podamo kot $< 0,03 \mu\text{g/L}$. Razmerje fPSA/PSA je pod 0,15 pri pacientih s karcinomom prostate in nad 0,15 pri pacientih z benigno hiperplazijo prostate (BHP).

3.2.1 DELO Z ANALIZATORJEM COBAS e411

Reagenti:

1. Raztopina za spiranje sistema (Sys Wash, kat. št. 11930346122)
2. Raztopina NaOH za merilno celico (CleanCell, kat.št. 11662970122)
3. Raztopina pufra (ProCell, kat. št. 11662988122)
4. Raztopina za redčenje (Diluent Universal, kat. št. 03183971122)
5. Raztopina za čiščenje sistema (ISE Cleaning Solution, kat. št. 11298500316)
6. Izopropanol
7. Raztopina za spiranje sistema: (SysWash). Priprava: v 100 volumskih enot redestilirane vode zmešamo 1 volumsko enoto SysWash-a.

Razen izopropanola ter redestilirane vode so reagenti iz kompletov proizvajalca Roche (Roche Diagnostics GmbH), ki so predvideni za uporabo na analizatorju Cobas e411.

Priprava analizatorja:

Analizator praviloma ni izklopljen; če pa je, ga vklopimo na OPERATION ON/OFF na prednjem delu analizatorja. Po potrebi naložimo in/ali menjamo potrebne reagente (Reagent Pack), potrošni material (AssayCup, AssayTip) in sistemske reagente (ProCell, CleanCell, system water SysWash (100+1)) ter spraznimo rezervoarje za trdni in tekoči odpad.

Sete reagentov (Reagent Pack) pazljivo postavimo v pokončen položaj na nosilec reagentov. Odpremo in pripravimo pokrovčke seta reagentov (aparatus nato sam odpira in zapira reagente po potrebi) ter nosilec zapremo s pokrovom. Sistemske reagente ProCell in CleanCell menjamo vedno v paru, ter jim pred startom odpremo pokrovčke. Pred analizo vzorcev počakamo, da se uravnovesi temperatura reagentov (15 min za ProCell in CleanCell reagentov in 30 min za teste (Reagent Pack)). Označimo, sprintamo in zbrišemo stare rezultate v SYSTEM OVERVIEW: REAGENT > SYSTEM OVERVIEW: REAGENT SAMPLE DATA CLEAR ali WORKPLACE > DATA REVIEW (označi teste)> PRINT > OK; nato briši z > DELETE ALL>. Sprintamo (po potrebi) listo reagentov / QC v SYSTEM OVERVIEW: REAGENT LOAD LIST / CALIB/QC LOAD LIST > PRINT. Izvedemo inicializacijo s >START.

Izvajanje kalibracije reagentov:

Pred kalibracijo je potrebno vnesti v analizator podatke o kalibratorju preko kode: V SYSTEM OVERVIEW izberemo podmeni CALIBRATION > INSTALL FROM THE SYSTEM. Vstavimo Bar Code (BC) kartico v režo za skeniranje (BC mora biti obrnjena proti analizatorju) > SCAN BC CARD > OK. Aparatus skenira kodo ter skeniranje zaključi s tihim zvočnim signalom. Dovolimo, da analizator preide v Stand By ter odstranimo BC kartico.

Analizator avtomatsko zahteva kalibratorje za testiranje. Kalibratorje vstavimo na nosilec (Rack) v koncentracijsko naraščajočem vrstnem redu (Cal1, Cal2, ...) odpremo pokrovčke ter postavimo stojalo na A-linijo. Pritisnemo > START. Aktualni podatki o kalibracijah se nahajajo v sistemskem preglednem oknu SYSTEM OVERVIEW: v podmenjih CALIBRATION > STATUS ali > CALIBRATOR.

Analiza kontrolnih vzorcev:

Pred analizo kontrolnih vzorcev je potrebno vnesti v analizator podatke kontrolnih vzorcev preko dvodimenzionalne kode tako, da v SYSTEM OVERVIEW izberemo podmeni QC > INSTALL FROM THE SYSTEM. Sedaj lahko vstavimo Bar Code (BC) kartico v režo za skeniranje (s stranjo BC obrnjeno proti analizatorju) ter > SCAN BC CARD > OK. Aparat skenira dvodimenzionalno kodo, skeniranje zaključi s tihim zvočnim signalom. Dovolimo, da analizator preide v Stand By ter odstranimo BC kartico.

Na stojalo naložimo kontrolne vzorce (PeciControl Universal) v koncentracijsko naraščajočem vrstnem redu (PC U1, PC U2,...) ter odpremo pokrovčke. Pritisnemo > START. Rezultati kontrol se nahajajo v podmeniju WORKPLACE > DATA REVIEW > ROUTINE / QC VIEW. Aktualni podatki o kontrolah pa v SYSTEM OVERVIEW: > QC. Kontrolne vzorce shranjujemo po navodilu za shranjevanje kontrol.

Delo z vzorci:

Pri rutinskem analiziranju vzorcev preko črtne kode vstavimo vzorce v stojala tako, da je koda vidna. Stojala vstavimo v A-linijo analizatorja ter pritisnemo > START. V potrditvenem oknu funkcije START preverimo, če je vzpostavljena povezava z mrežo (Host Communication > ON). Prenos podatkov iz mreže in rezultatov analiz v mrežo je v tem primeru avtomatski.

Pri rutinskem analiziranju vzorcev brez črtne kode vnesemo identiteto ter zahtevane analize ročno. Za vnos mora biti analizator v Stand By ali v R.Stop (Reagent Stop) stanju. Izberemo WORKPLACE > TEST SELECTION > ROUTINE > NEW SEQUENCE ali > NEXT (nujna je naslednja prosta sekvenca), vnesemo številko stojala (Rack No.), pozicijo epruvete (Pos.), ter identiteto vzorca (Sample ID). Če je povišana koncentracija merjene snovi, izberemo še predhodno ročno redčenje (Pre-dilution > ON / OFF), v primeru zelo majhnega volumna vzorca izberemo zmanjšan mrtvi volumen (Dead Volume > NORMAL / REDUCED), ter potrdimo s > SAVE in startamo analizo s > START. Poteku dela lahko sledimo v SYSTEM OVERVIEW > SAMPLE TRACKING. Rezultate analiz vzorcev pregledamo v WORKPLACE > DATA REVIEW > ROUTINE.



Slika 6: Analizator Cobas e411, Roche (55)

3.3 DOLOČANJE KONCENTRACIJE EPCA2

Za in vitro kvantitativno določanje EPCA2 v serumu, plazmi ali drugih bioloških tekočinah, uporabljamo encimsko-immunski test (ELISA). Gre za test, ki je namenjen zgodnjemu odkrivanju raka prostate.

3.3.1 PRINCIP DOLOČANJA

Osnova je avidin-biotin ELISA, ki temelji na »sendvič« principu. Mikrotitrna ploščica, ki jo dobimo v kompletu za določanje koncentracije EPCA2, je prekrita z monoklonskimi protitelesi, specifičnimi za določeno antigensko mesto na EPCA2 molekuli. Vzorce in standarde pipetiramo v vdolbinice. Po inkubaciji se EPCA2 iz vzorca veže na mikrotitrsko ploščico. Speremo ploščo, da odstranimo nevezane substance. Poliklonalna z biotinom označena protitelesa se vežejo na molekulo EPCA2. Ponovno inkubiramo in spiramo ter dodamo hrenovo peroksidazo (HRP) z avidinom, ki tvori avidin-biotin kompleks. Zopet inkubiramo in spiramo ter dodamo substrat tetrametilbenzidin (TMB), ki z encimom tvori obarvan produkt. Reakcijo zaustavimo z žveplovo kislino, ki tudi stabilizira oksidirano obliko kromofora. Spremembo barve merimo spektrofotometrično pri valovni dolžini $450 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$. (56) (57)

3.3.2 REAGENTI IN MATERIALI

1. Mikrotitrna ploščica s 96 vdolbinicami, prevlečenimi z anti-EPCA2 monoklonskimi protitelesi
2. Liofiliziran standard EPCA2
3. Negativna kontrola (razredčitveni pufer)
4. Encimski konjugat 1: z biotinom označena anti-humana EPCA2 protitelesa
5. Encimski konjugat 2: avidin hrenova peroksidaza
6. Raztopina substrata: tetrametilbenzidin (TMB)
7. Stop reagent: žveplova kislina
8. Pufer za spiranje

Ostala oprema:

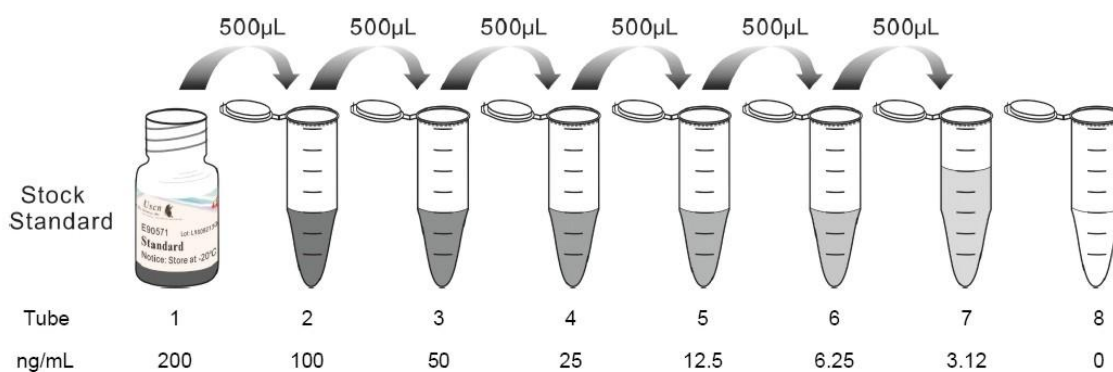
1. Spektrofotometrični čitalec za merjenje absorbanca pri valovni dolžini $450 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$
2. Centrifuga (Eppendorf)
3. Kalibrirane pipete z nastavki
4. Epruvete
5. Deionizirana ali destilirana voda
6. Merilni valj
7. Vortex
8. Vpojni papir za osušitev mikrotitrne ploščice
9. Folija

3.3.3 IZBIRA TER RAVNANJE Z VZORCI

Proizvajalec navaja, da lahko za določanje EPCA2 s to metodo uporabimo serum, plazmo ali druge biološke tekočine. Vzorce, ki jih bomo uporabili v roku petih dni, lahko shranjujemo v hladilniku na temperaturi $2\text{-}8 \text{ }^{\circ}\text{C}$, v nasprotnem primeru jih takoj po centrifugiranju zamrzemo na $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, da se izognemo bioaktivnosti in kontaminaciji. Tudi mi smo vzorce zamrzili in jih odtalili tik pred samo analizo. Pri vzorcu plazme lahko kot antikoagulant uporabimo EDTA ali heparin. Izogniti se moramo ponovnemu zamrzovanju vzorcev. Hemolizirani vzorci niso primerni za analizo.

3.3.4 PRIPRAVA REAGENTOV

Standardna raztopina EPCA2: v stekleničko z liofiliziranim EPCA2 standardom dodamo 1,0 ml razredčitvenega pufru in vse skupaj raztapljamo 10 minut z rahlim stresanjem pri sobni temperaturi. Koncentracija standarda v raztopini je 200 µg/L. V 7 epruвет odpipetiramo 0,5 ml razredčitvenega pufru. 500 µL raztopljenega EPCA2 standarda prenesemo v prvo epruветo ter dobro premešamo, nato 500 µL te raztopine prenesemo v naslednjo epruветo ter postopek ponavljamo do konca. Pripravimo standardne raztopine s koncentracijami 200 µg/L, 100 µg/L, 50 µg/L, 25 µg/L, 12,5 µg/L, 6,25 µg/L in 3,12 µg/L. Za ničelni standard uporabimo pripravljen razredčitveni pufer.



Slika 7: Postopek priprave standardne raztopine EPCA2 (57)

Pufer za spiranje: razredčimo 20 ml koncentriranega pufru za spiranje z redistirano vodo do skupnega volumna 600 ml.

3.3.5 IZVEDBA ENCIMSKO-IMUNSKEGA TESTA

Uporabimo mikrotitrsko ploščico, prevlečeno z monoklonskimi protitelesi, specifičnimi za EPCA2. V vdolbinice odpipetiramo 7 različnih koncentracij standardnih raztopin, kontrolo in vzorce, vsega po 100 µL. Vse skupaj pokrijemo s folijo in pustimo inkubirati dve uri pri 37 °C. Odstranimo vsebino vdolbinic in v vsako izmed njih dodamo po 100 µL encimskega konjugata 1, rahlo pretresemo, pokrijemo s folijo in inkubiramo 60 min pri 37 °C. Konjugat 1 vsebuje specifična monoklonska protitelesa, na katera je vezan biotin. Ta protitelesa se vežejo na prej nastali kompleks imobiliziranega protitelesa in antigena. Po pretečenem času tekočino odlijemo v odpadno posodo in mikrotitrsko ploščico 3-krat speremo s 350

μL pufru za izpiranje. S tem odstranimo presežek vzorca in nevezanih protiteles. Nato ploščico obrnemo na vpojni papir, da se osuši. V vsako vdolbinico dodamo po 100 μL konjugata 2 in zopet inkubiramo 30 minut pri 37 °C. Konjugat 2 vsebuje avidin in encim hrenovo peroksidazo. Avidin se pri tem veže na biotin. Po pretečeni inkubaciji vdolbinice 5-krat speremo s 350 μL pufru za izpiranje. V vsako vdolbinico dodamo 90 μL raztopine TMB substrata, ploščico pokrijemo s folijo in inkubiramo 15-25 minut pri 37 °C, zaščiteno pred svetlobo. Encim peroksidaza, vezana na avidin, ob dodatku substrata pretvori le-tega v moder produkt. Če do nastanka kompleksa ne pride, se barva ne spremeni. Po pretečenem inkubacijskem času dodamo še 50 μL raztopine za zaustavitev reakcije, ki vsebuje žveplovo kislino. Barva se pri tem iz modre spremeni v rumeno. Na koncu s spektrofotometrom pri valovni dolžini 450 nm izmerimo absorbanco.



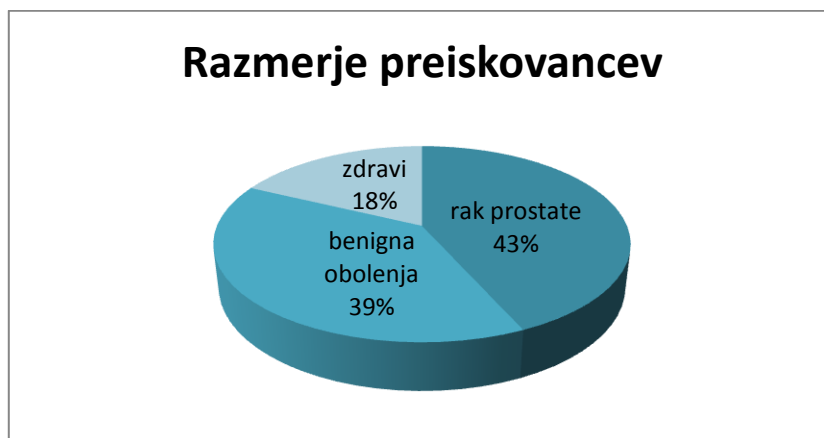
Slika 8: Analizator Personal LAB

3.4 IZBOR PREISKOVANCEV

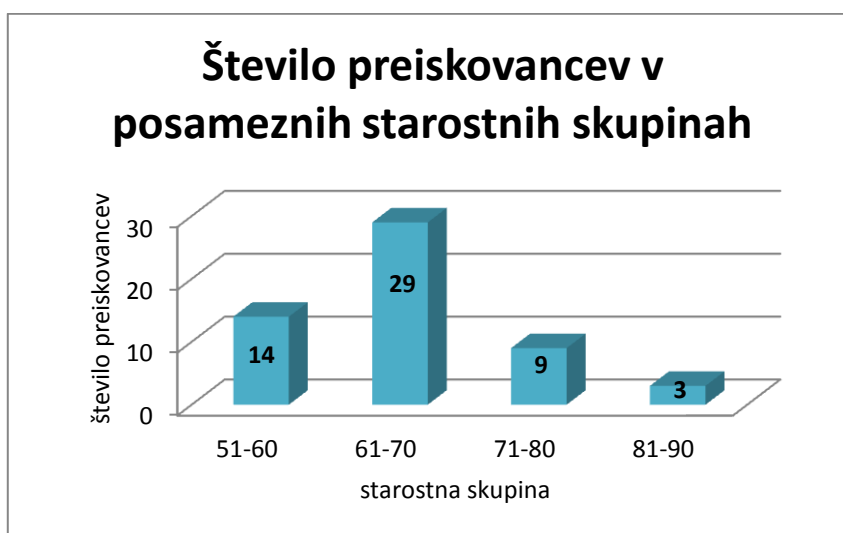
V raziskavo smo vključili 55 bolnikov, ki so v obdobju med letoma 2009 in 2012 prišli na Urološki oddelek UKC Ljubljana zaradi težav s prostato. Vsem vzorcem je bila izmerjena koncentracija PSA, koncentracija proste frakcije PSA ter koncentracija EPCA2, pridobili pa smo tudi podatke o kliničnem stadiju bolezni. Diagnoza je bila potrjena na podlagi histološkega izvida. Dvanajstim preiskovancem kontrolne skupine je bila izmerjena le koncentracija EPCA2 v serumu.

V prvo skupino smo uvrstili 29 bolnikov s potrjeno diagnozo raka prostate, v drugo skupino 26 bolnikov z benigno hiperplazijo prostate, vnetjem, atrofijo, predmaligno

stopnjo raka prostate ali kombinacijo le-teh. Kontrolno skupino je sestavljalo 12 zdravih preiskovancev.



Graf 3: Razmerje obravnavanih preiskovancev



Graf 4: Število preiskovancev v posameznih starostnih skupinah

Povprečna starost vseh preiskovancev je 66,5 let, vendar je povprečna starost bolnikov z rakom prostate višja (67,9 let) od povprečne starosti bolnikov z nemalignimi obolenji prostate (65,4 let). Najmlajši preiskovanec je star 52 let, najstarejši pa 82 let. Iz grafa 5 je razvidno, da več kot polovica vseh preiskovancev pripada starostni skupini med 61 in 70 let.

Preglednica II: Koncentracije PSA, pPSA in EPCA2 pri bolnikih z rakom prostate (sk. 1)

Zap. št.	Datum rojstva	Datum odvzema	PSA [µg/L]	pPSA [µg/L]	pPSA/PSA	EPCA2 [µg/L]	Klinični stadij (DRP)	Histološki izvid
1	6.5.1953	9.2.2012	11,44	0,67	0,059	374,7	bp	rak prostate
2	29.8.1932	8.12.2011	17,37	0,98	0,056	48,0	T2a	rak prostate
3	8.4.1934	12.12.2011	7,01	1,41	0,201	78,6	bp	rak prostate
4	12.2.1935	18.1.2010	3,21	0,29	0,090	125,8	T2a	rak prostate
5	5.7.1956	20.1.2012	5,53	0,41	0,074	16,8	T2a	rak prostate
6	14.11.1934	12.12.2011	11,17	1,39	0,124	44,6	t2a	rak prostate
7	19.7.1942	17.11.2009	5,57	0,48	0,086	343,9	bp	rak prostate
8	6.9.1928	12.1.2009	5,22	0,76	0,146	355,7	bp	rak prostate
9	28.10.1949	12.1.2009	3,01	0,68	0,226	66,2	bp	rak prostate
10	21.12.1941	1.4.2010	6,47	0,71	0,110	111,7	T2b	rak prostate
11	14.7.1936	8.3.2010	5,34	0,70	0,131	212,8	T2a	rak prostate
12	10.7.1949	13.2.2012	6,81	0,45	0,066	75,9	bp	rak prostate
13	20.7.1942	14.2.2012	7,98	1,02	0,128	19,0	bp	rak prostate
14	26.7.1930	9.2.2012	8,62	0,80	0,093	33,2	ni podatka	rak prostate
15	11.7.1951	19.12.2011	17,00	2,41	0,142	8,8	T2a	rak prostate
16	13.3.1960	13.2.2012	8,50	1,49	0,175	18,3	bp	rak prostate
17	28.1.1951	6.12.2011	3,33	0,24	0,072	35,0	ni podatka	rak prostate
18	15.4.1954	8.12.2011	4,60	0,63	0,137	52,4	bp	rak prostate
19	1.1.1953	19.12.2011	4,36	0,88	0,201	38,6	bp	rak prostate
20	12.2.1946	1.12.2011	6,89	0,36	0,052	263,7	T2b	rak prostate
21	9.5.1944	14.2.2012	5,49	0,76	0,138	106,0	T2c	rak prostate
22	11.1.1942	5.1.2012	8,54	0,56	0,066	186,5	bp	rak prostate
23	8.3.1946	8.12.2011	6,17	0,82	0,133	111,3	ni podatka	rak prostate
24	19.7.1942	17.11.2009	5,57	0,48	0,086	343,9	bp	rak prostate
25	6.9.1928	12.1.2009	5,22	0,76	0,146	355,7	bp	rak prostate
26	28.10.1949	12.1.2009	3,01	0,68	0,226	66,2	bp	rak prostate
27	14.7.1936	8.3.2010	7,71	0,80	0,104	212,8	T2a	rak prostate
28	12.2.1935	18.1.2010	3,21	0,29	0,090	125,8	T2a	rak prostate
29	21.12.1941	1.4.2010	6,47	0,71	0,110	111,7	T2b	rak prostate

Preglednica III: Koncentracije PSA, pPSA in EPCA2 pri bolnikih z benigno hiperplazijo prostate (BHP), vnetjem, atrofijo, HGPIN ali kombinacijo le-teh (sk. 2)

Zap. št.	Datum rojstva	Datum odvzema	PSA [µg/L]	pPSA [µg/L]	pPSA/PSA	EPCA2 [µg/L]	Klinični stadij (DRP)	Histološki izvid
1	6.8.1956	6.12.2011	7,67	0,97	0,126	33,6	bp	BHP
2	10.1.1942	22.9.2009	4,39	0,42	0,096	173,6	bp	BHP
3	1.5.1943	6.12.2011	3,02	0,68	0,225	74,2	bp	BHP
4	10.8.1950	14.2.2012	4,33	0,54	0,125	22,1	T1c	BHP
5	22.4.1944	19.12.2011	4,68	0,77	0,165	91,3	bp	BHP
6	26.4.1947	14.2.2012	3,82	0,72	0,188	46,9	bp	BHP
7	14.9.1958	2.12.2011	2,92	0,33	0,113	304,2	T2b	BHP+atrofija
8	22.4.1946	5.1.2012	4,38	0,86	0,196	19,5	bp	BHP+atrofija
9	4.9.1937	21.1.2010	4,80	0,98	0,204	181,4	T2	HGPIN
10	29.8.1946	23.3.2010	4,84	0,61	0,126	31,9	bp	HGPIN+BHP
11	2.1.1945	6.12.2011	4,08	1,48	0,363	18,5	bp	HGPIN+BHP
12	27.5.1942	19.1.2010	4,81	1,05	0,218	67,1	bp	vnetje + atrofija + BHP
13	17.12.1946	21.1.2010	1,29	0,54	0,419	102,0	bp	vnetje + BHP
14	8.3.1953	9.2.2012	5,08	0,85	0,167	236,3	bp	vnetje+BHP
15	18.11.1941	19.12.2011	17,92	2,13	0,118	130,3	bp	atrofija+BHP
16	18.9.1946	16.12.2011	3,13	0,62	0,198	21,4	ni podatka	BHP
17	28.9.1944	15.12.2011	2,29	0,87	0,380	69,4	ni podatka	BHP
18	4.7.1942	19.12.2011	3,90	0,87	0,223	20,8	bp	vnetje+BHP
19	15.5.1955	13.12.2011	4,09	0,93	0,227	109,7	bp	BHP
20	14.3.1941	13.12.2011	7,11	0,70	0,098	138,0	bp	vnetje+HGPIN+ BHP
21	10.1.1942	22.9.2009	4,39	0,42	0,096	173,6	bp	BHP
22	29.8.1946	23.3.2010	4,84	0,61	0,126	31,9	bp	HGPIN+BHP
23	27.5.1942	19.1.2010	4,81	1,05	0,218	67,1	bp	vnetje + atrofija + BHP
24	17.12.1946	21.1.2010	1,29	0,54	0,419	102,0	bp	vnetje + BHP
25	4.9.1937	21.1.2010	4,80	0,98	0,204	181,4	T2	HGPIN
26	1.9.1951	25.1.2010	5,34	0,18	0,034	67,1	bp	BHP+atrofija

Preglednica IV: Koncentracije EPCA2 pri kontrolni skupini zdravih preiskovancev

Zaporedna številka	EPCA2 [$\mu\text{g/L}$]
1	14,9
2	27,9
3	16,8
4	29,9
5	19,0
6	28,7
7	21,6
8	16,5
9	10,4
10	10,0
11	8,5
12	17,9

3.5. STATISTIČNA ANALIZA IN OBDELAVA PODATKOV

Za analizo pridobljenih podatkov smo uporabili program Microsoft Office Excel in statistični paket SPSS za Windows, verzija 17.0.

Najprej smo primerjali koncentraciji EPCA2 in PSA ter razmerje med prostim in celokupnim PSA med prvo skupino bolnikov, pri katerih je potrjena diagnoza raka prostate in drugo skupino bolnikov, ki trpi za katerikoli drugim nemalignim obolenjem prostate. Primerjali smo povprečne vrednosti in standardne odklone. Ugotavljali smo, kakšna je porazdelitev podatkov v obeh skupinah in na osnovi tega testirali hipotezo o enakosti povprečij obeh skupin.

Normalnost porazdelitve smo preverili s Shapiro-Wilkovim testom. Pri testiranju smo upoštevali stopnjo tveganja $\alpha = 0,05$. V primeru, da so p vrednosti večje od 0,05, potrdimo normalno porazdeljevanje spremenljivk, v nasprotnem primeru se spremenljivke ne porazdeljujejo statistično normalno.

Za testiranje ničelne hipoteze o enakosti aritmetičnih sredin dveh populacij, ne da bi predpostavljali, da sta populaciji normalni, smo uporabili Mann - Whitneyev test. Ta test je neparametričen analog t - testu. Temelji na predpostavki, da se povprečna ranga enega ali drugega vzorca razlikujeta samo v mejah slučajnosti, kadar sta oba vzorca vzeta iz iste populacije. (58) Vrednosti obeh vzorcev najprej uredimo v naraščajočem vrstnem redu (kot bi bil en vzorec) in jim priredimo range. Najmanjši vrednosti pripišemo rang 1, naslednji najmanjši rang 2 in tako naprej, da dobimo ranžirno vrsto. Na podlagi seštevka dobimo vsoto rangov za posamezen vzorec. Povprečni rang izračunamo tako, da vsoto rangov delimo z velikostjo vzorca (N). (58) (59)

Pri spremenljivkah, za kateri smo potrdili normalnost porazdelitve, smo opravili t-test za neodvisne vzorce z izbrano stopnjo tveganja 0,05.

V drugem delu smo izračunali specifičnost in občutljivost tumorskega označevalca EPCA2. Rezultate smo primerjali s PSA, ki je najbolj uporaben tumorski označevalec v diagnostiki raka prostate in z razmerjem med prostim in celokupnim PSA. Na koncu smo izračunali korelacijo med vsemi tremi spremenljivkami (EPCA2, PSA, prosta frakcija PSA) in ovrednotili uporabnost novega tumorskega označevalca v klinični praksi.

Ker imamo nenormalno porazdelitev podatkov, smo korelacijo oziroma moč povezave med spremenljivkami ovrednotili s Spearmanovim koeficientom korelacije, ki je neparametrična alternativa Pearsonovemu korelacijskemu koeficientu.

Koeficient korelacije računamo tako, da vsem enotam v vzorcu določimo rang glede na spremenljivko x in glede na spremenljivko y. Nato za vsako enoto izračunamo razliko med obema rangoma, razliko kvadriramo, kvadrate vseh enot seštejemo in vsoto vstavimo v enačbo.

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{N(N^2 - 1)}$$

kjer je d_i razlika med rangoma za i -to enoto, N pa število vseh enot (parov rangov).

Vrednost korelacijskega koeficienta je lahko od -1 do +1. Višje absolutne vrednosti pomenijo višjo stopnjo linearne povezave. Pri tem 0 pomeni popolno nepovezanost (med spremenljivkama ni korelacije), -1 popolno negativno povezanost (ko ena spremenljivka narašča, druga pada) in +1 popolno pozitivno povezanost (obe se hkrati spreminjata v isto smer). (60)

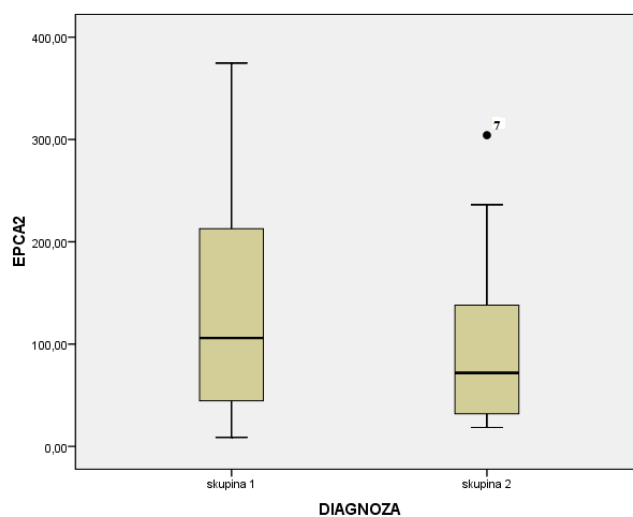
O slabi korelaciji govorimo takrat, kadar je vrednost korelacijskega koeficienta večja od 0 in manjša od 0,50. O srednje močni korelaciji govorimo takrat, kadar je vrednost korelacijskega koeficienta večja od 0,50 in manjša od 0,80. Korelacija je močna takrat, kadar je vrednost korelacijskega koeficienta od 0,80 do manj kot 1.

4 REZULTATI

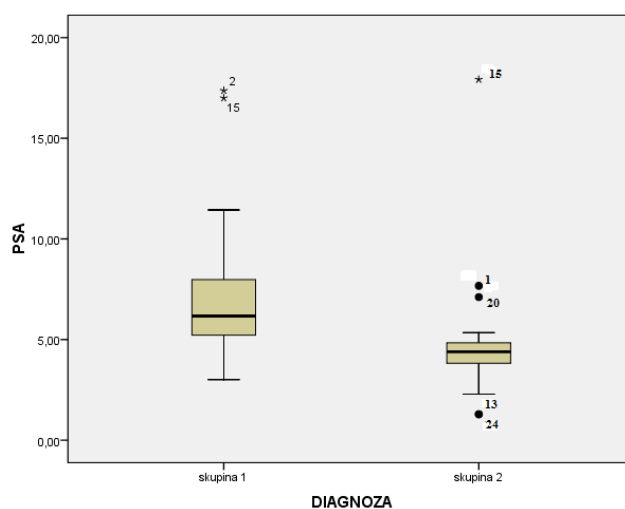
4.1. PRIMERJAVA REZULTATOV MED OBEMA SKUPINAMA BOLNIKOV

4.1.1 KVANTILNI DIAGRAMI, PRIMERJAVA POVPREČNIH VREDNOSTI IN STANDARDNIH ODKLONOV

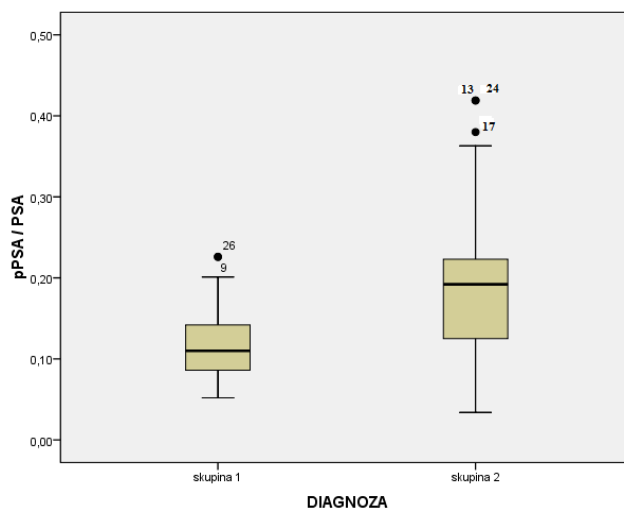
Pred izračunom povprečnih vrednosti in njihovih standardnih odklonov smo preverili prisotnost osamelcev, ki bi lahko motili nadaljno statistično obdelavo.



Graf 5: Kvantilni diagram – EPCA2



Graf 6: Kvantilni diagram – PSA



Graf 7: Kvantilni diagram – pPSA/PSA

Iz grafov 6, 7 in 8 je razvidno, da je pri meritvah vseh treh parametrov (koncentracija EPCA2, koncentracija PSA, razmerje pPSA/PSA) prisotna vsaj ena osamela vrednost, ki precej odstopa od ostalih. Teh vrednosti zato v nadaljni statistični obravnavi nismo upoštevali.

Prečna črta v vsakem okvirju prikazuje mediano, spodnji rob prvi kvartil, zgornji rob tretji kvartil, kljuki pa najmanjšo in največjo vrednost.

Preglednica V: Vrednosti statističnih parametrov obeh skupin – EPCA2

	Skupina 1	Skupina 2
Aritmetična sredina	135,99	88,44
Mediana	106,00	69,40
Standardna deviacija	119,74	62,87
Minimum	8,80	18,50
Maksimum	374,70	236,30
Število vzorcev	29	25

Povprečna vrednost koncentracije EPCA2 za skupino 1 znaša 135,99 $\mu\text{g/L}$, za skupino 2 pa 88,44 $\mu\text{g/L}$.

Preglednica VI: Vrednosti statističnih parametrov obeh skupin – PSA

	Skupina 1	Skupina 2
Aritmetična sredina	6,16	4,23
Mediana	5,57	4,39
Standardna deviacija	2,26	0,80
Minimum	3,01	2,29
Maksimum	11,44	5,34
Število vzorcev	27	21

Povprečna vrednost koncentracije PSA za skupino 1 znaša 6,16 $\mu\text{g/L}$, za skupino 2 pa 4,23 $\mu\text{g/L}$.

Preglednica VII: Vrednosti statističnih parametrov obeh skupin – pPSA/PSA

	Skupina 1	Skupina 2
Aritmetična sredina	0,112	0,168
Mediana	0,110	0,167
Standardna deviacija	0,042	0,069
Minimum	0,052	0,034
Maksimum	0,201	0,363
Število vzorcev	27	23

Povprečna vrednost razmerja med prostim in celokupnim PSA za skupino 1 znaša 0,112, za skupino 2 pa 0,168.

4.1.2 TESTIRANJE NORMALNOSTI PORAZDELITVE

Pri testiranju normalnosti porazdelitve posameznih spremenljivk smo postavili naslednji hipotezi:

Ho: spremenljivka se porazdeljuje normalno

Ha: spremenljivka se ne porazdeljuje normalno

Preglednica VIII: Testiranje normalnosti porazdelitve rezultatov – EPCA2

	Shapiro-Wilkov test		
	Statistic	df	p
Skupina 1	0,838	29	0,000
Skupina 2	0,902	25	0,021

Ker so vrednosti p v obeh skupinah manjše od 0,05 lahko v obeh primerih zavrnilo ničelno hipotezo in sprejmemo alternativno, ki pravi, da se vrednosti v obeh vzorcih ne porazdeljujejo statistično normalno.

Preglednica IX: Testiranje normalnosti porazdelitve rezultatov – PSA

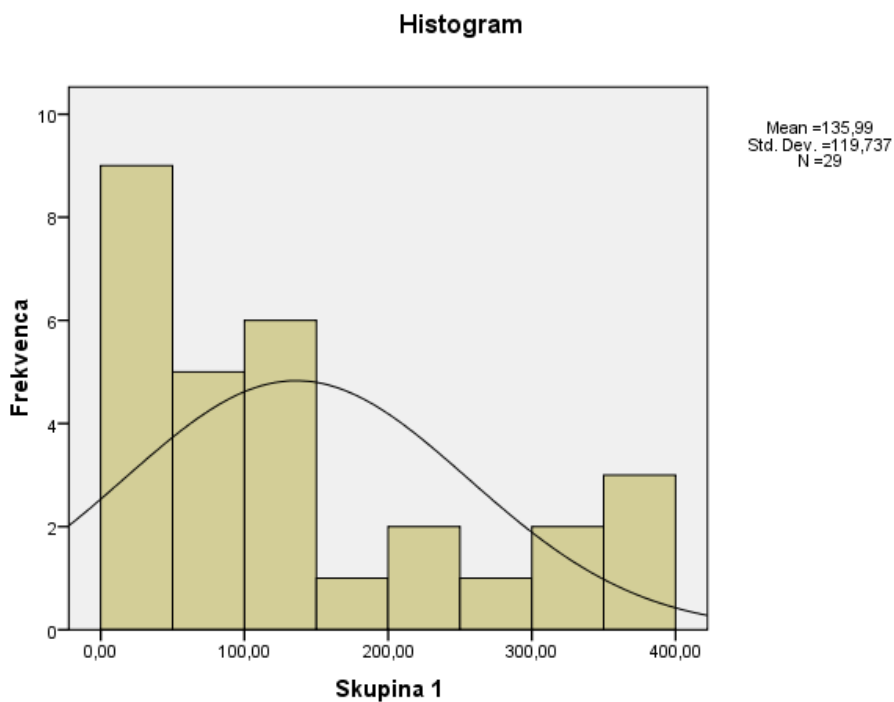
	Shapiro-Wilkov test		
	Statistic	df	p
Skupina 1	0,941	27	0,132
Skupina 2	0,899	21	0,033

V prvi skupini je p vrednost večja od stopnje tveganja (0,05), zato lahko potrdimo normalnost porazdelitve PSA, medtem ko se v drugi skupini koncentracija PSA ne porazdeljuje normalno.

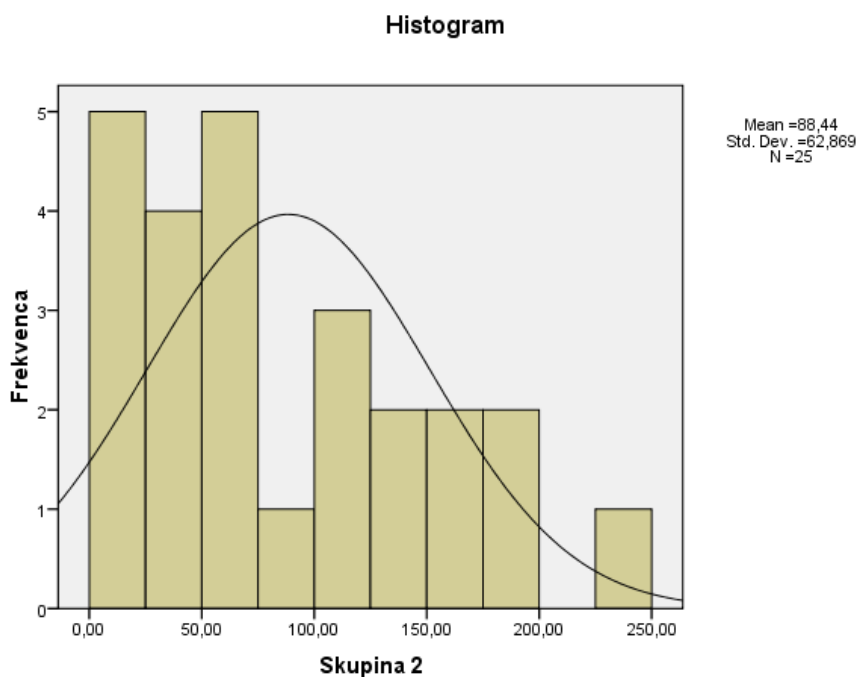
Preglednica X: Testiranje normalnosti porazdelitve rezultatov – pPSA/PSA

	Shapiro-Wilkov test		
	Statistic	df	p
Skupina 1	0,945	27	0,158
Skupina 2	0,925	23	0,084

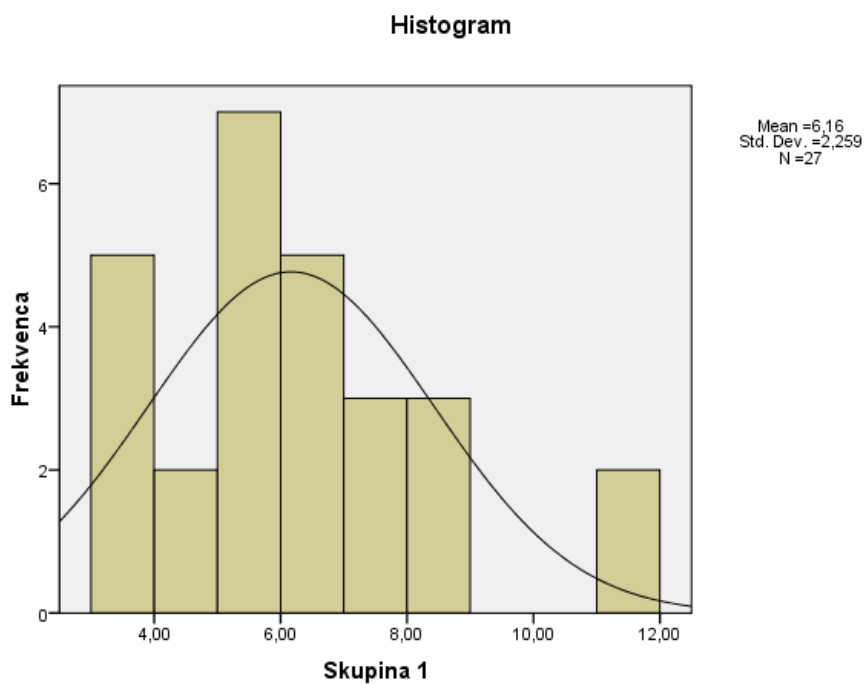
V obeh skupinah je p vrednost večja od stopnje tveganja (0,05), zato je porazdelitev pPSA/PSA statistično normalna.



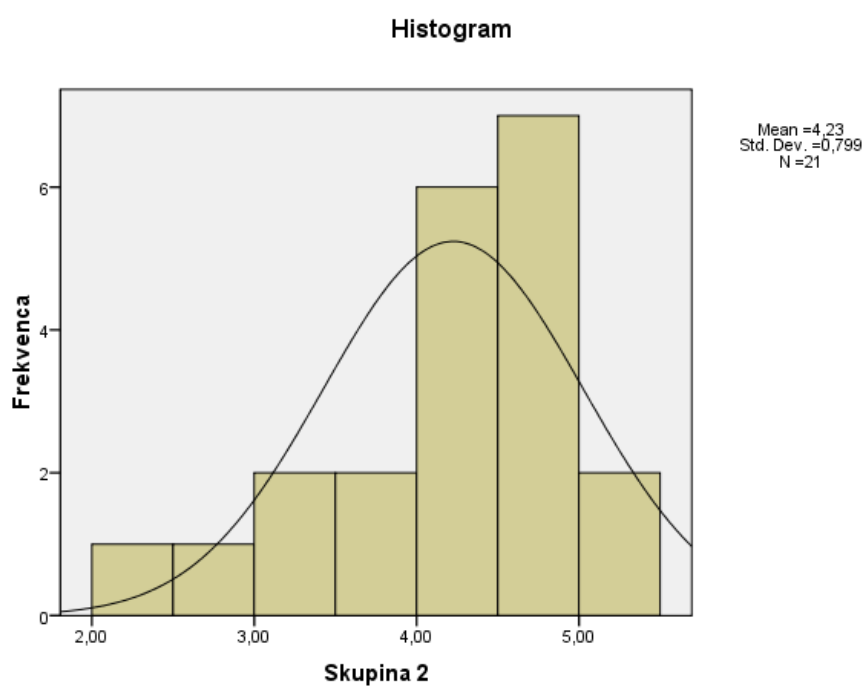
Graf 8: Nenormalna porazdelitev rezultatov prve skupine – EPCA2



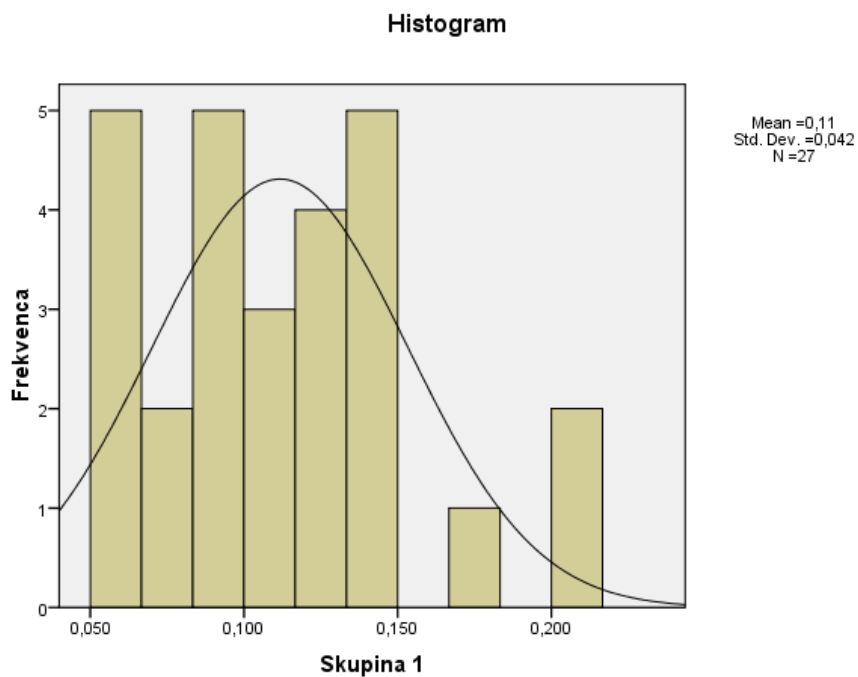
Graf 9: Nenormalna porazdelitev rezultatov druge skupine – EPCA2



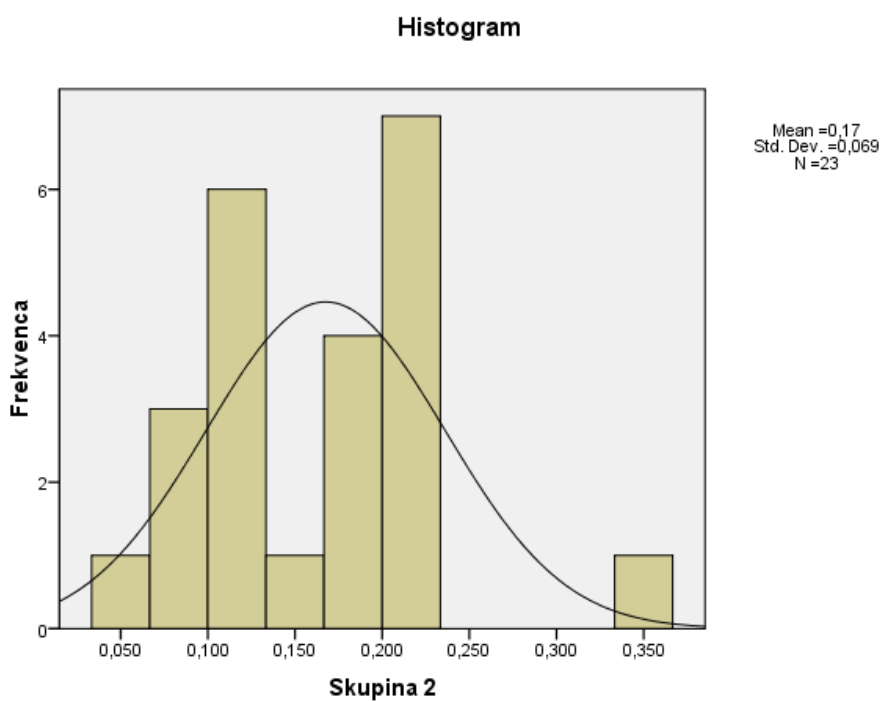
Graf 10: Normalna porazdelitev rezultatov prve skupine – PSA



Graf 11: Nenormalna porazdelitev rezultatov druge skupine – PSA



Graf 12: Normalna porazdelitev rezultatov prve skupine – pPSA/PSA



Graf 13: Normalna porazdelitev rezultatov druge skupine – pPSA/PSA

4.1.3 UGOTAVLJANJE RAZLIK MED OBEMA SKUPINAMA BOLNIKOV

Naš namen je ugotoviti, ali je med obema skupinama bolnikov koncentracija EPCA2 statistično značilno različna. Za ugotavljanje razlik v povprečnih vrednostih nenormalno porazdeljenih spremenljivk smo uporabili Mann-Whitneyev test pri stopnji tveganja 0,05. Pri testiranju smo postavili naslednji hipotezi:

Ho: aritmetični sredini obeh populacij sta enaki

Ha: aritmetični sredini obeh populacij sta različni

Preglednica XI: Povprečni rang in vsota rangov – EPCA2

	Število vzorcev (N)	Povprečni rang	Vsota rangov
Skupina 1	29	29,66	860,00
Skupina 2	25	25,00	625,00

Preglednica XII: Testne statistike (Mann-Whitneyev test) – EPCA2

	EPCA2
Mann-Whitney U	300,00
Z	-1,085
p	0,283

Glede na rezultate SPSS analize vidimo, da je povprečna vrednost rangov prve skupine večja. Zanima nas ali je ta razlika med skupinama pri 5 % stopnji tveganja statistično značilna. Ker je vrednost $p > 0,05$, lahko potrdimo ničelno hipotezo, ki pravi, da sta aritmetični sredini obeh populacij enaki, oziroma da oba vzorca prihajata iz iste populacije.

Tudi za ugotavljanje razlik v koncentraciji PSA med obema skupinama bolnikov smo uporabili Mann-Whitneyev test.

Ho: aritmetični sredini obeh populacij sta enaki

Ha: aritmetični sredini obeh populacij sta različni

Preglednica XIII: Povprečni rang in vsota rangov – PSA

	Število vzorcev (N)	Povprečni rang	Vsota rangov
Skupina 1	27	30,83	832,50
Skupina 2	21	16,36	343,50

Preglednica XIV: Testne statistike (Mann-Whitneyev test) – PSA

	PSA
Mann-Whitney U	112,500
Z	-3,555
p	0,000

Ker je vrednost $p < 0,05$, zavrnemo ničelno hipotezo in sprejmemo alternativno, ki pravi, da sta aritmetični sredini obeh populacij različni. S 95 % verjetnostjo lahko trdimo, da test določanja koncentracije PSA ločuje med bolniki z rakom prostate in bolniki z benignimi obolenji prostate.

Pri razmerju med prostim in celokupnim PSA se rezultati v obeh skupinah porazdeljujejo statistično normalno, zato naredimo t-test za neodvisne vzorce z izbrano stopnjo tveganja 0,05. Naredimo dvostranski t-test, saj nas zanima le, ali obstaja razlika v pPSA/PSA med obema skupinama bolnikov (rakavimi, nerakavimi) ali ne.

Postavitev hipotez:

Ho: $\mu_1 = \mu_2$ (aritmetični sredini dveh vzorcev sta enaki)

Ha: $\mu_1 \neq \mu_2$ (aritmetični sredini dveh vzorcev nista enaki)

Preglednica XV: Rezultati t-testa za pPSA/PSA

t-test						
					95% interval zaupanja	
t	df	p (dvostransko)	razlika med povprečjema	standardna napaka razlike	spodnji	zgornji
-3,540	48	0,001	-0,055862	0,015780	-0,087589	-0,024134

Ker je p vrednost manjša od stopnje tveganja (0,05), lahko zavrnemo ničelno hipotezo, ki pravi, da sta aritmetični sredini dveh vzorcev enaki in sprejmemo alternativno hipotezo, ki trdi, da sta aritmetični sredini vzorcev različni. Torej lahko s 95 % gotovostjo trdimo, da imajo rakavi bolniki razmerje pPSA/PSA različno od tistih z nerakavimi obolenji prostate.

4.2 DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST IN SPECIFIČNOST

4.2.1 IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI EPCA2 GLEDE NA ZDRAVE PREISKOVANCE

Za referenčno vrednost smo uporabili 30 µg/L. Dobljene vrednosti, ki so nižje od referenčne vrednosti, pomenijo negativen rezultat, višje vrednosti pa pozitiven rezultat. Na osnovi mejne vrednosti smo rezultate razdelili na resnično pozitivne (RP), resnično negativne (RN), lažno pozitivne (LP) in lažno negativne (LN).

Preglednica XVI: Število pozitivnih in negativnih testov za EPCA2 glede na zdrave preiskovance

	Povišana vrednost EPCA2	Normalna vrednost EPCA2
Rak prostate	RP=25	LN=4
Zdravi preiskovanci	LP=0	RN=12

Občutljivost je verjetnost **pozitivnega izida** pri **bolnih** pacientih, pri katerih je prisoten rak prostate. Manj kot je lažno negativnih rezultatov, boljša je občutljivost.

Specifičnost je verjetnost **negativnega izida** pri **zdravih** pacientih, ki nimajo potrjene diagnoze raka prostate. Manj kot je lažno pozitivnih rezultatov, večja je specifičnost.

Občutljivost izračunamo po formuli, kjer število pacientov z rakom prostate in povišano koncentracijo EPCA2 (RP) delimo z vsoto števil pacientov z rakom prostate, ki imajo povišano vrednost EPCA2 (RP) in tistih, ki imajo normalno vrednost EPCA2 (LN).

$$\text{OBČUTLJIVOST} = \left(\frac{\text{RP}}{\text{RP} + \text{LN}} \right) \times 100 \% = 25 / (25+4) \times 100 \% = 86 \%$$

Specifičnost izračunamo po formuli, kjer število pacientov brez raka prostate z normalno vrednostjo EPCA2 (RN) delimo z vsoto števil pacientov brez raka prostate, ki imajo normalno vrednost EPCA2 (RN) in tistih, ki imajo povišano vrednost EPCA2 (LP).

$$\text{SPECIFIČNOST} = (\text{RN} / (\text{RN} + \text{LP})) \times 100 \% = 12 / (12+0) \times 100 \% = 100 \%$$

4.2.2 IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI GLEDE NA BOLNIKE Z NEMALIGNIMI OBOLENJI PROSTATE

4.2.2.1 EPCA2

Preglednica XVII: Število pozitivnih in negativnih testov za EPCA2 glede na bolnike z nemalignimi obolenji

	Povišana vrednost EPCA2	Normalna vrednost EPCA2
Rak prostate	RP=25	LN=4
Nemaligna obolenja	LP=20	RN=5

$$\text{OBČUTLJIVOST} = (\text{RP} / (\text{RP} + \text{LN})) \times 100 \% = 25 / (25+4) \times 100 \% = 86 \%$$

$$\text{SPECIFIČNOST} = (\text{RN} / (\text{RN} + \text{LP})) \times 100 \% = 5 / (5+20) \times 100 \% = 20 \%$$

4.2.2.2 Celokupni PSA

Za mejno vrednost smo uporabili koncentracijo 3 µg/L. Dobljene vrednosti, ki so nižje od mejne vrednosti, pomenijo negativen rezultat, višje vrednosti pa pozitiven rezultat.

Preglednica XVIII: Število pozitivnih in negativnih testov za PSA glede na bolnike z nemalignimi obolenji

	Povišana vrednost PSA	Normalna vrednost PSA
Rak prostate	RP=27	LN=0
Nemaligna obolenja	LP=19	RN=2

$$\text{OBČUTLJIVOST} = (\text{RP} / (\text{RP} + \text{LN})) \times 100 \% = 27 / (27 + 0) \times 100 \% = \mathbf{100 \%}$$

$$\text{SPECIFIČNOST} = (\text{RN} / (\text{RN} + \text{LP})) \times 100 \% = 2 / (2 + 19) \times 100 \% = \mathbf{10 \%}$$

4.2.2.3 Razmerje med prostim in celokupnim PSA

Če je razmerje med prostim in celokupnim PSA 0,15 ali manj, je verjetnost za raka prostate velika. To vrednost smo uporabili za razmejitev pozitivnih rezultatov od negativnih.

Preglednica XIX: Število pozitivnih in negativnih testov za pPSA/PSA glede na bolnike z nemalignimi obolenji

	Znižan delež pPSA/PSA	Normalen delež pPSA/PSA
Rak prostate	RP=24	LN=3
Nemaligna obolenja	LP=10	RN=13

$$\text{OBČUTLJIVOST} = (\text{RP} / (\text{RP} + \text{LN})) \times 100 \% = 24 / (24 + 3) \times 100 \% = \mathbf{89 \%}$$

$$\text{SPECIFIČNOST} = (\text{RN} / (\text{RN} + \text{LP})) \times 100 \% = 13 / (13 + 10) \times 100 \% = \mathbf{57 \%}$$

4.3 KORELACIJA MED EPCA2, CELOKUPNIM PSA IN PROSTO FRAKCIJO PSA PRI BOLNIKI Z RAKOM PROSTATE

V sklopu statistične analize smo izvedli tudi analizo korelacije med EPCA2, PSA in pPSA. Kot merilo korelacije smo upoštevali vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta. Pri testiranju korelacije med posameznimi spremenljivkami, smo postavili naslednji hipotezi:

Ho: spremenljivki nista linearno povezani

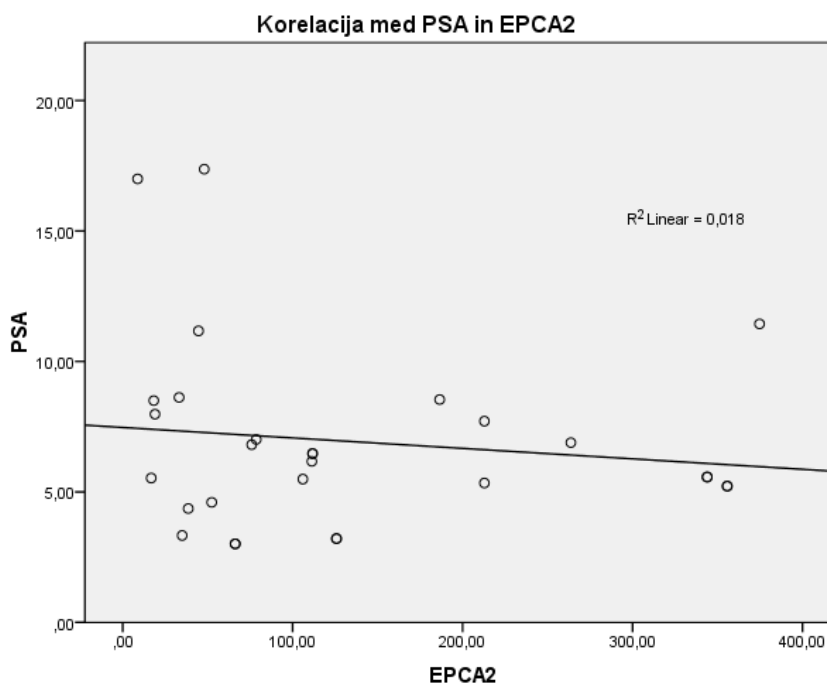
Ha: spremenljivki sta linearno povezani

Preglednica XX: Korelacija med PSA, pPSA in EPCA2

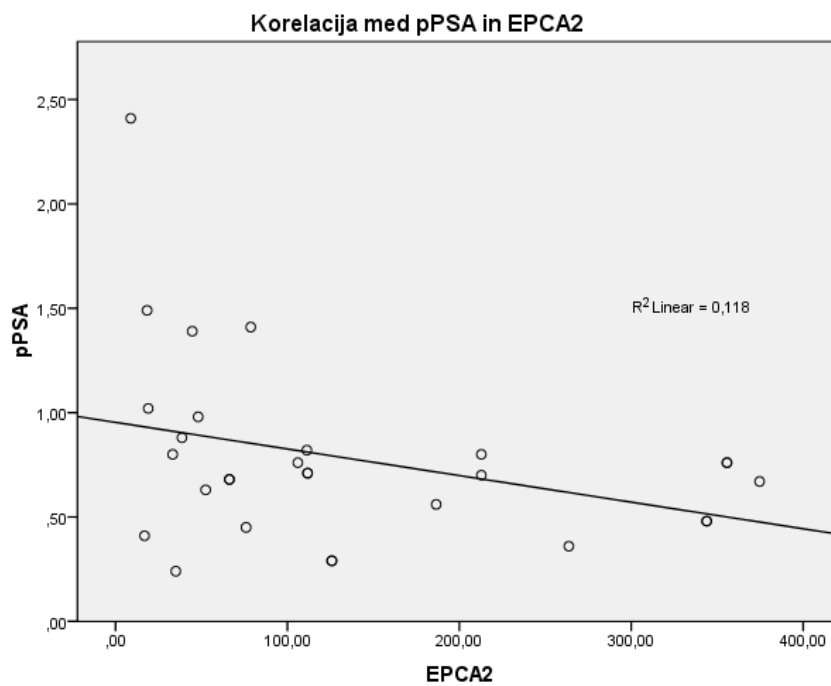
		EPCA2	PSA	pPSA
EPCA2	korelacijski koeficient	1,000	-0,156	-0,370
	p	/	0,419	0,048
PSA	korelacijski koeficient	-0,156	1,000	0,518
	p	0,419	/	0,004
pPSA	korelacijski koeficient	-0,370	0,518	1,000
	p	0,048	0,004	/

Če je $p < 0,05$, zavrnemo ničelno hipotezo in sprejmemo alternativno. V našem primeru lahko potrdimo signifikantno korelacijo med PSA in pPSA (kar je pričakovano), slabo korelacijo med EPCA2 in pPSA, medtem ko je korelacija med EPCA2 in PSA nesignifikantna.

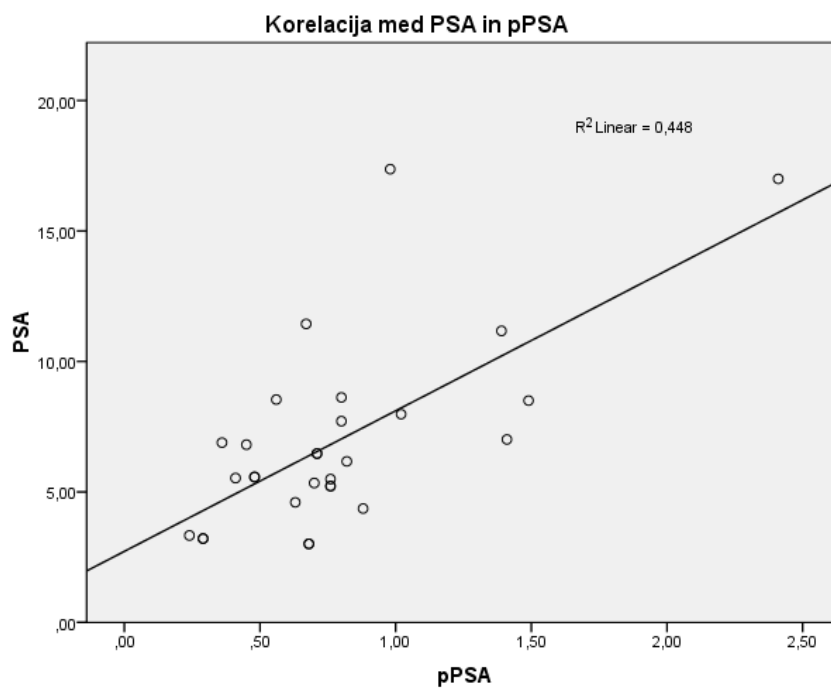
Med osnovno preiskavo, kjer določamo koncentracijo PSA in novejšo preiskavo določanja koncentracije EPCA2, torej ni nobene korelacije. V primeru, da bi dobili odlično korelacijo med tema dvema parametroma, bi lahko diagnostika raka prostate temeljila na določanju le enega od parametrov (PSA ali EPCA2) in ne nujno obeh.



Graf 14: Korelacija med PSA in EPCA2



Graf 15: Korelacija med prosto frakcijo PSA in EPCA2



Graf 16: Korelacija med PSA in njegovo prosto frakcijo

4.4 MESEČNI PREGLED NAROČIL ZA TUMORSKA OZNAČEVALCA PSA IN pPSA

V enem mesecu (10. julij – 10. avgust 2013) je bilo na analizo določanja koncentracije tumorskega označevalca PSA poslano 681 vzorcev, medtem ko je bilo kombiniranih vzorcev, kjer sta bili hkrati naročeni obe preiskavi (določanje koncentracije PSA in pPSA), 204 (preglednici v prilogi).

PSA:

- Starost: povprečna starost preiskovancev je 64,7 let. Najmlajši preiskovanec je star 24 let, najstarejši 93 let. Kar 90 preiskovancev je mlajših od 50 let.
- Koncentracija PSA: izmed 681 vzorcev je pri 523 vzorcih koncentracija PSA v mejah normale ($< 3 \mu\text{g/L}$). Pozitiven rezultat smo dobili pri 158 vzorcih, kar predstavlja manj kot četrtino vseh preiskovancev (23,2 %). Le trije izmed devetdesetih preiskovancev, ki so mlajši od 50 let, imajo koncentracijo PSA višjo od normalne ($> 3 \mu\text{g/L}$). Glede na to, da je pri mlajših velika večina rezultatov negativnih, lahko sklepamo, da gre predvsem za tiste preiskovance, ki jih na pregled pošiljamo preventivno. Pri starejših se določanje koncentracije PSA lahko uporablja kot presejalni test, lahko pa gre za bolnike, ki že imajo potrjenega raka prostate.
- Naročnik: Analiza je pokazala, da je naročnik večine preiskav, pri katerih je koncentracija PSA močno povečana, Kirurška klinika. Predpostavljamo lahko, da gre za bolnike, ki so že v fazi zdravljenja raka prostate.

PSA in pPSA:

- Starost: povprečna starost preiskovancev je 63,4 let. Najmlajši preiskovanec je star 24 let, najstarejši 93 let. 31 preiskovancev je mlajših od 50 let.
- Koncentracija PSA: izmed 204 vzorcev je pri 144 vzorcih koncentracija PSA v mejah normale ($< 3 \mu\text{g/L}$). Pozitiven rezultat smo dobili pri 60 vzorcih, kar predstavlja 29,4 % vseh preiskovancev. Izmed 31 preiskovancev, mlajših od 50 let, ima en sam povišano koncentracijo PSA.
- Razmerje pPSA/PSA: Znižano razmerje med prostim in celokupnim PSA ($< 0,15$), ki bi lahko nakazovalo na raka prostate, smo določili pri 53 vzorcih. To predstavlja

26,0 % vseh preiskovancev. Razmerje pPSA/PSA je znižano pri petih preiskovancih, mlajših od 50 let.

- Izmed 60 preiskovancev, ki imajo povečano koncentracijo PSA, jih ima 33 hkrati tudi zmanjšano razmerje pPSA/PSA. Naročnik analize obeh tumorskih označevalcev je pri večini, tudi v tem primeru, Kirurška klinika.

5 RAZPRAVA

Pojavnost raka prostate se zadnja leta naglo povečuje. Podatki iz Registra raka v Sloveniji iz leta 2008 kažejo, da rak prostate zaseda prvo mesto v Sloveniji, saj predstavlja kar 18,4 % vseh rakov pri moških. Z uvedbo priporočila za preventivni pregled prostate enkrat letno pri moških, starejših od 50 let, se je odkrivanje raka bistveno izboljšalo. Pri mnogih bolnikih tako odkrijejo raka prostate v zgodnji fazi razvoja, kar odločilno vpliva na nadaljnji potek zdravljenja in tudi na samo preživetje. Pomemben del diagnostike raka prostate predstavljata digitorektalni pregled prostate in določanje serumske koncentracije prostatičnega specifičnega antigena (PSA). Metoda določanja PSA je sicer dokaj zanesljiva, vendar opazamo pomanjkljivost v občutljivosti in specifičnosti. Podatki kažejo, da je občutljivost testa med 79 in 82 %. Če je volumen raka večji od 1 ml, je občutljivost testa okrog 90 %. Specifičnost je slabša, okrog 59 %, motijo predvsem pogosti napačno pozitivni izvidi.

Dosedanje študije kažejo, da bi lahko zgodnji prostatični karcinomski antigen 2 (EPCA2) zagotavljal večjo natančnost kot PSA pri odkrivanju raka prostate, s tem pa bi se zmanjšalo tudi število nepotrebnih biopsij.

Serumskim vzorcem bolnikov smo poleg koncentracije PSA in pPSA izmerili tudi koncentracijo novega tumorskega označevalca EPCA2. Za določitev EPCA2 smo uporabili encimsko-imunski test (ELISA). Najprej smo primerjali rezultate med dvema skupinama bolnikov. V prvo skupino smo uvrstili bolnike z rakom prostate. Druga skupina je sestavljala bolnike z benignimi obolenji prostate, torej z benigno hiperplazijo prostate, vnetjem, atrofijo, predmaligno stopnjo karcinoma ali kombinacijo le-teh.

Pred samimi izračuni in analizami smo s pomočjo kvantilnih diagramov za vse tri spremenljivke preverili prisotnost osamelcev. Osamelih vrednosti, ki precej odstopajo od ostalih in bi motili statistično obdelavo, zato v nadaljevanju nismo upoštevali.

Izračunali smo statistične parametre obeh skupin. Povprečna vrednost koncentracije EPCA2 za prvo skupino je bila 135,99 $\mu\text{g/L}$, za drugo skupino 88,44 $\mu\text{g/L}$. Povprečna vrednost koncentracije PSA za prvo skupino je bila 6,16 $\mu\text{g/L}$, za drugo skupino 4,23 $\mu\text{g/L}$.

Povprečna vrednost razmerja med prostim in celokupnim PSA za prvo skupino je bilo 0,112, za drugo skupino pa 0,168. Kot smo pričakovali, sta povprečni vrednosti koncentracij EPCA2 in PSA pri bolnikih z rakom prostate (skupina 1) višji, medtem ko je razmerje med prostim in celokupnim PSA pri teh bolnikih nižje.

S pomočjo Shapiro-Wilkovega testa smo preverili normalnost porazdelitve obeh skupin. Pri EPCA2 smo ugotovili, da se v nobeni od skupin rezultati ne porazdeljujejo normalno. Ker imamo dva, med seboj neodvisna vzorca, smo z Mann-Whitneyjevim testom, ki je neparametričen analog t-testu, ugotavljali razlike v koncentraciji EPCA2 med obema skupinama bolnikov. Potrdili smo, da oba vzorca prihajata iz iste populacije. Na osnovi teh rezultatov lahko sklepamo, da test določanja koncentracije EPCA2 z encimsko-immunsko metodo ni sposoben ločitve med malignim in benignim obolenjem prostate, ločuje le med bolniki z rakom prostate in zdravimi preiskovanci.

Porazdelitev rezultatov za PSA je bila v prvi skupini bolnikov z rakom prostate normalna, medtem ko se v drugi skupini podatki niso porazdeljevali normalno. Za ugotavljanje razlik v koncentraciji PSA med obema skupinama bolnikov smo ponovno uporabili Mann-Whitneyjev test, ki ne predpostavlja normalne porazdelitve podatkov. Glede na rezultate statistične analize smo prišli do zaključka, da test določanja koncentracije PSA ločuje med bolniki z rakom prostate in bolniki z benignimi obolenji prostate.

Glede na to, da je bila pri razmerju med prostim in celokupnim PSA porazdelitev rezultatov v obeh skupinah normalna, smo naredili parametrični t-test za neodvisne vzorce. Statistična analiza je s 95 % gotovostjo potrdila, da imajo rakavi bolniki razmerje pPSA/PSA različno od tistih z nerakavimi obolenji.

Če povzamemo rezultate analiz, kjer smo ugotavljali razlike v koncentraciji EPCA2 in PSA ter razlike v razmerju med prostim in celokupnim PSA med obema skupinama bolnikov, ugotovimo, da tako določanje PSA kot tudi določanje razmerja pPSA/PSA ločujeta maligne procese od benignih, medtem ko za samo določanje koncentracije EPCA2 tega na žalost ne moremo trditi.

V naslednjem koraku smo izračunali občutljivost in specifičnost EPCA2 glede na skupino zdravih preiskovancev. Za referenčno vrednost, ki ločuje pozitiven rezultat testa od negativnega, smo uporabili koncentracijo EPCA2 30 $\mu\text{g/L}$. Višje vrednosti pomenijo pozitiven rezultat, nižje vrednosti negativnega. Opredelili smo lažno pozitivne in lažno negativne rezultate ter izračunali specifičnost in občutljivost. Specifičnost je bila 100 %, občutljivost 86 %.

Nato smo izračunali občutljivost in specifičnost vseh treh parametrov (EPCA2, celokupni PSA, razmerje pPSA/PSA) glede na bolnike z nemalignimi obolenji prostate. Pri mejni vrednosti 30 $\mu\text{g/L}$ smo za zgodnji prostatični karcinomski antigen 2 izračunali 86 % občutljivost in 20 % specifičnost. V raziskavi, ki je potekala pod vodstvom Roberta Getzenbergerja v bolnišnici Johna Hopkinsa in v katero je bilo vključenih 330 bolnikov, so bili rezultati precej boljši, saj je bila občutljivost 94 %, specifičnost pa 92 %, res pa je, da je bila skupina preiskovancev, v primerjavi z našo, veliko večja in je vključevala tako tiste z benigno hiperplazijo prostate, tiste z rakom prostate in tudi zdrave preiskovance, ki smo jih mi obravnavali posebej. Za celokupni PSA smo pri mejni vrednosti 3 $\mu\text{g/L}$ izračunali 100 % občutljivost in 10 % specifičnost. Pri razmerju med prostim in celokupnim PSA je bila občutljivost 89 %, medtem ko je bila specifičnost 57 %. V naši raziskavi nismo zasledili bolnika z rakom prostate, normalno koncentracijo PSA in povišano koncentracijo EPCA2. V takem primeru bi namreč lahko sklepali, da EPCA2 pomaga pri diagnostiki raka prostate.

Na koncu smo s pomočjo Spearmanovega koeficienta korelacije, ki je neparametrična alternativa Pearsonovega korelacijskega koeficienta, izračunali moč povezave med EPCA2, celotnim PSA in prosto frakcijo PSA. Potrdili smo signifikantno korelacijo med PSA in pPSA, kar je pričakovano, zelo slabo korelacijo med EPCA2 in pPSA, medtem ko je bila korelacija med EPCA2 in PSA nesignifikantna.

Domneva o odkritju zgodnjega prostatičnega karcinomskega antigena 2 kot novega, boljšega tumorskega označevalca, ki bi imel boljšo selektivnost in specifičnost od PSA in bi lahko pripomogel k izboljšanju diagnostike raka prostate, se torej v naši raziskavi ni izkazala za resnično. Ker nas je zanimalo, kaj je temu vzrok, smo iskali še kakšno raziskavo, podobno naši, a pri tem naleteli na objave, kjer se pojavlja dvom o

verodostojnosti podatkov. Dr. Robert H. Getzenberg naj bi ponaredil rezultate in je obtožen lažnih trditev in objave lažnih študij. Kljub prvotnemu zanikanju ponarejanja podatkov Getzenberg zdaj priznava, da rezultati testov niso bili resnični. (61)

6 SKLEP

V okviru diplomske naloge z naslovom »Klinični pomen določanja koncentracije zgodnjega prostatičnega karcinomskega antigena 2 pri bolnikih z rakom prostate« je bil glavni namen ugotoviti, ali je tumorski označevalec EPCA2 pri bolnikih z rakom prostate klinično pomemben parameter ali ne. Prišli smo do naslednjih zaključkov:

- Zgodnji prostatični karcinomski antigen 2 je uporaben pri razločevanju med rakavimi bolniki in zdravimi preiskovanci, saj imajo vsi zdravi preiskovanci koncentracijo EPCA2 v mejah normale (100 % specifičnost, ni lažno pozitivnih rezultatov).
- EPCA2 je protein, ki kaže na spremembe v sami prostati, vendar je v veliki meri povišan tako v primeru raka prostate kot tudi v primeru benignih obolenj prostate.
- Test določanja koncentracije EPCA2 ne ločuje med maligno in benigno spremembo tkiva prostate, zato lahko zavrnemo na začetku postavljeno hipotezo, da EPCA2 predstavlja uporabno alternativo določanju koncentracije PSA oziroma razmerju med pPSA in PSA.
- Test določanja koncentracije PSA ločuje med bolniki z rakom prostate in bolniki z benignimi obolenji prostate, ravno tako tudi določanje razmerja pPSA/PSA.
- Določanje koncentracije PSA in razmerja med pPSA in PSA še vedno ostaja prvi izbor pri diagnostiki raka prostate (kar se tiče tumorskih označevalcev).
- Boljšo reprezentativnost rezultatov bi dobili, če bi v raziskavo vključili večje število preiskovancev.

7 LITERATURA

1. *Onkološki inštitut Ljubljana: Rak v Sloveniji 2009. Register raka republike Slovenije 2013.*
2. *Novaković S.: Karcinogeneza-nastanek rakavih celic, Onkologija, leto X, številka 2, december 2006; 99-102.*
3. *Črne-Finderle N., Zorec R.: Mehanizmi neoplazije, Temelji patološke fiziologije, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo, Ljubljana, 2009; 121-133.*
4. *Novaković S., Hočevnar M., Jezeršek Novaković B.: Onkologija: raziskovanje, diagnostika in zdravljenje raka, Ljubljana, Mladinska knjiga 2009.*
5. *Tršinar B.: Benigna hiperplazija prostate. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.ezdravje.com/si/secila/prostata/>.*
6. *Wu N., Sun J., Yu P.: Chinese Urologists' Views of Practice Patterns in the Diagnosis and Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia: A Nationwide Survey, Int Neurourol J. 2012 December; 16(4): 191–195.*
7. *Grayhack J.T.: Benign prostatic hyperplasia. The scope of the problem. Cancer 1992; 70: Suppl 1, 275-279.*
8. *Kmetec A.: Benigna hiperplazija prostate, Farmaceutski vestnik 2011; 62: 77-80.*
9. *Nickel J.C.: Prostatitis: lessons from the 20th century, BJU International, 2000; 85, 179-184.*
10. *Kmetec A.: Bolezni prostate- moške težave. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.nasa-lekarna.si/clanki/clanek/bolezni-prostate-moske-tezave/>.*
11. *Dickson G.: Prostatitis-diagnosis and treatment, AFP, Volume 42, No.4, April 2013, pages 216-219.*
12. *Čufer T.: Rak prostate, Okno, glasilo društva onkoloških bolnikov Slovenije, letnik 20, številka 1, 2006; 9-11.*
13. *Poteko S.: Prostatični specifični antigen in rak prostate, Revija Vita, letnik 14, številka 64, april 2008; 13-14.*
14. *Šeruga B.: Rak prostate, Okno, glasilo društva onkoloških bolnikov Slovenije, številka 2, december 2011; 19-21.*
15. *Ovčak Z.: Vloga patologa pri diagnostiki karcinoma prostate, Radiology and Oncology; 40, Suppl. 1, S115-S120 .*

16. Rižner Lanišnik T.: *Androgeni, benigna hiperplazija prostate in rak prostate, Medicinski razgledi* 2008, 47; 73-85 .
17. Oblak C.: *Zgodnje odkrivanje, zdravljenje in spremljanje bolnikov z rakom prostate, Radiology and Oncology*, 2006, 40 (Suppl 1); S127-S136.
18. Kmetec A.: *Nadzorovano opazovanje kot možna oblika zdravljenja lokaliziranega raka prostate, Onkologija, leto X, številka 2, december 2006; 125-127.*
19. Lovšin M.: Urologija. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] http://www.urologija.si/gradivo.php?subaction=showfull&id=1161267386&archive=&start_from=&uca.
20. Kmetec A.: *Spletno gradivo za študente medicine.*
21. Lovšin M.: *Sodobna diagnostika raka prostate, Onkologija, leto X, številka 1, junij 2006; 34-36.*
22. Komal A.: Prostate anatomy. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.pathologyoutlines.com/topic/prostateanatomy.html>.
23. Vodopija N.: Rak prostate. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.zdravniski-nasveti.net/?nStran=teme&tema=rakpros&pog=1>.
24. Moul.W.J, Armstrong J.A., Lattanzi J.: Prostate Cancer, Cancer management, online edition . [Elektronski] [Navedeno: 4. julij 2013.] <http://www.cancernetwork.com/cancer-management/prostate/article/10165/1802626>.
25. M.Dollinger, Ernest H. Rosenbaum, G. Cable: *Življenje z rakom (odkrivanje, zdravljenje, nega); 435-444.*
26. Jagodič K.: Urološka obolenja, rak prostate. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] http://uroweb.si/index.php?menu=rak_prostate.
27. Giovannucci E., Rimm E., Liu Y., Stampfer M., Willett W.: *A Prospective Study of Tomato Products, Lycopene, and Prostate Cancer Risk, JNCI J Natl Cancer Inst (2002), 94 (5); 391-398.*
28. Stanovnik M.: *Rak prostate, Okno, glasilo društva onkoloških bolnikov Slovenije, številka 1, 2001; 18-21 .*
29. Dr. Gorkič: Rak prostate v zdravniški praksi. [Elektronski] [Navedeno: 25. avgust 2013.] www.dr-gorkic.si/pdf/PSA.pdf.
30. Chin M.: Cancer, Continence and Robotic Surgery. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] http://ccmurology.com/disease/prostate_cancer.php.

31. Društvo onkoloških bolnikov Slovenije, Bolezenski znaki raka prostate. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] http://www.onkologija.org/sl/domov/o_raku/rak_prostate/bolezenski_znaki/.
32. Poteko S.: Rak prostate, Splošna bolnišnica Celje. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] http://robotska.kirurgija.sb-celje.si/index.php?option=com_content&view=article&id=56&Itemid=91&lang=si.
33. Vodopija N.: Rak prostate, gradus in stadij bolezni . [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.zdravniski-nasveti.net/?nStran=teme&tema=rakpros&pog=5>.
34. Chappell H.: Cancer information. [Elektronski] [Navedeno: 1. februar 2013.] http://www.cancer.ca/canada-wide/about%20cancer/types%20of%20cancer/staging%20and%20grading%20for%20prostate%20cancer.aspx?sc_lang=en.
35. Chong M.: Prostate cancer. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] http://ccmurology.com/disease/prostate_cancer.php.
36. Bečan F. : Vodenje bolnika z boleznijo prostate. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:6naQJr3ydRIJ:www.drmed.org/strok/ssi/ucnedelavnice1999/p8.html+&cd=1&hl=sl&ct=clnk&gl=si>.
37. Vodopija N.: Rak prostate, zaporedje diagnostičnih postopkov. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.zdravniski-nasveti.net/?nStran=teme&tema=rakpros&pog=7>.
38. Wax A.: Digital rectal exam for prostate problems. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.webmd.com/prostate-cancer/guide/prostate-cancer-digital-rectal-exam>.
39. Oblak C.: *Prostatični specifični antigen, Onkologija, leto X, št. 1, junij 2006; 37-40.*
40. Kmetec A.: *Kirurgija raka prostate, Onkologija, leto XI, št.1, junij 2007; 43-47.*
41. Kragelj B.: *Brahiradioterapija lokaliziranega raka prostate, Onkologija, leto XI, št.1, junij 2007; 20-24.*
42. Borštnar S., Čufer T.: *Zdravljenje hormonsko neodvisnega raka prostate, Onkologija, letnik X, št.1, junij 2006; 50-53.*
43. Šeruga B., Milanez T., Borštnar S., Snoj N., Škrbinc B.: *Razvoj novih sistemskih zdravljenj pri bolnikih z razsejanim rakom prostate, Onkologija, leto XV, št.2, december 2011; 106-109.*

44. Forde P., Antonarakis E.: *Abiraterone for the Treatment of Advanced Prostate Cancer*, *Int J Target Ther Cancer*, September 2012 ; 1(3): 40–42.
45. Novaković S.: *Tumorski označevalci v klinični onkologiji*, *Onkologija/pregledi*.
46. Graham S.: *Critical assessment of Prostate Cancer Staging*, *Cancer* 1992; 70: Supp 1: 269-273.
47. Steven P. Balk, Yoo-Joung Ko, Glenn J. Bubley: *Biology of Prostate-Specific Antigen*, *Journal of Clinical Oncology*, 21, January 2003; 383-391.
48. Kalikrein. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://wiki.fkkt.uni-lj.si/index.php/Kalikrein>.
49. USCN, Early Prostate Cancer Antigen. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] [http://www.uscnk.com/directory/Early-Prostate-Cancer-Antigen-2-\(EPCA2\)-84215.htm](http://www.uscnk.com/directory/Early-Prostate-Cancer-Antigen-2-(EPCA2)-84215.htm).
50. Lemen ES, Cannon GW, Trock BJ, et al. *EPCA-2: A Highly Specific Serum Marker for Prostate Cancer*. *Urology* 2007; 69:714–20.
51. Carlson B.: *The Push for Prostate Cancer Screening*, *Biotechnological healthcare*, June 2009.
52. Članek »EPCA2 testing more accurate way to identify cancer in the prostate«, objavljen na www.news-medical.net, 27.4.2007.
53. Tuerkeri Levent: *New Markers for Prostate Cancer*, *European Urological Review*, 2007: 13-5.
54. *Imunologija v laboratorijski diagnostiki, navodila za vaje*, FFA.
55. Roche Elecsys System. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.roche-diagnostics.co.in/Products/Pages/RocheElecsysSystems.aspx>.
56. Antibodies, EPCA-2 ELISA Kit. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.antibodies-online.com/kit/649129/Early+Prostate+Cancer+Antigen+2+EPCA2+ELISA/>.
57. EPCA-2 ELISA Kit. [Elektronski] [Navedeno: 1. februar 2013.] [http://www.uscnk.com/uscn/ELISA-Kit-for-Early-Prostate-Cancer-Antigen-2-\(EPCA2\)--7158.htm](http://www.uscnk.com/uscn/ELISA-Kit-for-Early-Prostate-Cancer-Antigen-2-(EPCA2)--7158.htm).
58. Adamič Š.: *Temelji biostatistike*, 1980; stran 86.
59. Bastič M.: *Metode raziskovanja*, Univerza v Mariboru, Ekonomsko-poslovna fakulteta Maribor, oktober 2006.
60. Erčulj V.: *Korelacija-povezanost podatkov*. [Elektronski] [Navedeno: 27. junij 2013.] <http://www.rosigma.si/Korelacija.html>.

61. PSA rising; New, Improved Blood Test for Prostate Cancer. [Elektronski] [Navedeno: 5. avgust 2013.] <http://www.psa-rising.com/prostatecancer/epca2-07.htm>.

8 PRILOGA

Preglednica XXI: Mesečni pregled naročil – PSA

Zap. št.	Datum rojstva	Naročnik	Sprejem	PSA [µg/L]
1	12.03.1931	ZASEBNA AMB. SPLOŠNE MEDICINE	10.07.2013	3,14
2	09.02.1927	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	10.07.2013	2,82
3	09.02.1932	SPS NEVROLOŠKA KLINIKA	10.07.2013	3,04
4	23.10.1954	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	10.07.2013	0,55
5	23.09.1939	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	10.07.2013	4,20
6	24.12.1954	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	10.07.2013	0,54
7	27.08.1947	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	5,80
8	31.07.1932	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	2,54
9	12.12.1961	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	2,59
10	07.10.1952	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	1,50
11	06.01.1943	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,48
12	18.07.1959	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	3,03
13	26.11.1940	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	2,82
14	02.07.1930	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	0,31
15	15.05.1942	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,59
16	30.06.1936	KIKKB	10.07.2013	1,88
17	13.07.1940	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	10.07.2013	6,62
18	30.08.1927	INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,69
19	03.03.1952	INTERNA KLINIKA	10.07.2013	3,92
20	22.01.1954	ZASEBNA AMB. SPLOŠNE MEDICINE	10.07.2013	1,76
21	26.03.1943	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	15,30
22	09.11.1939	KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	7,30
23	28.02.1949	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	4,18
24	16.05.1953	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	10.07.2013	24,88
25	15.03.1927	KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	7,10
26	05.09.1951	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	1,12
27	01.04.1926	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	3,04
28	13.09.1937	KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	2,62
29	25.06.1934	KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	0,62
30	24.03.1951	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	1,96
31	12.04.1936	INTERNA KLINIKA	10.07.2013	1,65
32	27.06.1948	NEVROLOŠKA KLINIKA	10.07.2013	1,73
33	20.04.1950	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	1,83
34	13.05.1935	KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	0,55
35	20.10.1946	KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	5,35
36	21.10.1931	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,77
37	02.10.1962	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	10.07.2013	0,51
38	01.04.1957	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	6,77
39	06.10.1953	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	2,00
40	30.08.1967	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	1,06
41	13.05.1922	INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,91
42	22.11.1933	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	4,20
43	15.04.1942	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	10.07.2013	0,12
44	05.04.1936	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,45
45	31.03.1942	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,55

46	16.12.1962	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,70
47	15.10.1935	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,21
48	28.07.1947	INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,68
49	28.02.1943	INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,91
50	22.04.1945	SPS KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	2,43
51	23.10.1927	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	11.07.2013	0,63
52	31.07.1947	SPS INTERNA KLINIKA	11.07.2013	1,13
53	18.05.1937	INTERNA KLINIKA	11.07.2013	0,55
54	13.02.1935	SPS INTERNA KLINIKA	11.07.2013	2,06
55	29.05.1938	KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	21,17
56	12.03.1930	KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	66,85
57	16.01.1936	SPS KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	57,73
58	20.08.1930	SPS KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	50,52
59	01.05.1937	KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	0,83
60	21.05.1943	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	11.07.2013	0,39
61	03.02.1978	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	11.07.2013	1,00
62	10.08.1954	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	11.07.2013	1,18
63	24.01.1941	SPS KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	6,80
64	22.04.1945	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	11.07.2013	2,63
65	05.10.1941	KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	2,24
66	04.04.1933	ZDRAVSTVENI ZAVOD DR. VUČKO	11.07.2013	1,70
67	22.11.1953	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	11.07.2013	1,30
68	29.10.1948	INTERNA KLINIKA	11.07.2013	0,16
69	01.04.1963	DERMATOVENEROLOŠKA KLINIKA	11.07.2013	0,47
70	12.11.1942	SPS INTERNA KLINIKA	11.07.2013	2,37
71	27.03.1953	SPS INTERNA KLINIKA	11.07.2013	0,44
72	16.09.1935	INTERNA KLINIKA	11.07.2013	1,01
73	30.12.1959	SPS INTERNA KLINIKA	11.07.2013	1,58
74	06.02.1927	ZASEBNA AMB. SPLOŠNE MEDICINE	11.07.2013	2,78
75	05.06.1950	ZDRAVSTVENI ZAVOD DR. VUČKO	11.07.2013	0,50
76	21.02.1928	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	11.07.2013	7,41
77	05.06.1938	KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	1,82
78	22.11.1953	SPS KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	0,11
79	11.11.1953	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	11.07.2013	4,02
80	27.08.1936	KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	5,85
81	13.01.1939	SPS INTERNA KLINIKA	11.07.2013	2,20
82	04.05.1949	INTERNA KLINIKA	12.07.2013	2,82
83	28.03.1930	SPS KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	1178,0
84	01.09.1948	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,18
85	31.07.1964	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,47
86	28.02.1969	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	12.07.2013	0,56
87	24.02.1959	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	12.07.2013	1,55
88	26.02.1950	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	2,66
89	11.11.1931	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,46
90	15.04.1954	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	8,41
91	09.05.1956	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,56
92	08.12.1952	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	3,99
93	03.07.1950	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,76
94	30.03.1947	SPS KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,49
95	09.07.1938	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,99
96	17.10.1927	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	1,49

97	26.08.1987	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,96
98	30.01.1960	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	12.07.2013	7,11
99	19.03.1942	SPS KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	1,22
100	04.10.1944	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,39
101	14.12.1949	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,81
102	29.05.1951	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,16
103	19.08.1963	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,71
104	03.07.1931	NEVROLOŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,98
105	07.10.1955	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,48
106	30.08.1953	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,94
107	02.01.1973	SPS KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,82
108	09.10.1947	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	12.07.2013	12,01
109	27.12.1935	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	12.07.2013	1,31
110	05.01.1961	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,51
111	02.11.1956	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	12.07.2013	0,66
112	26.08.1944	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	7,33
113	29.07.1939	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,32
114	02.09.1955	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,62
115	27.05.1952	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	1,07
116	22.04.1945	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	1,38
117	25.10.1972	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,43
118	29.06.1920	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	438,10
119	30.05.1937	SPS KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	71,06
120	13.07.1939	INTERNA KLINIKA	15.07.2013	2,02
121	19.04.1947	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	4,47
122	13.07.1946	INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,82
123	01.09.1964	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	1,71
124	20.07.1939	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	6,22
125	14.08.1925	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	1,25
126	04.03.1959	NEVROLOŠKA KLINIKA	15.07.2013	0,89
127	27.03.1943	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,17
128	22.05.1938	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	0,21
129	10.05.1952	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	0,38
130	19.08.1952	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,92
131	24.07.1950	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,51
132	13.09.1946	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	0,54
133	15.07.1941	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,46
134	18.06.1951	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	3,29
135	27.09.1933	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,50
136	05.01.1938	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	15.07.2013	2,99
137	30.01.1935	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	3,52
138	05.06.1957	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	1,58
139	10.06.1968	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,87
140	07.06.1934	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	14,78
141	13.08.1944	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	2,07
142	02.08.1946	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	15.07.2013	0,17
143	28.11.1964	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	15.07.2013	0,76
144	02.03.1934	SPS KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	1147,0
145	22.07.1957	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	1,08
146	20.11.1971	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,47
147	12.04.1926	KLINIČNI ODD. ZA ABD. KIRURGIJO	16.07.2013	1,51

148	05.04.1930	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	16.07.2013	0,15
149	21.05.1928	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	16.07.2013	0,06
150	28.11.1949	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	16.07.2013	1,06
151	24.09.1955	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	1,67
152	05.05.1933	SPS KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	0,30
153	15.05.1933	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	214,80
154	27.07.1966	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	16.07.2013	1,32
155	02.11.1956	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,62
156	17.11.1932	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	2,52
157	31.03.1934	SPS KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	238,0
158	22.05.1960	SPS KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	0,80
159	04.05.1958	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	16.07.2013	2,36
160	13.09.1969	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,78
161	09.02.1944	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	1,01
162	29.03.1938	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	2,39
163	25.02.1955	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,63
164	22.09.1942	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	1,95
165	30.06.1948	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,48
166	25.07.1936	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	1,80
167	21.04.1982	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,65
168	23.08.1954	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	8,32
169	06.05.1951	INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,79
170	10.12.1961	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,40
171	01.07.1942	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	324,80
172	19.04.1933	SPS KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	0,43
173	28.01.1955	ZASEBNA AMB. SPLOŠNE MEDICINE	16.07.2013	0,36
174	23.12.1949	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	0,82
175	06.09.1964	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,21
176	22.02.1945	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	16.07.2013	6,15
177	03.06.1936	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	16.07.2013	0,66
178	05.06.1934	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	1,43
179	27.11.1953	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,66
180	26.02.1968	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	0,50
181	28.02.1981	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,33
182	21.10.1942	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	5,61
183	20.05.1944	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,47
184	11.03.1960	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,83
185	13.05.1981	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	0,61
186	27.04.1934	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	17.07.2013	3,11
187	12.06.1953	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	3,42
188	10.07.1957	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	0,74
189	10.06.1944	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	3,15
190	01.01.1933	KIKKB	17.07.2013	0,91
191	26.02.1944	KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	5,45
192	06.11.1942	INTERNA KLINIKA	17.07.2013	0,94
193	24.05.1953	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	1,54
194	26.09.1936	SPS KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	214,20
195	22.10.1954	KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	8,60
196	19.03.1970	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	0,66
197	10.06.1950	ZDRAVSTVENI DOM HRASTNIK	17.07.2013	8,80
198	12.01.1989	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	17.07.2013	0,41

199	17.08.1934	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	17.07.2013	2,35
200	12.08.1954	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	17.07.2013	0,57
201	05.06.1955	ZASEBNA AMB. SPLOŠNE MEDICINE	17.07.2013	5,89
202	26.04.1941	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	95,39
203	10.01.1945	KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	0,92
204	15.05.1949	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	12,96
205	04.04.1963	SPS KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	1,58
206	01.05.1928	KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	46,32
207	27.09.1962	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	0,43
208	14.12.1948	SPS KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	5,61
209	31.03.1945	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	17.07.2013	3,92
210	26.07.1959	INTERNA KLINIKA	17.07.2013	0,25
211	08.01.1936	SPS KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	18,96
212	06.12.1959	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	1,70
213	31.05.1927	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	18.07.2013	16,64
214	12.05.1938	SPS KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	5,75
215	16.02.1929	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	12,25
216	03.03.1957	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	18.07.2013	0,47
217	22.10.1973	NEVROLOŠKA KLINIKA	18.07.2013	0,95
218	31.08.1959	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,32
219	17.02.1948	SPS KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	7,19
220	12.05.1934	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	1,08
221	27.11.1953	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,56
222	16.05.1956	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	9,87
223	10.04.1970	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	18.07.2013	0,85
224	12.12.1949	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	2,68
225	02.10.1952	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	0,73
226	21.02.1964	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	18.07.2013	1,33
227	13.11.1941	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	18.07.2013	0,72
228	15.04.1980	NEVROLOŠKA KLINIKA	18.07.2013	0,65
229	12.01.1959	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,89
230	10.10.1942	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,29
231	19.06.1938	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	18.07.2013	2,26
232	25.05.1938	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	18.07.2013	1,83
233	20.04.1957	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	18.07.2013	0,82
234	20.04.1948	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	49,47
235	21.06.1957	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	18.07.2013	0,52
236	20.11.1950	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,98
237	30.10.1987	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,50
238	04.01.1940	INTERNA KLINIKA	18.07.2013	2,42
239	16.11.1956	INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,09
240	09.07.1930	SPS KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	482,90
241	22.07.1954	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	0,72
242	17.09.1958	SPS KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	4,19
243	18.07.1955	SPS INTERNA KLINIKA	19.07.2013	1,04
244	05.05.1957	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	19.07.2013	1,04
245	21.04.1942	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	19.07.2013	0,08
246	14.05.1940	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	0,35
247	29.11.1956	SPS INTERNA KLINIKA	19.07.2013	0,40
248	01.02.1939	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	19.07.2013	0,82
249	09.06.1937	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	1,74

250	26.11.1946	KIKKB	19.07.2013	0,66
251	26.09.1942	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	19.07.2013	0,34
252	16.01.1955	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	19.07.2013	0,87
253	28.10.1937	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	8,19
254	15.06.1950	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	0,80
255	24.11.1961	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	0,72
256	15.02.1934	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	19.07.2013	1,99
257	27.12.1928	INTERNA KLINIKA	19.07.2013	0,09
258	31.01.1958	SPS INTERNA KLINIKA	19.07.2013	0,21
259	13.05.1925	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	60,87
260	06.11.1962	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	0,40
261	07.09.1923	INTERNA KLINIKA	19.07.2013	0,49
262	17.09.1955	SPS INTERNA KLINIKA	19.07.2013	2,15
263	19.11.1939	SPS INTERNA KLINIKA	20.07.2013	2,02
264	23.08.1940	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	0,05
265	23.12.1959	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,45
266	06.06.1935	INTERNA KLINIKA	22.07.2013	0,27
267	21.08.1936	INTERNA KLINIKA	22.07.2013	2,13
268	17.12.1943	SPS KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,06
269	26.11.1935	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,64
270	22.01.1923	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	1,89
271	24.11.1941	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	22.07.2013	1,23
272	11.10.1963	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	22.07.2013	0,69
273	07.07.1958	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	22.07.2013	0,16
274	06.03.1943	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	10,90
275	19.09.1934	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,08
276	02.05.1931	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	1,84
277	28.12.1940	KIKKB	22.07.2013	5,33
278	10.05.1952	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	0,64
279	18.06.1944	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,30
280	12.11.1941	SPS KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,85
281	14.11.1942	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	0,07
282	29.06.1958	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	1,96
283	19.01.1930	SPS KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	4,57
284	18.12.1968	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,60
285	30.03.1929	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	22.07.2013	0,49
286	06.05.1938	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	58,66
287	25.09.1946	SPS KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,48
288	06.07.1955	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	0,97
289	15.09.1941	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	4,08
290	26.07.1977	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	1,75
291	07.06.1969	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	1,77
292	17.02.1946	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	3,02
293	30.12.1968	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	0,86
294	08.01.1955	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	23.07.2013	1,39
295	16.08.1942	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	4,58
296	16.07.1932	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	2,57
297	23.05.1963	UROLOGIJA D.O.O.	23.07.2013	0,89
298	26.02.1956	UROLOGIJA D.O.O.	23.07.2013	1,46
299	31.08.1968	UROLOGIJA D.O.O.	23.07.2013	0,64
300	20.04.1968	UROLOGIJA D.O.O.	23.07.2013	0,33

301	07.08.1947	UROLOGIJA D.O.O.	23.07.2013	0,61
302	19.07.1940	NEVROLOŠKA KLINIKA	23.07.2013	48,74
303	07.05.1942	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	23.07.2013	3,68
304	21.06.1951	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	23.07.2013	10,88
305	17.09.1941	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	5,40
306	02.09.1948	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	1,42
307	06.11.1946	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	4,06
308	26.02.1953	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	5,95
309	03.05.1957	ZASEBNA AMB. SPLOŠNE MEDICINE	23.07.2013	0,60
310	17.05.1954	UROLOGIJA D.O.O.	23.07.2013	3,82
311	26.05.1962	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	9,00
312	05.11.1951	ORTOPEDSKA KLINIKA	23.07.2013	3,98
313	30.08.1921	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	1,10
314	30.10.1956	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,39
315	08.12.1949	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	1,10
316	08.01.1943	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	23.07.2013	1,10
317	15.07.1957	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,82
318	06.07.1944	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	6,61
319	10.01.1928	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	1,15
320	22.02.1953	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	1,56
321	24.08.1953	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,78
322	02.12.1932	SPS KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	423,70
323	20.12.1935	INTERNA KLINIKA	23.07.2013	2,16
324	22.10.1963	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	1,26
325	05.11.1947	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	2,89
326	03.07.1949	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	2,42
327	10.05.1938	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,12
328	22.06.1969	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,10
329	07.12.1958	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,98
330	05.01.1935	KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	4,31
331	09.11.1935	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	4,47
332	01.01.1949	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	24.07.2013	0,31
333	01.12.1941	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	24.07.2013	8,35
334	13.12.1950	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	3,70
335	03.07.1932	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	13,75
336	29.11.1955	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	0,13
337	06.08.1959	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	4,07
338	09.05.1934	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	0,21
339	19.03.1932	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	1,11
340	20.11.1933	KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	0,38
341	05.03.1951	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	24.07.2013	2,46
342	17.08.1947	KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	4,13
343	08.06.1936	SPS NEVROLOŠKA KLINIKA	24.07.2013	3,40
344	10.12.1957	KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	2,32
345	19.11.1968	DERMATOLOŠKA KLINIKA	24.07.2013	0,36
346	28.01.1933	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	0,96
347	21.03.1952	KIKKB	24.07.2013	0,50
348	27.03.1943	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	0,15
349	05.05.1946	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	4,27
350	26.09.1934	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	7,61
351	13.04.1960	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	24.07.2013	0,52

352	22.03.1950	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	0,40
353	29.10.1950	KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	2,88
354	10.08.1947	SPS KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	0,51
355	18.05.1957	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	1,23
356	06.03.1947	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	0,39
357	29.04.1934	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	25.07.2013	5,67
358	17.08.1953	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,79
359	15.02.1934	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	25.07.2013	1,45
360	22.10.1933	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	1,32
361	24.01.1947	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	4,51
362	05.06.1962	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	25.07.2013	1,31
363	15.05.1938	KIKKB	25.07.2013	41,13
364	05.08.1948	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,65
365	11.02.1963	AL-MED D.O.O.	25.07.2013	1,59
366	18.02.1961	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	25.07.2013	0,67
367	13.06.1952	LANTANA-ZDR. STORITVE D.O.O	25.07.2013	2,23
368	10.07.1930	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	1,49
369	05.07.1947	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,88
370	22.01.1964	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	0,70
371	28.03.1924	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	1,05
372	18.02.1984	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,14
373	13.12.1951	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,80
374	24.04.1938	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	1,08
375	29.06.1920	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	512,20
376	22.05.1940	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	4,68
377	25.09.1946	SPS NEVROLOŠKA KLINIKA	25.07.2013	34,09
378	22.12.1948	KLIN. ODD. ZA ABD. KIRURGIJO	25.07.2013	1,97
379	02.04.1953	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	39,62
380	12.01.1937	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	4,47
381	20.04.1926	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	11,94
382	28.08.1947	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	127,40
383	09.06.1955	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	0,41
384	22.08.1951	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,38
385	17.02.1927	SPS KIRURŠKA KLINIKA	26.07.2013	16,72
386	04.08.1946	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	26.07.2013	0,67
387	26.01.1946	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	26.07.2013	1,81
388	27.03.1940	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	26.07.2013	0,69
389	04.10.1963	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	26.07.2013	0,25
390	07.09.1950	SPS INTERNA KLINIKA	26.07.2013	0,89
391	30.11.1961	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	26.07.2013	1,09
392	15.05.1963	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	26.07.2013	0,62
393	25.07.1944	SPS INTERNA KLINIKA	26.07.2013	1,14
394	20.04.1973	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	26.07.2013	0,33
395	30.05.1934	INTERNA KLINIKA	26.07.2013	0,44
396	12.09.1943	SPS INTERNA KLINIKA	26.07.2013	0,70
397	25.05.1954	INTERNA KLINIKA	26.07.2013	0,48
398	12.09.1954	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	26.07.2013	1,17
399	01.03.1944	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	26.07.2013	0,94
400	23.03.1931	KIRURŠKA KLINIKA	26.07.2013	1,20
401	22.11.1928	SPS KIRURŠKA KLINIKA	26.07.2013	261,20
402	07.09.1936	KIRURŠKA KLINIKA	26.07.2013	5,04

403	20.01.1949	INTERNA KLINIKA	26.07.2013	2,44
404	05.09.1966	SPS INTERNA KLINIKA	26.07.2013	0,37
405	04.07.1969	KIRURŠKA KLINIKA	26.07.2013	1,36
406	28.03.1972	SPS INTERNA KLINIKA	26.07.2013	0,80
407	30.01.1960	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	29.07.2013	3,06
408	27.05.1968	KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	1,46
409	06.08.1951	INŠTITUT ZA REHABILITACIJO SOČA	29.07.2013	1,93
410	01.03.1967	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	0,27
411	25.01.1948	INTERNA KLINIKA	29.07.2013	3,42
412	18.05.1944	KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	0,98
413	15.03.1948	KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	1,55
414	27.08.1964	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	29.07.2013	1,17
415	08.12.1948	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	29.07.2013	0,56
416	22.10.1932	INTERNA KLINIKA	29.07.2013	8,95
417	13.02.1957	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	1,39
418	02.07.1934	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	29.07.2013	1,85
419	26.09.1958	SPS KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	0,06
420	21.06.1926	INTERNA KLINIKA	29.07.2013	2,76
421	06.10.1948	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	0,96
422	04.01.1936	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	29.07.2013	1,69
423	01.08.1948	SPS KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	223,7
424	20.02.1950	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	0,26
425	22.08.1973	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	0,34
426	26.03.1948	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	2,82
427	29.02.1968	INTERNA KLINIKA	29.07.2013	0,88
428	15.02.1970	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	0,55
429	07.07.1928	KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	37,56
430	05.06.1952	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	3,87
431	12.07.1935	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	0,33
432	11.12.1966	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	0,84
433	14.03.1944	KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	1,58
434	04.06.1960	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	1,15
435	02.06.1955	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	1,09
436	27.12.1938	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	1,25
437	01.05.1947	SPS INTERNA KLINIKA	29.07.2013	2,96
438	12.12.1941	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,96
439	03.02.1957	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	30.07.2013	2,01
440	21.08.1947	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,57
441	13.07.1952	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,43
442	23.05.1959	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,78
443	16.10.1954	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	1,68
444	21.08.1965	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	1,32
445	18.01.1943	INTERNA KLINIKA	30.07.2013	1,71
446	23.07.1939	INTERNA KLINIKA	30.07.2013	2,16
447	18.04.1944	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	1,03
448	21.04.1930	KLIN. ODD. ZA ABD. KIRURGIJO	30.07.2013	0,09
449	11.08.1927	INTERNA KLINIKA	30.07.2013	4,04
450	15.03.1952	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,28
451	10.07.1954	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	3,83
452	15.01.1963	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	1,20
453	11.08.1954	INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,49

454	01.11.1944	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	30.07.2013	0,85
455	27.03.1936	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,61
456	13.04.1949	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	30.07.2013	5,63
457	09.10.1960	ZASEBNA AMB. SPLOŠNE MEDICINE	30.07.2013	0,55
458	29.01.1944	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	30.07.2013	1,42
459	29.06.1942	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	30.07.2013	0,39
460	07.09.1949	KIMDPŠ	30.07.2013	1,26
461	23.12.1949	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	1,22
462	22.10.1937	INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,51
463	11.02.1953	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	3,06
464	11.09.1938	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	0,50
465	16.01.1936	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	2,74
466	03.06.1920	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	30.07.2013	0,81
467	31.07.1939	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	2,87
468	25.10.1938	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	2,31
469	06.12.1948	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	30.07.2013	5,68
470	27.06.1956	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	30.07.2013	1,58
471	08.11.1968	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	30.07.2013	3,53
472	16.04.1948	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,88
473	24.12.1972	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,92
474	17.04.1961	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,19
475	05.07.1937	KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	2,81
476	13.05.1948	SPS INTERNA KLINIKA	31.07.2013	0,65
477	29.05.1955	SPS INTERNA KLINIKA	31.07.2013	2,39
478	03.03.1934	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	31.07.2013	2,78
479	27.01.1963	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	31.07.2013	0,63
480	23.01.1942	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	31.07.2013	1,32
481	21.01.1950	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	31.07.2013	1,86
482	01.09.1954	KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	1,52
483	03.12.1938	ZDRAVSTVENI DOM DOMŽALE	31.07.2013	8,24
484	15.02.1958	SPS KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	0,56
485	02.06.1937	KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	10,16
486	01.01.1942	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	31.07.2013	0,24
487	30.04.1939	SPS KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	0,07
488	28.03.1966	KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	0,39
489	05.06.1954	ORTOPEDSKA KLINIKA	31.07.2013	1,59
490	03.03.1949	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	31.07.2013	1,84
491	24.05.1939	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	31.07.2013	1,37
492	27.07.1936	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	31.07.2013	1,71
493	18.06.1977	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	31.07.2013	0,89
494	31.08.1934	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	31.07.2013	1,22
495	14.03.1966	KIKKB	31.07.2013	0,91
496	13.04.1934	INTERNA KLINIKA	31.07.2013	0,24
497	17.01.1926	KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	0,74
498	15.02.1934	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	31.07.2013	1,19
499	05.06.1933	SPS INTERNA KLINIKA	31.07.2013	0,70
500	10.02.1966	SPS INTERNA KLINIKA	31.07.2013	0,21
501	13.04.1959	SPS INTERNA KLINIKA	31.07.2013	5,81
502	30.03.1937	KIKKB	31.07.2013	3,72
503	09.04.1981	SPS INTERNA KLINIKA	31.07.2013	1,08
504	01.10.1942	INTERNA KLINIKA	31.07.2013	1,62

505	26.10.1951	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	01.08.2013	1,29
506	02.03.1954	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	01.08.2013	0,69
507	08.08.1925	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,85
508	17.03.1937	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,65
509	21.03.1954	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	01.08.2013	0,76
510	25.10.1934	INTERNA KLINIKA	01.08.2013	1,32
511	01.10.1962	KIRURŠKA KLINIKA	01.08.2013	0,91
512	17.08.1931	KIKKB	01.08.2013	2,41
513	26.01.1973	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,23
514	05.03.1943	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	01.08.2013	2,32
515	18.11.1943	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	01.08.2013	0,54
516	30.09.1944	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	1,85
517	30.12.1950	SPS KIRURŠKA KLINIKA	01.08.2013	0,86
518	26.04.1935	INTERNA KLINIKA	01.08.2013	1,99
519	17.02.1941	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,19
520	25.01.1966	KIRURŠKA KLINIKA	01.08.2013	0,91
521	12.10.1941	SPS KIRURŠKA KLINIKA	01.08.2013	0,65
522	06.11.1934	SPS NEVROLOŠKA KLINIKA	01.08.2013	1,13
523	29.01.1967	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,70
524	30.07.1948	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,09
525	19.06.1948	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	4,17
526	15.08.1962	SPS KIRURŠKA KLINIKA	01.08.2013	1,12
527	08.08.1956	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	1,11
528	23.06.1969	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,20
529	17.03.1942	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	1,73
530	26.03.1948	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,91
531	20.04.1941	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	5,31
532	06.06.1964	SPS INTERNA KLINIKA	02.08.2013	0,81
533	15.12.1943	KIKKB	02.08.2013	3,58
534	21.05.1947	SPS INTERNA KLINIKA	02.08.2013	1,31
535	21.08.1926	INTERNA KLINIKA	02.08.2013	4,76
536	01.04.1953	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	02.08.2013	1,63
537	22.09.1937	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	02.08.2013	7,04
538	13.02.1939	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	0,88
539	24.12.1944	NEVROLOŠKA KLINIKA	02.08.2013	0,11
540	16.08.1939	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	7,25
541	23.09.1946	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	2,63
542	20.02.1932	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	2,67
543	01.05.1937	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	1,54
544	07.07.1933	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	0,06
545	12.01.1956	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	02.08.2013	2,39
546	08.03.1958	SPS KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	3085,00
547	02.10.1932	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	26,62
548	07.05.1938	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	2,32
549	27.02.1957	SPS INTERNA KLINIKA	02.08.2013	0,93
550	05.08.1951	INTERNA KLINIKA	02.08.2013	1,71
551	19.04.1945	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	1,12
552	23.11.1977	SPS INTERNA KLINIKA	02.08.2013	0,73
553	30.01.1924	INTERNA KLINIKA	02.08.2013	0,51
554	22.01.1952	SPS INTERNA KLINIKA	02.08.2013	0,48
555	05.07.1946	SPS INTERNA KLINIKA	02.08.2013	0,06

556	04.03.1943	SPS KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	1,74
557	17.11.1980	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	7,41
558	08.03.1958	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	3103,00
559	06.04.1972	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	1,20
560	12.03.1931	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	136,50
561	16.05.1937	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	0,81
562	24.04.1953	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	1,24
563	13.01.1941	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	12,91
564	31.08.1940	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	11,17
565	08.03.1938	SPS KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	0,05
566	11.04.1956	INTERNA KLINIKA	05.08.2013	0,45
567	23.07.1952	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	1,27
568	24.03.1952	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	0,96
569	03.04.1947	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	05.08.2013	0,77
570	19.01.1952	KIKKB	05.08.2013	0,20
571	12.05.1938	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	140,30
572	13.10.1928	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	9,86
573	13.01.1939	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	0,27
574	02.10.1936	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	5,54
575	02.10.1967	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	0,66
576	09.12.1944	INTERNA KLINIKA	05.08.2013	1,56
577	10.10.1967	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	0,75
578	21.08.1925	INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,78
579	30.12.1943	KIRURŠKA KLINIKA	06.08.2013	1,53
580	15.03.1960	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	06.08.2013	0,76
581	27.01.1950	ZDRAVSTVENI DOM LITIJA	06.08.2013	2,28
582	15.07.1939	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	06.08.2013	0,69
583	19.03.1961	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	06.08.2013	0,68
584	24.10.1958	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	06.08.2013	1,12
585	16.11.1949	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	06.08.2013	0,26
586	20.04.1973	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	06.08.2013	0,39
587	24.05.1931	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	2,54
588	22.09.1934	KIRURŠKA KLINIKA	06.08.2013	1,76
589	19.03.1942	SPS KIRURŠKA KLINIKA	06.08.2013	1,18
590	21.04.1926	INTERNA KLINIKA	06.08.2013	6,79
591	05.11.1949	KIRURŠKA KLINIKA	06.08.2013	2,27
592	17.07.1957	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,87
593	09.11.1947	INTERNA KLINIKA	06.08.2013	2,75
594	25.05.1967	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	06.08.2013	1,14
595	17.11.1962	KIRURŠKA KLINIKA	06.08.2013	0,75
596	16.08.1973	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,70
597	01.10.1960	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,71
598	25.05.1966	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,94
599	11.04.1953	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	1,23
600	20.12.1946	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	2,79
601	26.03.1948	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,97
602	08.11.1949	KIRURŠKA KLINIKA	07.08.2013	1,09
603	14.08.1942	KIRURŠKA KLINIKA	07.08.2013	4,21
604	23.08.1954	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	07.08.2013	20,07
605	03.11.1954	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	07.08.2013	1,35
606	11.01.1943	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	07.08.2013	0,58

607	08.01.1949	SPS INTERNA KLINIKA	07.08.2013	0,70
608	05.09.1954	SPS INTERNA KLINIKA	07.08.2013	0,34
609	21.03.1942	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	07.08.2013	1,40
610	25.08.1936	SPS KIRURŠKA KLINIKA	07.08.2013	94,13
611	02.01.1966	KIRURŠKA KLINIKA	07.08.2013	1,32
612	16.01.1936	SPS KIRURŠKA KLINIKA	07.08.2013	56,66
613	23.09.1974	SPS INTERNA KLINIKA	07.08.2013	0,35
614	22.09.1936	SPS INTERNA KLINIKA	07.08.2013	0,44
615	20.05.1951	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	07.08.2013	0,38
616	22.04.1945	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	07.08.2013	1,47
617	02.05.1945	KLIN. ZA ORL IN CERVIK. KRG	07.08.2013	1,11
618	01.04.1982	SPS INTERNA KLINIKA	07.08.2013	0,58
619	14.01.1934	DERMATOLOŠKA KLINIKA	07.08.2013	1,04
620	07.06.1952	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,97
621	07.07.1936	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	1,40
622	03.04.1950	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	08.08.2013	2,38
623	29.07.1928	KIKKB	08.08.2013	0,17
624	27.04.1938	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	3,45
625	19.06.1940	KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	1,17
626	05.04.1941	INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,28
627	02.04.1956	KLIN. ODD. ZA ABD. KIRURGIJO	08.08.2013	1,29
628	26.01.1949	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,21
629	10.09.1953	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	08.08.2013	0,68
630	07.11.1953	KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	1,55
631	21.08.1940	KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	0,56
632	27.04.1927	KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	5,83
633	12.03.1930	SPS KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	46,40
634	30.10.1947	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	08.08.2013	80,05
635	27.01.1947	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	1,94
636	06.05.1955	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,66
637	10.10.1942	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,28
638	26.07.1946	KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	0,11
639	15.08.1950	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	3,27
640	07.10.1933	INTERNA KLINIKA	08.08.2013	1,15
641	23.08.1968	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,53
642	01.12.1974	INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,22
643	15.04.1964	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	08.08.2013	0,83
644	19.06.1973	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,70
645	05.07.1973	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	5,96
646	08.05.1951	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	2,78
647	17.10.1981	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,47
648	05.06.1976	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,99
649	20.02.1954	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,50
650	13.03.1983	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,97
651	16.03.1974	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,33
652	20.04.1946	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,31
653	16.01.1951	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	09.08.2013	2,06
654	07.11.1928	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	09.08.2013	1,04
655	06.01.1944	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	09.08.2013	0,17
656	07.07.1953	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	09.08.2013	4,01
657	25.04.1963	SPS NEVROLOŠKA KLINIKA	09.08.2013	1,32

658	07.12.1975	SPS NEVROLOŠKA KLINIKA	09.08.2013	0,49
659	30.11.1923	ZDRAVSTVENI DOM VRHNIKA	09.08.2013	1,31
660	17.11.1942	KIRURŠKA KLINIKA	09.08.2013	3,45
661	18.09.1945	KIRURŠKA KLINIKA	09.08.2013	2,20
662	11.09.1953	KIRURŠKA KLINIKA	09.08.2013	0,98
663	14.05.1972	KIKKB	09.08.2013	0,82
664	21.08.1926	INTERNA KLINIKA	09.08.2013	2,78
665	18.08.1963	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	1,18
666	11.12.1944	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	0,80
667	11.10.1930	KIRURŠKA KLINIKA	09.08.2013	0,32
668	07.12.1942	ZASEBNA AMB. SPLOŠNE MEDICINE	09.08.2013	6,65
669	18.07.1955	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	6,30
670	11.04.1947	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	0,99
671	04.10.1934	INTERNA KLINIKA	09.08.2013	4,27
672	27.08.1964	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	09.08.2013	0,15
673	15.03.1939	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	0,05
674	11.02.1939	KIRURŠKA KLINIKA	09.08.2013	7,85
675	16.08.1971	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	0,38
676	05.06.1954	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	1,23
677	22.07.1976	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	0,47
678	27.08.1958	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	1,24
679	29.01.1958	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	0,30
680	12.08.1957	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	1,66
681	10.11.1948	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	10.08.2013	0,93

Preglednica XXII: Mesečni pregled naročil – PSA in pPSA

Zap. št.	Datum rojstva	Naročnik	Sprejem	PSA [µg/L]	pPSA [µg/L]	pPSA/PSA
1	09.02.1932	SPS NEVROLOŠKA KLINIKA	10.07.2013	3,04	0,63	0,207
2	23.09.1939	ZDRAVSTVENI DOM IVANČNA GORICA	10.07.2013	4,20	0,76	0,181
3	26.11.1940	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	2,82	0,16	0,057
4	15.05.1942	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,59	0,12	0,203
5	24.03.1951	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	1,96	0,52	0,265
6	27.06.1948	NEVROLOŠKA KLINIKA	10.07.2013	1,73	0,71	0,410
7	20.04.1950	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	1,83	0,24	0,131
8	20.10.1946	KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	5,35	0,61	0,114
9	21.10.1931	SPS INTERNA KLINIKA	10.07.2013	0,77	0,04	0,052
10	01.04.1957	SPS KIRURŠKA KLINIKA	10.07.2013	6,77	0,66	0,097
11	31.07.1947	SPS INTERNA KLINIKA	11.07.2013	1,13	0,24	0,212
12	18.05.1937	INTERNA KLINIKA	11.07.2013	0,55	0,24	0,436
13	29.05.1938	KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	21,17	1,38	0,065
14	01.05.1937	KIRURŠKA KLINIKA	11.07.2013	0,83	0,16	0,193
15	21.05.1943	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	11.07.2013	0,39	0,10	0,256
16	01.04.1963	DERMATOVENEROLOŠKA KLINIKA	11.07.2013	0,47	0,10	0,213
17	12.11.1942	SPS INTERNA KLINIKA	11.07.2013	2,37	0,60	0,253
18	04.10.1944	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,39	0,18	0,462
19	29.05.1951	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,16	0,05	0,313
20	03.07.1931	NEVROLOŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,98	0,26	0,265
21	30.08.1953	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,94	0,27	0,287
22	02.01.1973	SPS KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,82	0,11	0,134

23	05.01.1961	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	0,51	0,16	0,314
24	26.08.1944	KIRURŠKA KLINIKA	12.07.2013	7,33	0,95	0,130
25	29.07.1939	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,32	0,14	0,438
26	02.09.1955	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	0,62	0,24	0,387
27	27.05.1952	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	1,07	0,32	0,299
28	22.04.1945	SPS INTERNA KLINIKA	12.07.2013	1,38	0,41	0,297
29	29.06.1920	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	438,10	38,95	0,089
30	19.04.1947	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	4,47	0,80	0,179
31	01.09.1964	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	1,71	0,64	0,374
32	14.08.1925	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	1,25	0,14	0,112
33	10.05.1952	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	0,38	0,09	0,237
34	13.09.1946	KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	0,54	0,14	0,259
35	15.07.1941	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,46	0,15	0,326
36	10.06.1968	SPS INTERNA KLINIKA	15.07.2013	0,87	0,30	0,345
37	28.11.1964	ZD ZA ŠTUDENTE UNIVERZE	15.07.2013	0,76	0,30	0,395
38	02.03.1934	SPS KIRURŠKA KLINIKA	15.07.2013	1147,0	93,1	0,081
39	05.05.1933	SPS KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	0,30	0,03	0,100
40	02.11.1956	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,62	0,11	0,177
41	13.09.1969	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,78	0,22	0,282
42	09.02.1944	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	1,01	0,19	0,188
43	29.03.1938	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	2,39	0,68	0,285
44	30.06.1948	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,48	0,12	0,250
45	25.07.1936	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	1,80	0,08	0,044
46	21.04.1982	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,65	0,23	0,354
47	23.08.1954	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	8,32	1,87	0,225
48	01.07.1942	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	324,80	35,61	0,110
49	19.04.1933	SPS KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	0,43	0,11	0,256
50	23.12.1949	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	0,82	0,20	0,244
51	05.06.1934	KIRURŠKA KLINIKA	16.07.2013	1,43	0,43	0,301
52	21.10.1942	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	5,61	0,80	0,143
53	20.05.1944	SPS INTERNA KLINIKA	16.07.2013	0,47	0,07	0,149
54	12.06.1953	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	3,42	0,77	0,225
55	10.07.1957	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	0,74	0,12	0,162
56	10.06.1944	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	3,15	0,70	0,222
57	26.09.1936	SPS KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	214,20	30,70	0,143
58	12.01.1989	KL. ZA INFEK. BOL. IN VROČ. STANJA	17.07.2013	0,41	0,16	0,390
59	10.01.1945	KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	0,92	0,13	0,141
60	15.05.1949	SPS INTERNA KLINIKA	17.07.2013	12,96	0,99	0,076
61	01.05.1928	KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	46,32	13,10	0,283
62	14.12.1948	SPS KIRURŠKA KLINIKA	17.07.2013	5,61	0,38	0,068
63	08.01.1936	SPS KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	18,96	6,42	0,339
64	06.12.1959	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	1,70	0,37	0,218
65	12.05.1938	SPS KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	5,75	0,66	0,115
66	16.02.1929	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	12,25	4,81	0,393
67	12.05.1934	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	1,08	0,60	0,556
68	16.05.1956	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	9,87	0,57	0,058
69	02.10.1952	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	0,73	0,18	0,247
70	20.04.1948	KIRURŠKA KLINIKA	18.07.2013	49,47	4,14	0,084
71	20.11.1950	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,98	0,18	0,184
72	30.10.1987	SPS INTERNA KLINIKA	18.07.2013	0,50	0,18	0,360
73	22.07.1954	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	0,72	0,27	0,375

74	17.09.1958	SPS KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	4,19	0,31	0,074
75	09.06.1937	KIRURŠKA KLINIKA	19.07.2013	1,74	0,34	0,195
76	31.01.1958	SPS INTERNA KLINIKA	19.07.2013	0,21	0,09	0,429
77	19.11.1939	SPS INTERNA KLINIKA	20.07.2013	2,02	0,19	0,094
78	23.12.1959	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,45	0,11	0,244
79	22.01.1923	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	1,89	0,46	0,243
80	06.03.1943	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	10,90	4,31	0,395
81	02.05.1931	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	1,84	0,53	0,288
82	28.12.1940	KIKKB	22.07.2013	5,33	0,56	0,105
83	10.05.1952	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	0,64	0,17	0,266
84	18.06.1944	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,30	0,06	0,200
85	19.01.1930	SPS KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	4,57	0,97	0,212
86	18.12.1968	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,60	0,20	0,333
87	25.09.1946	SPS KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	0,48	0,12	0,250
88	15.09.1941	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	4,08	1,03	0,252
89	26.07.1977	KIRURŠKA KLINIKA	22.07.2013	1,75	0,10	0,057
90	30.12.1968	SPS INTERNA KLINIKA	22.07.2013	0,86	0,27	0,314
91	16.07.1932	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	2,57	0,86	0,335
92	19.07.1940	NEVROLOŠKA KLINIKA	23.07.2013	48,74	4,36	0,089
93	02.09.1948	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	1,42	0,28	0,197
94	06.11.1946	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	4,06	0,82	0,202
95	26.02.1953	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	5,95	1,28	0,215
96	26.05.1962	KIRURŠKA KLINIKA	23.07.2013	9,00	0,36	0,040
97	05.11.1951	ORTOPEDSKA KLINIKA	23.07.2013	3,98	0,89	0,224
98	08.12.1949	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	1,10	0,40	0,364
99	15.07.1957	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,82	0,41	0,500
100	24.08.1953	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,78	0,20	0,256
101	22.10.1963	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	1,26	0,26	0,206
102	03.07.1949	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	2,42	0,87	0,360
103	22.06.1969	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,10	0,05	0,500
104	07.12.1958	SPS INTERNA KLINIKA	23.07.2013	0,98	0,19	0,194
105	13.12.1950	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	3,70	0,81	0,219
106	06.08.1959	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	4,07	0,46	0,113
107	10.12.1957	KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	2,32	0,35	0,151
108	27.03.1943	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	0,15	0,04	0,267
109	05.05.1946	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	4,27	1,10	0,258
110	29.10.1950	KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	2,88	0,50	0,174
111	10.08.1947	SPS KIRURŠKA KLINIKA	24.07.2013	0,51	0,13	0,255
112	18.05.1957	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	1,23	0,10	0,081
113	06.03.1947	SPS INTERNA KLINIKA	24.07.2013	0,39	0,08	0,205
114	22.10.1933	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	1,32	0,25	0,189
115	24.01.1947	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	4,51	0,83	0,184
116	10.07.1930	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	1,49	0,11	0,074
117	05.07.1947	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,88	0,04	0,045
118	13.12.1951	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,80	0,36	0,450
119	24.04.1938	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	1,08	0,34	0,315
120	29.06.1920	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	512,20	20,22	0,039
121	25.09.1946	SPS NEVROLOŠKA KLINIKA	25.07.2013	34,09	9,01	0,264
122	02.04.1953	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	39,62	3,76	0,095
123	12.01.1937	KIRURŠKA KLINIKA	25.07.2013	4,47	1,78	0,398
124	22.08.1951	SPS INTERNA KLINIKA	25.07.2013	0,38	0,16	0,421

125	07.09.1950	SPS INTERNA KLINIKA	26.07.2013	0,89	0,37	0,416
126	23.03.1931	KIRURŠKA KLINIKA	26.07.2013	1,20	0,44	0,367
127	07.09.1936	KIRURŠKA KLINIKA	26.07.2013	5,04	1,24	0,246
128	27.05.1968	KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	1,46	0,46	0,315
129	06.08.1951	INŠTITUT ZA REHABILITACIJO SOČA	29.07.2013	1,93	0,17	0,088
130	15.03.1948	KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	1,55	0,43	0,277
131	07.07.1928	KIRURŠKA KLINIKA	29.07.2013	37,56	14,86	0,396
132	21.08.1947	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,57	0,14	0,246
133	13.07.1952	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,43	0,07	0,163
134	23.05.1959	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,78	0,15	0,192
135	16.10.1954	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	1,68	0,41	0,244
136	15.03.1952	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,28	0,10	0,357
137	11.08.1954	INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,49	0,21	0,429
138	27.03.1936	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,61	0,25	0,410
139	23.12.1949	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	1,22	0,27	0,221
140	11.02.1953	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	3,06	0,45	0,147
141	11.09.1938	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	0,50	0,14	0,280
142	31.07.1939	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	2,87	0,83	0,289
143	25.10.1938	KIRURŠKA KLINIKA	30.07.2013	2,31	0,69	0,299
144	24.12.1972	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,92	0,53	0,576
145	17.04.1961	SPS INTERNA KLINIKA	30.07.2013	0,19	0,05	0,263
146	03.12.1938	ZDRAVSTVENI DOM DOMŽALE	31.07.2013	8,24	1,05	0,127
147	15.02.1958	SPS KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	0,56	0,09	0,161
148	02.06.1937	KIRURŠKA KLINIKA	31.07.2013	10,16	1,78	0,175
149	05.06.1954	ORTOPEDSKA KLINIKA	31.07.2013	1,59	0,40	0,252
150	30.03.1937	KIKKB	31.07.2013	3,72	0,76	0,204
151	09.04.1981	SPS INTERNA KLINIKA	31.07.2013	1,08	0,54	0,500
152	26.01.1973	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,23	0,04	0,174
153	25.01.1966	KIRURŠKA KLINIKA	01.08.2013	0,91	0,08	0,088
154	15.08.1962	SPS KIRURŠKA KLINIKA	01.08.2013	1,12	0,25	0,223
155	08.08.1956	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	1,11	0,24	0,216
156	23.06.1969	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	0,20	0,05	0,250
157	17.03.1942	SPS INTERNA KLINIKA	01.08.2013	1,73	0,55	0,318
158	20.04.1941	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	5,31	0,89	0,168
159	06.06.1964	SPS INTERNA KLINIKA	02.08.2013	0,81	0,06	0,074
160	13.02.1939	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	0,88	0,03	0,034
161	16.08.1939	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	7,25	2,10	0,290
162	23.09.1946	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	2,63	0,60	0,228
163	01.05.1937	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	1,54	0,33	0,214
164	08.03.1958	SPS KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	3085,00	355,3	0,115
165	02.10.1932	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	26,62	13,14	0,494
166	19.04.1945	KIRURŠKA KLINIKA	02.08.2013	1,12	0,16	0,143
167	23.11.1977	SPS INTERNA KLINIKA	02.08.2013	0,73	0,14	0,192
168	08.03.1958	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	3103,00	281,6	0,091
169	24.04.1953	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	1,24	0,38	0,306
170	13.01.1941	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	12,91	1,62	0,125
171	31.08.1940	KIRURŠKA KLINIKA	05.08.2013	11,17	1,04	0,093
172	24.03.1952	SPS INTERNA KLINIKA	05.08.2013	0,96	0,14	0,146
173	09.12.1944	INTERNA KLINIKA	05.08.2013	1,56	0,42	0,269
174	16.08.1973	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,70	0,23	0,329
175	01.10.1960	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,71	0,37	0,521

176	25.05.1966	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	0,94	0,34	0,362
177	11.04.1953	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	1,23	0,20	0,163
178	20.12.1946	SPS INTERNA KLINIKA	06.08.2013	2,79	0,43	0,154
179	08.11.1949	KIRURŠKA KLINIKA	07.08.2013	1,09	0,49	0,450
180	14.08.1942	KIRURŠKA KLINIKA	07.08.2013	4,21	0,58	0,138
181	02.01.1966	KIRURŠKA KLINIKA	07.08.2013	1,32	0,57	0,432
182	23.09.1974	SPS INTERNA KLINIKA	07.08.2013	0,35	0,06	0,171
183	02.05.1945	KLIN. ZA ORL IN CERVIK. KRG	07.08.2013	1,11	0,52	0,468
184	07.06.1952	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,97	0,44	0,454
185	07.07.1936	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	1,40	0,62	0,443
186	19.06.1940	KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	1,17	0,38	0,325
187	26.01.1949	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,21	0,09	0,429
188	21.08.1940	KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	0,56	0,15	0,268
189	27.04.1927	KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	5,83	0,81	0,139
190	12.03.1930	SPS KIRURŠKA KLINIKA	08.08.2013	46,40	2,72	0,059
191	27.01.1947	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	1,94	0,45	0,232
192	15.08.1950	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	3,27	0,40	0,122
193	19.06.1973	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,70	0,21	0,300
194	05.07.1973	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	5,96	0,41	0,069
195	08.05.1951	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	2,78	0,55	0,198
196	17.10.1981	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,47	0,22	0,468
197	05.06.1976	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,99	0,45	0,455
198	20.02.1954	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,50	0,12	0,240
199	16.03.1974	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,33	0,19	0,576
200	13.03.1983	SPS INTERNA KLINIKA	08.08.2013	0,97	0,38	0,392
201	17.11.1942	KIRURŠKA KLINIKA	09.08.2013	3,45	0,48	0,139
202	18.09.1945	KIRURŠKA KLINIKA	09.08.2013	2,20	0,60	0,273
203	11.09.1953	KIRURŠKA KLINIKA	09.08.2013	0,98	0,27	0,276
204	11.12.1944	SPS INTERNA KLINIKA	09.08.2013	0,80	0,12	0,150