

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TAMARA JEREBIC (BALAŽIC)

**DIPLOMSKA NALOGA**

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI ŠTUDIJSKI PROGRAM  
LABORATORIJSKA BIOMEDICINA

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TAMARA JEREBIC (BALAŽIC)

**DIAGNOSTIČNI POMEN TUMORSKIH  
OZNAČEVALCEV PRI RAKU NA  
ŽELODCU**

**DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF TUMOR  
MARKERS IN STOMACH CANCER**

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI ŠTUDIJSKI PROGRAM  
LABORATORIJSKA BIOMEDICINA

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za Farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. Meritve vrednosti tumorskih označevalcev CEA in CA 19-9 so opravili na Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju za koristne napotke in pomoč pri nastajanju diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi somentorju doc. dr. Radu Janša za vse napotke in predloge pri pregledu diplomske naloge.

Hvala tudi izr. prof. dr. Barbari Ostanek in doc. dr. Tanji Gmeiner Stopar za dodatne napotke, dragocene nasvete in pomoč.

Zahvala gre tudi mojemu možu, vsem domačim in prijateljem, ki so mi stali ob strani in mi pomagali pri nastajanju diplomskega dela. Hvala tudi sinu in hčerki, ki sta vse težko naredila lažje.

Hvala vsem!

Izjava:

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

Ljubljana, september 2016

Tamara Jerebic (Balažic)

Predsednica diplomske komisije: izr. prof. dr. Barbara Ostanek

Članica diplomske komisije: doc. dr. Tanja Gmeiner Stopar

## KAZALO VSEBINE

KAZALO SLIK.....	III
KAZALO TABEL.....	IV
POVZETEK .....	V
SEZNAM OKRAJŠAV.....	VI
1 UVOD.....	1
1.1 ANATOMIJA IN FIZIOLOGIJA ŽELODCA .....	1
1.2 BOLEZNI ŽELODCA .....	3
1.2.1 GASTRITIS .....	3
1.2.2 PEPTIČNA RAZJEDA.....	4
1.2.3 RAZJEDA NA ŽELODCU .....	5
1.2.4 STRESNA RAZJEDA .....	5
1.2.5 GASTROPATIJE.....	5
1.2.6 BENIGNI TUMORJI ŽELODCA .....	6
1.2.6.1 Polipi v želodcu. ....	6
1.2.6.2 Submukozne lezije v želodcu.....	7
1.2.7 MALIGNI TUMORJI ŽELODCA .....	7
1.3 TUMORSKI OZNAČEVALCI .....	11
1.3.1 KARCINOEMBRIONALNI ANTIGEN (CEA).....	14
1.3.2 KARCINOMSKI ANTIGEN 19-9 (CA 19-9).....	15
2 NAMEN DELA.....	17
3 MATERIALI IN METODE .....	18
3.1 OPIS SKUPINE PREISKOVANCEV .....	18
3.2 DOLOČANJE CEA IN CA 19-9 .....	19
3.2.1 PRINCIP METODE .....	19

3.2.2	OPREMA IN INSTRUMENTI .....	20
3.2.3	REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE .....	20
3.2.4	KALIBRACIJA .....	21
3.2.5	DELOVNI POSTOPEK .....	21
3.2.6	PODAJANJE REZULTATOV .....	22
3.2.7	VREDNOTENJE REZULTATOV .....	22
4	REZULTATI .....	24
4.1	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV .....	25
4.1.1	KOLMOGOROV – SMIRNOV TEST .....	25
4.1.2	T – TEST ZA CEA .....	25
4.1.3	MANN - WHITNEYEV U TEST ZA CA 19-9 .....	27
4.2	SPECIFIČNOST IN OBČUTLJIVOST .....	28
4.2.1	IZRAČUN SPECIFIČNOSTI IN OBČUTLJIVOSTI ZA CEA....	28
4.2.2	IZRAČUN SPECIFIČNOSTI IN OBČUTLJIVOSTI ZA CA 19-9 29	
4.2.3	IZRAČUN SPECIFIČNOSTI IN OBČUTLJIVOSTI Z ROC KRIVULJO	30
4.2.3.1	ROC KRIVULJA ZA TO CEA IN CA 19-9 .....	30
4.2.3.2	ROC KRIVULJA ZA TO CEA IN CA 19-9 SKUPAJ .....	31
5	RAZPRAVA.....	33
6	SKLEPI.....	36
7	LITERATURA .....	37

## KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz zgradbe želodca (povzeto po 5).....	1
Slika 2: Vrednotenje specifičnosti in senzitivnosti TO (povzeto po 11).....	12
Slika 3: Delež moških in žensk v skupini preiskovancev.....	18
Slika 4: Delež obolelih za rakom in kontrolne skupine.....	18
Slika 5: Prvi del reakcije pri CMIA metodi (povzeto po 7).....	20
Slika 6: Drugi del reakcije pri CMIA metodi (povzeto po 7).....	20
Slika 7: Graf specifičnosti CEA.....	28
Slika 8: Graf občutljivosti CEA.....	29
Slika 9: Graf občutljivosti CA 19-9.....	29
Slika 10: Graf specifičnosti CA 19-9.....	30
Slika 11: Graf - ROC krivulja za CEA in CA 19-9.....	31
Slika 12: Graf – ROC krivulja za CEA in CA 19-9 skupaj.....	32

## KAZALO TABEL

Tabela I: T, N, M – klasifikacija in stadiji raka želodca (povzeto po 10). .....	9
Tabela II: Tabela za izračun specifičnosti in občutljivosti .....	23
Tabela III: Vrednotenje vrednosti AREA.....	23
Tabela IV: Izmerjene vrednosti CEA in CA 19 – 9 pri preiskovancih, vključenih v diplomsko nalogo .....	24
Tabela VI: Opisna statistika za CEA pri bolnikih s potrjenim rakom na želodcu in kontrolni skupini .....	26
Tabela VII: T-test za neodvisne vzorce .....	26
Tabela VIII: Opisna statistika za CA 19-9 pri kontrolni skupini in preiskovancih s potrjenim rakom na želodcu.....	27
Tabela X: Specifičnost in občutljivost za CEA.....	28
Tabela XI: Specifičnost in občutljivost za CA 19-9.....	29
Tabela XII: Področje pod krivuljo za CEA in CA 19-9 .....	30
Tabela XIII: Področje pod krivuljo za CEA in CA 19-9 skupaj .....	31

## POVZETEK

Rak želodca je peti najpogostejši rak na svetu. Ponavadi se razvija počasi skozi več let. Bolezen običajno odkrijemo v napredovalnem stadiju, saj so težave, ki se pojavijo neznačilne. Diagnozo želodčnega raka postavimo z endoskopskim pregledom in z biopsijo, ki ima več kot 95 % občutljivost in specifičnost.

Tumorski označevalci so snovi, ki nastajajo v tumorskih celicah ali pod vplivom tumorskih celic. Dokažemo jih lahko v telesnih tekočinah ali tkivih bolnikov z rakom. V diplomskem delu smo se osredotočili na tumorska označevalca, ki sta zvišana pri napredovalnem raku na želodcu. To sta karcinoembrionalni antigen (CEA) in karcinomski antigen 19-9 (CA 19-9). Karcinoembrionalni antigen je zvišan, ko je njegova koncentracija nad 4,2 µg/L, karcinomski antigen 19-9 pa je zvišan, ko vrednosti koncentracije presežejo 37 kU/L. Povišane vrednosti najdemo tudi pri drugih vrstah rakastega obolenja. Oba tumorska označevalca sta v nizkih koncentracijah prisotna tudi v nekaterih zdravih tkivih.

V diplomski nalogi smo želeli ugotoviti diagnostično uporabnost tumorskih označevalcev CEA in CA 19-9. Analizirali smo 41 preiskovancev. V zbranih serumih smo z kemiluminiscenčno imunološko metodo z uporabo mikrodlecev izmerili vrednosti CEA in CA 19-9. Preiskovance smo razdelili v dve skupini. V eno skupino smo uvrstili preiskovance, ki so imeli potrjeno diagnozo rak na želodcu, v drugo skupino pa preiskovance pri katerih diagnoza rak na želodcu ni bila potrjena. Drugo skupino smo uporabljali kot kontrolno skupino. S pomočjo statističnih testov smo primerjali vrednosti obeh tumorskih označevalcev med seboj. Za tumorski označevalec CEA smo izračunali 81 % specifičnost in 79 % občutljivost. Za tumorski označevalec CA 19-9 smo izračunali 36 % občutljivost in 78 % specifičnost. Specifičnost in občutljivost smo izračunali tudi s pomočjo ROC krivulje, kjer smo ravno tako prišli do zaključka, da je CEA bolj občutljiv in specifičen tumorski označevalec kot CA 19-9. Na koncu smo z ROC krivuljo sešteli še prispevek obeh tumorskih označevalcev in ugotovili, da sta občutljivost in specifičnost obeh označevalcev sprejemljivi, zato je skupni prispevek dejavnikov primeren samo za pomoč pri postavitvi diagnoze oziroma za spremljanje gibanja serumskih koncentracij pred, med in po zdravljenju.

**Ključne besede:** rak želodca, tumorski označevalec CEA, CA 19-9, občutljivost, specifičnost



## SEZNAM OKRAJŠAV

**CEA** – karcinoembrionalni antigen

**CA 19-9** – karcinomski antigen 19-9

**HCl** – klorovodikova kislina

**DNA** – deoksiribonukleinska kislina

**UZ** – ultrazvočni pregled

**CT** – računalniška tomografija

**T** – globina tumorske invazije

**N** – prisotnost zasevkov v regionalnih bezgavkah

**M** – prisotnost zasevkov v oddaljenih organih

**TO** – tumorski označevalec

**RTG** – rentgen

**Le<sup>a</sup>** – aktiven Lewisov gen

**Le<sup>(a-b-)</sup>** – neaktiven Lewisov gen

**CMIA** – kemiluminiscenčna imunološka metoda z uporabo mikrodelcev

**RLU** – relativna svetlobna enota

# 1 UVOD

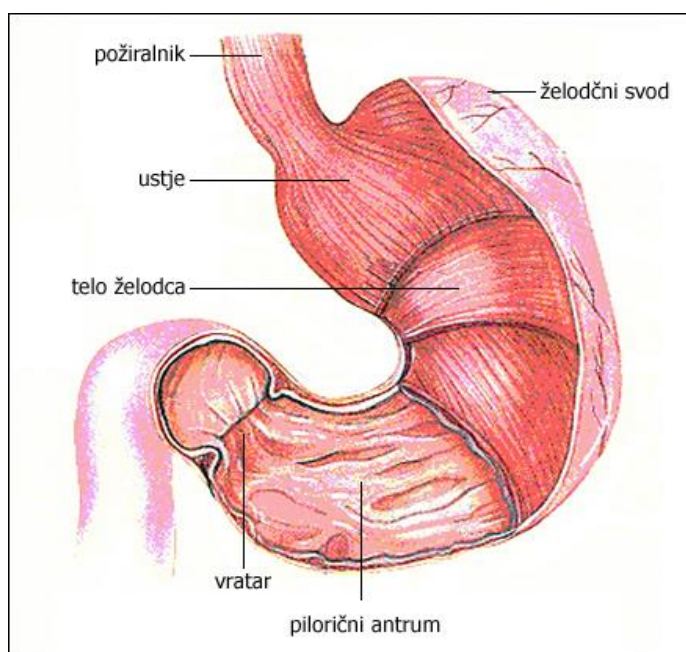
## 1.1 ANATOMIJA IN FIZIOLOGIJA ŽELODCA

Želodec je mobilni, mišični organ, ki sprejema hrano in tekočino iz požiralnika, jo pomeša s prebavnimi sokovi v himus in sprošča v dvanajstnik (1). Želodec leži med jetri in prečnim debelim črevesom pod trebušno prepono (2). Glede na vsebnost hrane in lego telesa se oblika in velikost želodca močno spreminjata (1).

Želodec ima 5 delov:

*Ustje* ali *kardija* je prvi odsek želodca in je najbližje požiralnika.

1. *Želodčni svod* ali *fundus* je zgornji del želodca in je običajno zapolnjen z zrakom.
2. *Telo želodca* ali *korpus* je glavni del želodca.
3. *Antrum* je spodnji del želodca (blizu črevesja). Tu se hrana zmeša z želodčnimi sokovi.
4. *Pilorus* ali *vratar* je zadnji del želodca, ki deluje kot ventil za nadzor praznjenja vsebine želodca v tanko črevo (3,4).



Slika 1: Shematski prikaz zgradbe želodca (povzeto po 5).

Želodec ima veliko in malo krivino. Želodčno steno sestavljajo štiri sloji: mukoza, submukoza, muscularis propria in seroza. Seroza tvori zunanjo plast želodčne sluznice – visceralni peritonej. Mišično steno (muscularis proprio) želodca sestavljajo tri plasti gladkih mišic. Zunanja plast mišic poteka vzdolžno, srednja krožno, notranja plast pa je poševna in ni razvita po vsej površini. Med mišičnim slojem in želodčno mukozo se nahaja submukoza, ki jo sestavlja vezivno tkivo in številne kapilare, vene in mozgovnice (1).

Ko se želodec napolni, se gube mukoze in submukoze vzravnavajo, ko pa je želodec prazen sta mukoza in submukoza nabrani v gube (1).

#### V želodcu najdemo:

- a) Kardijalne žleze – so žleze želodčne sluznice.
- b) Gastrične žleze – ležijo v korpusu in fundusu. Gastrične žleze imajo dva tipa celic:
  - Parietalne celice (izločajo želodčno kislino in intrinzični faktor)
  - Pepsinske celice (izločajo pepsinogen, majhne količine intrinzičnega faktorja in leptin) (1,2).

#### Naloge želodca:

- a) Najpomembnejša naloga je prebava beljakovin.
- b) Sinteza in izločanje gastrina v kri.
- c) Izločanje intrinzičnega faktorja.
- d) Izločanje sluzi, ki zaščiti želodčno sluznico in mehča hrano (2).

Dnevno izloči želodec 1 do 1,5 litra kislega želodčnega soka. Želodčni sok sodeluje v začetnih procesih prebave ali regulaciji delovanja želodca. Izločanje želodčnega soka delimo na:

1. Cefalično obdobje (Sok se izloča pri misli, vonju, pogledu in okusu hrane. Izloča se 15 – 20 % želodčnega soka.)
2. Gastrično obdobje (Izloča se gastrin, ko hrana prispe v pilorični del želodca. Izloči se več kot 50 % želodčnega soka.)
3. Intestinalno obdobje (Prisotnost vsebine v dvanajstniku preko receptorjev pripomore k izločanju 5 % želodčnega soka) (1,2).

## 1.2 BOLEZNI ŽELODCA

### 1.2.1 GASTRITIS

Gastritis je vnetje želodčne sluznice. Lahko je akutni ali kronični (1).

#### *Akutni gastritis*

Je zelo pogosto obolenje. Nastane zaradi delovanja dražečih snovi na želodčno sluznico. Akutni gastritis je posledica stresa, prekomernega uživanja alkohola in jemanja zdravil. Znaki so: slabost, bruhanje, bolečine v želodcu, kolcanje, pomanjkanje teka. Težave običajno minejo v nekaj dneh. Kadar je vzrok poznan je zdravljenje vzročno, sicer pa simptomatsko. Zdravljenje poteka z dieto, pri hujših težavah s spazmolitiki ali antacidi (1).

#### Posebne oblike akutnega gastritisa:

- Kavstični ali korozivni gastritis nastane po zaužitju koncentriranih kislin, ki povzročajo nekrozo sluznice. Zdravljenje poteka kirurško (1).
- Akutni flegmonozni ali supurativni gastritis je zelo redka bakterijska okužba submukoze ali muscularis proprije želodca. Povzročitelji so *Escherichia coli*, alfa stafilokoki in hemolitični streptokok. Pojavi se pri bolnikih z aidsom, po okužbi zgornjih dihal ali pri alkoholikih. Simptomi so bruhanje, hude bolečine v abdomnu, mrzlica. Zdravljenje je subtotalna ali totalna gastrektomija (1).
- Sifilitični in tuberkulozni gastritis sta redka (1).
- Virusne okužbe s klinično sliko akutnega gastritisa se pojavljajo pri bolnikih z moteno imunsko odzivnostjo in sodijo v skupino oportunističnih okužb. Do njih lahko pride pri pacientih z rakom, po transplantacijah in pri okuženih z virusom HIV. Simptomi so slabo počutje in hujšanje, vročina, mrzlica, bruhanje (1).
- Parazitne okužbe - Gastritis je del okužbe celotnih prebavil. Znaki so driska in bolečine v trebuhu (1).

### *Kronični gastritis*

Kronični gastritis je asimptomatska bolezen, ki ga povzroča po Gramu negativna bakterija *Helicobacter pylori*. Lahko je tudi avtoimunskega izvora, kjer bolnik tvori protitelesa proti parietalnim celicam v sluznici želodca telesa (2). Bolezen lahko poteka brez kliničnih znakov, lahko pa se pojavijo značilni simptomi, kot so: občutek polnosti po zaužitju manjšega obroka, zmanjšanje telesne teže, slabost in bruhanje, izguba apetita, krvavo oz. črno obarvano blato, pekoča bolečina v zgornjem delu trebuha (6).

#### Posebne oblike kroničnega gastritisa:

- Refluksni gastritis se pojavi pri delni resekciji želodca ali ob duodenogastričnem refluksu. Če so težave hude je potrebna operacija, saj zdravljenje z zdravili ni uspešno (1).
- Granulomatozni gastritis je redka oblika kroničnega gastritisa. Pojavi se lahko pri tuberkulozi, sifilisu, sarkoidozi in Chronovi bolezni (1).
- Limfocitni gastritis nastane največkrat zaradi celiakije, povzroča pa ga tudi okužba s *Helicobacter pylori* (1).

### 1.2.2 PEPTIČNA RAZJEDA

Ulkus ali peptična razjeda je poškodba stene votlega dela prebavil in je najpogostejša bolezen prebavil. Nesteroidni antirevmatiki in *Helicobacter pylori* sta najpogostejša povzročitelja ulkusa. Kadar agresivno delovanje solne kisline in pepsina prevlada nad obrambo sluznice se pojavi peptična razjeda (7).

#### Znaki peptične razjede so:

- zmanjšan apetit
- bolečina, ki je odsotna ponoči
- bruhanje
- bolečina preneha po obroku hrane
- bolečina v zgornjem desnem predelu trebuha se širi nazaj v hrbet
- nenadna slabost
- izguba telesne teže (7).

Za zdravljenje ulkusa se uporabljajo antibiotiki (če je povzročitelj bakterija) in zdravila, ki zmanjšajo kislost želodčnega soka (zaviralci protonske črpalke, antacidi, ...) (7).

### 1.2.3 RAZJEDA NA ŽELODCU

*Helicobacter pylori* in nesteroidna protivnetna zdravila sta povzročitelja razjede na želodcu, pogosto sta prisotna celo oba dejavnika. Enako pogosta je pri ženskah in moških, najpogostejša je pri starejših ljudeh. Zaradi bolečine, ki se pojavi kmalu po jedi, se bolniki bojijo jesti in posledično hujšajo. Bolezen se lahko ugotovi šele ob nastopu zapletov, saj je večina bolezní asimptomatskih. Za postavitev diagnoze se uporablja endoskopija zgornjih prebavil. Zaradi izključitve rakastega obolenja se mora opraviti tudi biopsija z roba in dna ulkusa. Zdravljenje poteka z dieto, uvedena je parenteralna prehrana. Z infuzijami se nadomesti potreba po tekočini in elektrolitih. Bolečine se blažijo z analgetiki. Zdravljenje poteka tudi z zaviralci protonske črpalke. Iz zaceljene razjede so obvezne kontrolne biopsije (1).

### 1.2.4 STRESNA RAZJEDA

Zaradi stresa lahko nastaneta akutni erozivni gastritis in pravi stresni ulkus. Bolezen se največkrat pojavi pri bolnikih, ki so na intenzivni terapiji. Znak je krvavitev iz prebavil (1).

*Akutni erozivni gastritis* povzroča hemodinamsko nepomembne krvavitve, ki so difuzne po želodcu. Vzrok za nastanek je oslABLJENA obrambna sposobnost sluznice (1).

*Stresni ulkus* povzroča masivne, hemodinamsko pomembne krvavitve. Pojavlja se samo pri bolnikih po nevrokirurških posegih, pri bolnikih s hudimi opeklinami (> 35 % telesne površine) in pri bolnikih s hujšimi poškodbami glave. Zaradi zvišanega intrakranialnega pritiska nastane hipersekrecija HCl, ki je glavni vzrok za nastanek stresnega ulkusa (1).

### 1.2.5 GASTROPATIJE

Gastropatija je izjemno redka bolezen. Pri gastropatijah se v korpusu in redkeje tudi v forniksu pojavijo orjaške sluznične gube. Bolniki lahko hujšajo zaradi izgube beljakovin iz prizadete sluznice, pojavijo se edemi, hipoproteinemija in ascites. Bolezen se zdravi kirurško, diagnozo pa se postavi z rentgensko preiskavo želodca (1).

## 1.2.6 BENIGNI TUMORJI ŽELODCA

Odkriti so naključno pri endoskopiji zaradi drugih vzrokov ali pa, ker se s kolonoskopijo ugotovi kakšen polipozni sindrom. Klinični simptomi so redki (1).

### 1.2.6.1 Polipi v želodcu.

Polipi so lezije, ki se dvigajo nad raven sosednje sluznice.

Polipi so lahko:

1. Sesilni ali širokobazni - to so polipi, ki sedijo na sluznici.
2. Pecljati ali pedunkularni – ti polipi visijo na drbnem peclju.
3. Ploščati ali plazeči – takšni polipi so v ravni sluznice (1).

Polipe se nahajajo:

- Posamično,
- v skupinah (multipli polipi)
- v velikem številu (polipoza) (1).

Nahajajo se samo v zgornjem delu prebavil ali pa so del prirojenih polipoznih sindromov. Diagnoza polipov se postavi histološko (1).

Na histološki ravni se polipi delijo na:

- a) Hiperplastične polipe – to so majhni polipi (< 2 cm v premeru). Predstavljajo 70 – 80 % vseh polipov. Zrastejo lahko kot solitarni ali multipli v katerem koli delu želodca. So popolnoma asimptomatski, najdejo se naključno. Odstranjen polip se histološko pregleda in na podlagi histološkega pregleda se postavi diagnoza (1).
- b) Polipi fundičnih žlez – velikost polipov fundičnih žlez običajno ne presega 10 mm in so praviloma multipli. Nahajajo se v želodčnem fundusu. Obstajata dve vrsti teh polipov: sporadični polipi in polipi, ki so sestavni del polipoznih sindromov. Če se pri bolniku z gastrokopijo najdejo polipi v želodcu, je potrebna še kolonoskopija, da se izloči familiarna adenomatozna polipoza (1).
- c) Adenomi želodca – zrastejo v antrumu želodca in so največkrat posamični. Polip se mora v celoti odstraniti, ker se kancerizacija polipa začneja pri vrhu in se širi navzdol (1).

- d) Hemartomski polipi – so sklop vrojenih gastrointestinalnih polipoz. Odkriti so redko, predstavljajo 1 % vseh polipov v želodcu. Lahko so solitarni ali multipli, pedunkularni ali sesilni. S starostjo bolnikov njihovo število raste in ne alterirajo maligno. Multipli polipi se odstranjujejo operativno, solitarni pa endoskopsko. Povzročajo lahko krvavitve, vendar v večini primerov so asimptomatski (1).

#### 1.2.6.2 Submukozne lezije v želodcu

Submukozni tumorji so leiomiomi. V 97 % so solitarni in najdeni v fundusu želodca. Veliki so od 0,5 do 20 cm. Žilna rast ne sledi rasti tumorja zato proti vrhu nastane umbilikacija, kasneje pa nekroza, ki zakrvavi. Iz tega razloga se več kot polovica leiomiomov klinično pokaže s krvavitvijo iz prebavil. Zdravljenje je operativno (1).

Pankreasne heterotopije. Ektopično pankreasno tkivo vidimo kot pridvignjeno polipoidno tvorbo z vgreznjenim vrhom – navadno v antrumu. Diagnoza se postavi histološko, zdravljenje pa je operativno z odstranitvijo cele ektopije (1).

#### 1.2.7 MALIGNI TUMORJI ŽELODCA

Rak želodca se ponavadi razvija počasi skozi več let (15). Rak želodca je peti najpogostejši rak na svetu. Več kot 70 % novih primerov je iz manj razvitih območij sveta. V Evropi je incidenčna stopnja največja v vzhodnoevropskih državah. Podobno kot drugod, se tudi pri nas incidenca te bolezni manjša: leta 2010 je bil želodčni rak po pogostosti na osmem mestu, do leta 1967 pa je bil celo najpogostejši rak pri nas. V Sloveniji je v obdobju 2006 – 2010 zbolelo v povprečju 464 ljudi, 285 moških in 180 žensk. Bolezen je pogostejša pri starejših. Petletno relativno preživetje vseh zbolelih v obdobju 2001 – 2005 je bilo 26,4 % zbolelih, v obdobju 2006 – 2010 pa 25,5 % (8).

#### Dejavniki tveganja:

Ljudje, ki so izpostavljeni dejavnikom tveganja za nastanek želodčnega raka imajo več možnosti, da se jim ta razvije, vendar pa to ne pomeni, da bodo zagotovo zboleli (9).

Dejavniki tveganja za razvoj želodčnega raka so:

- Starost - večjo verjetnost, da zbolijo imajo starejši ljudje (pacienti, ki jim je diagnoza postavljena so ponavadi stari med 60 in 80 let) (3).
- Spol – rak na želodcu je pogostejši pri moških (3).



- Prehrana – ob uživanju močno slane hrane in hrane, ki vsebuje velike koncentracije nitratov se poveča možnost za nastanek raka. Tudi večje količine dimljene hrane so karcinogene. Možnost nastanka raka zmanjšuje redno uživanje sadja in zelenjave, vitaminov in antioksidantov (1).
- Kajenje – kadilci pogosteje zbolevajo za rakom na želodcu (9).
- Dednost - pri družinski obliki želodčnega raka so imeli želodčnega raka vsaj trije bližnji sorodniki v dveh generacijah, od katerih je bil vsaj eden mlajši od 50 let. Najverjetnejši vzrok družinske oblike želodčnega raka je mikrosatelitna nestabilnost v genomu, ki nastane zaradi okvare sistema, ki popravlja napake med podvajanjem DNA (1).
- Okužba s *Helicobacter pylori* – pacienti okuženi s *Helicobacter pylori* imajo tri do šest krat večje tveganje za nastanek želodčnega raka kot zdravi. Po več letih po okužbi s *Helicobacter pylori*, nastane atrofični gastritis, ki prek intestinalne metaplazije in displazije lahko prehaja v rak, vendar natančen potek kancerogeneze ni poznan (1).
- Drugi zdravstveni dejavniki – bolniki s perniciozno anemijo in atrofičnim gastritisom tipa A (atrofični gastritis fundusa želodca zaradi avtoimunske bolezni) imajo večje tveganje za nastanek raka. Dvajset let po subtotalni gastrektomiji se tveganje za želodčni rak poveča za dvakrat (1).

Bolezen je običajno odkrita v napredovalnem stadiju bolezni, saj so težave neznačilne (1).

#### Simptomi bolezni:

- Slab apetit
- Nenamerno hujšanje
- Bolečina v trebuhu (običajno nad popkom)
- Občutek polnosti v zgornjem delu trebuha po zaužitem majhnem obroku
- Zgaga
- Težave s prebavo
- Slabost
- Bruhanje (z ali brez krvi)
- Otekanje trebuha
- Nizko število rdečih krvnih celic (anemija) (3).

Pri napredovani bolezni je moč zatipati povečano bezgavko levo nad ključnico (Virchowova bezgavka) ali pod levo pazduho (Irishova bezgavka). Tumor je lahko odkrit tudi v epigastriju ali zgornjem delu trebuha (tumor sestre Marije Joseph) ter v mali medenici v predelu jajčnikov (Krukenbergov tumor). Lahko pride do delne ali popolne zapore v danki zaradi peritonealnih zasevkov v mali medenici (Blumerjev znak). Plevralni izliv ali ascites nastaneta zaradi karcinoze plevre ali peritoneja (1).

#### Diagnostične preiskave:

Potrditvena metoda za želodčnega raka je endoskopski pregled in biopsija, ki ima več kot 95 % občutljivost in specifičnost. Pri bolniku, kjer obstaja sum na raka na želodcu, je prva preiskava gastroskopija z biopsijami, saj je rentgenska preiskava s kontrastnim sredstvom manj specifična. Zasevki v regionalnih bezgavkah, jetrni zasevki, ascites in vraščanje raka v sosednje organe se lahko ugotovi z ultrazvočnim pregledom (UZ) trebuha ali z računalniško tomografijo (CT) (1).

Gastroskopija je preiskava z gastroskopom, upogljivo cevjo, sestavljeno iz številnih optičnih vlaken, prek katerih se slika notranjosti želodca prenaša na televizijski ekran in omogoči pregled sluznice želodca. Če so ob gastroskopiji ugotovljene nepravilnosti na sluznici (razjeda ali tumor), se odvzame delček tkiva za preiskavo – to pomeni, da smo opravili biopsijo. Odvzeto tkivo zdravniki patologi pregledajo pod mikroskopom in ugotovijo, ali je sprememba rakava. Velja za najbolj zanesljivo diagnostično preiskavo pri zgodnjem odkrivanju želodčnega raka (1).

#### Najpomembnejši prognostični dejavniki za preživetje so:

- globina tumorske invazije (T)
- prisotnost zasevkov v regionalnih bezgavkah (N) oziroma v oddaljenih organih (M) (1).

Tabela I: T, N, M – klasifikacija in stadiji raka želodca (povzeto po 10).

<b>T</b>	<b>Primarni tumor</b>
T1	Tumor je omejen na mukozo ali submukozo
T2 a	Tumor vrašča v mišično tkivo

T2 b	Tumor vrašča v subserozno plast		
T3	Tumor prerašča serozo (visceralni peritonej)		
T4	Tumor raste v sosednje organe		
<b>N</b>	<b>Področne bezgavke</b>		
Nx	Bezgavke niso določljive		
N0	Brez pozitivnih bezgavk		
N1	Zasevki v 1 – 6 področnih bezgavkah		
N2	Zasevki v 7 – 15 področnih bezgavkah		
N3	Zasevki v > 15 področnih bezgavkah		
<b>M</b>	<b>Oddaljeni zasevki</b>		
Mx	Metastaze niso določljive		
M0	Brez oddaljenih metastaz		
M1	Prisotne oddaljene metastaze		
<b>Stadiji</b>			
Stadij 0	Tis	N0	M0
Stadij I A	T1	N0	M0
Stadij I B	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Stadij II	T2a/b	N0	M0
	T1	N2	M0
	T2a/b	N1	M0
Stadij III A	T3	N0	M0
	T2a/b	N2	M0
	T3	N1	M0
Stadij III B	T4	N0	M0
	T3	N2	M0
Stadij IV	T4	N1-3	M0
	T1-3	N3	M0
	Tx	Nx	M1

Pri napredovalnem raku želodca sta pri več kot polovici bolnikov zvišani serumski koncentraciji karcinoembrioničnega (CEA) in karcinomskega (CA 19-9) antigena (1).

### 1.3 TUMORSKI OZNAČEVALCI

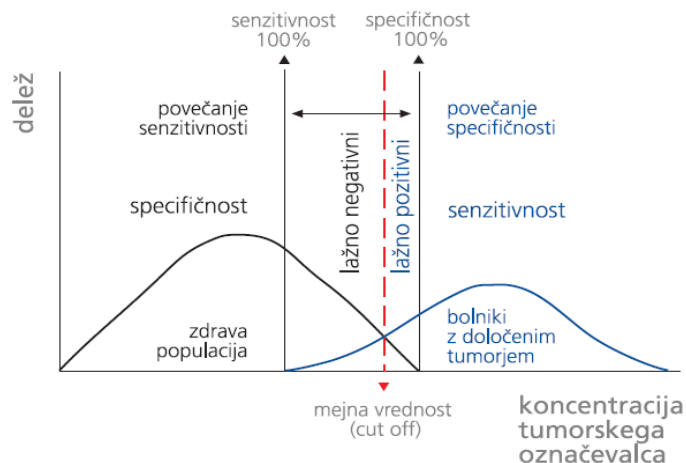
Tumorski označevalci (TO) so snovi, ki nastajajo v tumorskih celicah ali pod vplivom tumorskih celic. Dokazani so lahko v telesnih tekočinah ali tkivih bolnikov z rakom. Kot tumorski označevalci se lahko pojavljajo: membranski antigeni, hormoni, encimi, poliamini, nukleozidi, produkti onkogenov, produkti tumorskih supresorskih genov, podatki o DNA – ploidnosti celic (10).

Za določanje TO je potrebna visoko občutljiva (senzitivna) metoda, saj se TO v telesnih tekočinah nahajajo v nizkih koncentracijah. Specifičnost metode pa je odvisna od specifičnosti protiteles za posamezen tumorski označevalec ter od kvalitete protiteles (11).

Senzitivnost označevalca pove, pri kolikšnem deležu bolnikov z določenim tumorjem je serumski (urinski, plazemski, likvorski) nivo označevalca povišan. Čim več je bolnikov z istovrstnim tumorjem, pri katerih je nivo povišan, tem bolj senzitiven je označevalec in pričakujemo minimalno število lažno negativnih določitev (10).

Specifičnost predstavlja delež preiskovancev, ki nimajo določene maligne bolezni in imajo normalen nivo označevalca. To pomeni, da je označevalec tem bolj specifičen, čim manjkrat je prisoten pri ljudeh brez določene vrste tumorja oz. čim manj je lažno pozitivnih določitev (10).

Idealnega tumorskega označevalca, ki naj bi bil 100 – odstotno senzitiven in specifičen za vrsto maligne bolezni in bi bila njegova referenčna vrednost 0, ni. Referenčna vrednost je vedno večja od 0, saj so TO snovi, ki so tudi prisotne tudi v drugih celicah. Referenčna vrednost se mora postaviti tako, da je čim manj lažno pozitivnih in čim manj lažno negativnih določitev (11).



Slika 2: Vrednotenje specifičnosti in senzitivnosti TO (povzeto po 11)

#### Uporaba tumorskih označevalcev:

- za napoved prognoze bolezni,
- kot pomoč pri postavljanju diagnoze,
- zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni,
- za napoved odgovora na zdravljenje,
- spremljanje odgovora na zdravljenje,
- spremljanje razširjenosti bolezni in
- kot presejalno metodo pri nekaterih vrstah raka (10).

Priporočljivo je večkratno določanje označevalcev ter spremljanje gibanja serumskih koncentracij, saj se pojavljajo razlike v vsebnosti posameznih označevalcev v serumu. Vrednosti se morajo spremljati daljši čas tudi po končanem zdravljenju, najboljše ob rednih polletnih ali letnih kontrolnih pregledih. Tako se najlažje tudi pri bolnikih brez kliničnih znakov bolezni pravočasno odkrije ponovitev bolezni (10).

Nivo tumorskih označevalcev bi se vsakemu bolniku moralo določiti:

- pred začetkom zdravljenja,
- nekajkrat med zdravljenjem (odvisno od načina zdravljenja, vrste maligne bolezni ter od vrste označevalca, ki ga spremljamo) ter
- po končanem zdravljenju (10).

Razdelitev TO je lahko glede na: kemično strukturo, mesto nastanka, vrsto tumorskih bolezni, pri katerih naj bi jih določali in drugo. Največkrat uporabljena razdelitev poskuša strniti biokemične lastnosti, mesto nastanka ter funkcionalnost.

Po tej razdelitvi ločimo:

- *Onkofetalni proteini* – so antigeni, ki normalno nastajajo med embrionalnim razvojem. Pri odraslih je njihova tvorba omejena ali zaustavljena. Povečane koncentracije teh antigenov pri odraslih so posledica ponovne aktivacije nekaterih genov, ki nadzorujejo rast celic in so neposredno v povezavi z malignim procesom. Tipična predstavnika sta karcinoembrionalni antigen (CEA) – (opisan v poglavju 1.3.1. ) in alfa – fetoprotein (11).
- *Hormoni* – maligne tvorbe lahko sprožijo kvantitativne ali kvalitativne spremembe v sintezi in izločanju različnih hormonov. Kvantitativne spremembe so takrat, ko se tumorji razvijejo v tkivu endokrinih žlez in se zaradi maligne transformacije celic produkcija hormona poveča ali zmanjša. V to skupino se uvrščajo hormoni malignih endokrinih tumorjev, kot so parathormon, insulin, prolaktin in drugi. Kvalitativne spremembe pa nastanejo takrat, ko maligno transformirane celice nekaterih organov (pljuča, dojka, želodec, centralno živčevje, jajčniki) začnejo tvoriti hormone – to je tako imenovana ektopična tvorba hormonov. Od vseh hormonov se je kot tumorski označevalec najbolj uveljavil horiogonadotropin (11).
- *Encimi* – kot tumorski označevalci lahko služijo tudi nekateri encimi, katerih povečana tvorba je rezultat malignega procesa v organizmu. Sem spadajo alkalna fosfataza, nevronska specifična enolaza (11).
- *Tumor spremljajoči antigeni* – so heterogena skupina označevalcev, ki zajema različne membranske strukture tumorskih celic. Sodobna tehnologija izkorišča možnost tvorbe specifičnih monoklonskih protiteles proti določeni antigenski strukturi, ki je najbolj značilna za določene tumorske celice. Zato so označevalci v tej skupini bolj specifični za določeno vrsto malignega tumorja kot ostali in pogosto njihove serumske koncentracije bolj natančno odražajo rast ali zmanjševanje tumorske mase. Ker pa se danes še vedno ne pozna antigenske strukture, ki bi bila strogo specifična samo za rakave celice, so tudi ti označevalci pogosto prisotni v zdravem tkivu kot tudi pri nemalighnih boleznih. Pri bolnikih z rakom pa so serumske koncentracije teh označevalcev statistično značilno višje, kot pri zdravih

odraslih in bolnikih z nemalignimi obolenji. Sem spada karcinomski antigen 19-9 (CA 19-9) – (opisan v poglavju 1.3.2. ), karcinomski antigen 125, prostatični specifični antigen (11).

- *Posebni serumski proteini* – v to skupino spadajo različni proteini. Med najbolj znanimi je feritin (11).
- *Skupina različnih tumorskih označevalcev* – to je heterogena skupina označevalcev, ki niso specifični za posamezne tumorje, ampak na splošno nakazujejo možnost maligne bolezni. V to skupino spadajo poliamini, nukleozidi in tkivni polipeptidni antigen (11).

#### Zdravljenje:

Zdravljenje raka želodca je lahko:

- a) Lokalno (sem spadata operacija in obsevanje).
- b) Sistemsko (zdravljenje s kemoterapijo (citostatiki) in tarčnimi zdravili).
- c) Kombinacija lokalnega in sistemskega zdravljenja (9).

#### Spremljanje bolnikov po končanem zdravljenju:

Po zaključenem zdravljenju je potrebno bolnike spremljati še 5 let. V 80 - ih odstotkih se bolezen ponovi v prvih dveh letih po končanem zdravljenju, zato se bolnike v tem obdobju kontrolira na 3 mesece s kliničnim pregledom, osnovnimi krvnimi preiskavami in tumorskima označevalcema CEA in CA 19-9. Enkrat letno opravijo UZ ali CT trebuha in RTG pljuč in endoskopski pregled zgornjih prebavil. Po dveh letih sledenja se interval med kontrolami podaljša na 6 mesecev, po petih letih pa sledenje bolnika prevzame osebni zdravnik (10).

### 1.3.1 KARCINOEMBRIONALNI ANTIGEN (CEA)

CEA je eden najdlje znanih tumorskih označevalcev. Je glikoprotein, prvič izoliran iz ekstrakta tkiva črevesnega adenokarcinoma. Njegova molska masa je okrog 180 kDa. Nastaja v epitelijskih celicah gastrointestinalnega trakta, jeter in trebušne slinavke, med embrionalnim razvojem. Takoj po odkritju so menili, da gre za idealen tumorski označevalec za raka debelega črevesa in danke, vendar se je hitro izkazalo, da je CEA prisoten tudi v nekaterih zdravih tkivih odraslih, npr. v črevesni sluznici, v bolezensko spremenjenih tkivih nerakastega izvora in v tkivih drugih rakastih tumorjev (12).

Povečane serumske koncentracije CEA najdemo tudi pri:

- Nerakastih obolenjih (pri hudih kadilcih, bolnikih z bronhitisom, gastritisom, duodenalnim ulkusom, jetrnimi okvarami, pankreatitisom).
- Drugih rakastih obolenjih (pri raku trebušne slinavke, pljuč, dojke, želodca, ščitnice, jeter, mehurja, jajčnikov in endometrija) (12).

Orientacijske referenčne vrednosti: 3 µg/l (koncentracije od 4 do 10 µg/l imajo bolniki z rakastimi in nerakastimi boleznimi ter celo nekateri hudi kadilci, medtem ko so koncentracije nad 10 µg/l bolj kazalnik rakastega procesa) (12).

Biološka razpolovna doba – to je čas, v katerem prvotna koncentracija TO v serumu pade na polovico: 10 – 14 dni (11).

Spremljanje CEA:

- Pred operacijo: vrednosti serumskih koncentracij CEA med 4 in 10 ng/ml so lahko posledica malignih bolezni, benigne bolezni ali kajenja; vrednosti > 10 ng/ml so pri večini posledica malignega procesa.
- 6 tednov po operaciji: popolna odstranitev tumorja brez zasevkov se odraža s serumskimi koncentracijami CEA pod zgornjo normalno vrednostjo.
- Vsake 3 mesece: 50 % povišanje CEA nad zgornjo normalno vrednost je ponavadi znak za ponovitev bolezni (tudi več mesecev pred kliničnimi znaki ponovitve) (11).

### 1.3.2 KARCINOMSKI ANTIGEN 19-9 (CA 19-9)

CA 19-9 je spremenjen Lewisov hapten iz sistema krvnih skupin. Monoklonska protitelesa proti tej mucinski antigenski determinanti reagirajo navzkrižno z različnimi mucinskimi molekulami, vendar samo pri osebah, ki imajo aktiven Lewis (Le<sup>a</sup>) gen. Pri osebah, pri katerih je ta gen neaktiven in so Le<sup>(a-b-)</sup>, se ta antigenska determinanta sploh ne tvori in označevalec ni uporaben za spremljanje bolezni. Povečan je v serumu bolnikov z gastrointestinalnimi tumorji (11).



Povečane serumske koncentracije CA 19-9 najdemo tudi pri:

- Zdravih ljudi (v semenski tekočini, želodčnem soku, amnijski tekočini ter izločkih trebušne slinavke in dvanajstnika)
- Drugih rakastih obolenjih (pri raku trebušne slinavke in jeter, raku debelega črevesa, danke, želodca in jajčnikov) (11).

Orientacijske referenčne vrednosti: do 37 kU/L (13).

Biološka razpolovna doba – to je čas, v katerem prvotna koncentracija TO v serumu pade na polovico: 4 - 6 dni (11).

Spremljanje CA 19-9:

- CA 19-9 se določa pred zdravljenjem, med zdravljenjem, ob rednih kontrolah po končanem zdravljenju.
- Serumske koncentracije dobro sledijo kliničnemu odgovoru na terapijo.
- Z določanjem CA 19-9 in CEA skupaj se lahko izboljša zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni: do 90 % bolnikov (z rakom na prebavilih) ima povišane serumske koncentracije enega in/ali drugega označevalca že nekaj mesecev pred kliničnimi znaki ponovitve bolezni (11).

## 2 NAMEN DELA

Rak želodca je maligni tumor, ki običajno vznikne v želodčni sluznici, lahko pa tudi iz žleznih ali limfatičnih celic v steni želodca. Znaki raka na želodcu so neznačilni ali pa se pojavijo razmeroma pozno, ko je bolezen že razširjena. Zdravljenje bolnikov z rakom na želodcu poteka z operacijo, kemoterapijo in obsevanjem.

Tumorski označevalci so snovi, ki nastajajo v tumorskih celicah ali snovi, ki so nastale v drugih celicah pod vplivom delovanja tumorskih celic. Določamo jih lahko v telesnih tekočinah.

Karcinoembrionalni antigen CEA je onkofetalni protein, ki normalno nastaja med embrionalnim razvojem. Pri odraslih se nahaja v zelo nizkih koncentracijah, pri rakastih obolenjih pa se izloča v visokih koncentracijah, nad 3  $\mu\text{g/L}$ .

Karcinomaški antigen CA 19 – 9 je tumor spremljajoči antigen in je povečan v serumu bolnikov z gastrointestinalnimi tumorji. Pri bolnikih z rakom so vrednosti karcinomaškega antigena CA 19 – 9 statistično značilno višje (nad 37kU/L), kot pri zdravih ljudeh in bolnikih z nemalignimi obolenji.

V letu 2012 so na Kliniki za gastroenterologijo Ljubljana zbrali 42 pacientov, ki so bili obravnavani po protokolu za obravnavo bolnikov z rakom. Diagnoza je bila potrjena pri 14 – ih pacientih, pri 27 – ih pacientih pa rak na želodcu ni bil diagnosticiran.

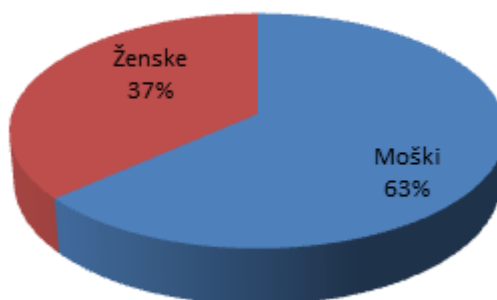
V diplomski nalogi bomo določili diagnostično uporabnost tumorskih označevalcev CEA in CA 19-9. Naše delo bo vključevalo:

- V serumih bolnikov bomo s kemiluminiscenčno imunološko metodo izmerili koncentracije CEA in CA 19-9.
- Paciente bomo razdelili v dve skupini. V eni skupini bodo pacienti z potrjenim rakom na želodcu, v drugi pa pacienti brez diagnosticiranega raka. S statističnimi analizami bomo primerjali vrednosti koncentracije CEA in CA 19-9 med skupinama.
- Iz izmerjenih koncentracij CEA in CA 19-9 v celotni skupini preiskovancev bomo določili klinično uporabnost CEA in CA 19-9 z izračunom specifičnosti in občutljivosti.

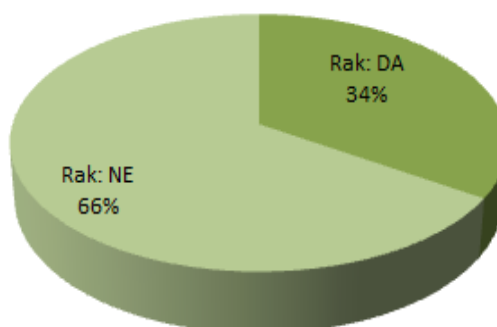
### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 OPIS SKUPINE PREISKOVANCEV

Skupno smo analizirali 41 preiskovancev, med katerimi je bilo 26 moških (63 %) in 15 žensk (37 %). Preiskovance smo razdelili v dve skupini. V prvo skupino smo uvrstili 14 pacientov, ki so jim po protokolu za obravnavo bolnikov z rakom diagnosticirali raka na želodcu, s povprečno starostjo 69 let. Od tega je bil najmlajši preiskovanec star 46 let, najstarejši pa 78 let. V drugo skupino smo uvrstili 27 pacientov, ki raka na želodcu niso imeli potrjenega. To skupino smo uporabili kot kontrolno skupino. V kontrolni skupini je bila povprečna starost preiskovancev 75 let. Najstarejši preiskovanec je bil star 91 let, najmlajši pa 48 let. Vzorci so bili odvzeti leta 2012 na Kliniki za gastroenterologijo Ljubljana.



Slika 3: Delež moških in žensk v skupini preiskovancev



Slika 4: Delež obolelih za rakom in kontrolne skupine

## 3.2 DOLOČANJE CEA IN CA 19-9

### 3.2.1 PRINCIP METODE

#### a) CEA

Princip določanja CEA je avtomatizirana imunokemijska metoda, ki se izvaja v dveh korakih za določanje prisotnosti CEA v serumu ali plazmi, z uporabo kemiluminiscentne imunološke metode z uporabo mikrodelcev (CMIA) (14).

V prvem koraku združimo vzorec in anti – CEA obložene paramagnetne delce. CEA prisoten v vzorcu se veže na anti – CEA prevlečene mikrodelce. Sledi spiranje, kjer odstranimo vse nevezane snovi. Nato dodamo anti – CEA akridinijev konjugat. K reakcijski zmesi dodamo še pedsprožilno in sprožilno raztopino (14).

V drugem delu reakcije predhodni sprožilec sprosti vezan akridinij iz trdne faze v raztopino. Magnet potegne paramagnetne delce na steno reakcijske posode, da se prepreči mešanje mikrodelcev v postopek svetlobnega sproščanja. Nato k raztopini dodamo sprožilec, da zagotovimo alkalne pogoje za nastanek svetlobe. Označen akridinij se sprosti v raztopino in nastane svetlobni signal, ki ga merimo kot relativno svetlobno enoto (RLU) (7).

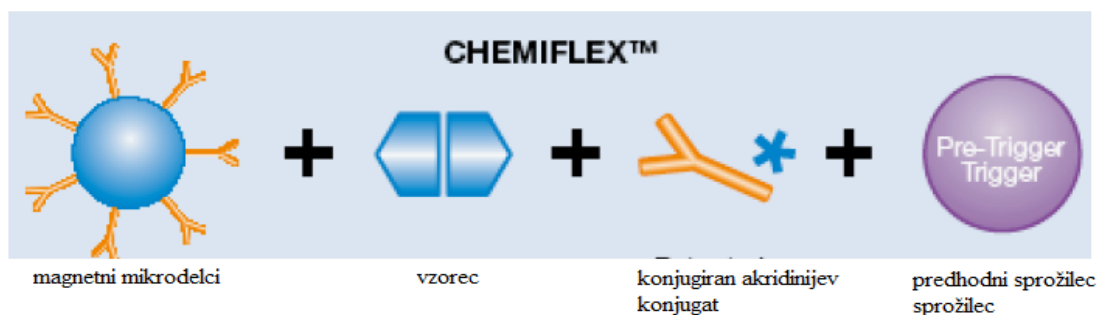
#### b) CA 19-9

Določanje CA 19-9 je imunokemijski test, ki se izvaja v dveh korakih za kvantitativno določanje 1116-NS-19-9 reaktivne determinante v človeški plazmi z uporabo CMIA (kemiluminiscenčna imunološka metoda z uporabo mikrodelcev) (16).

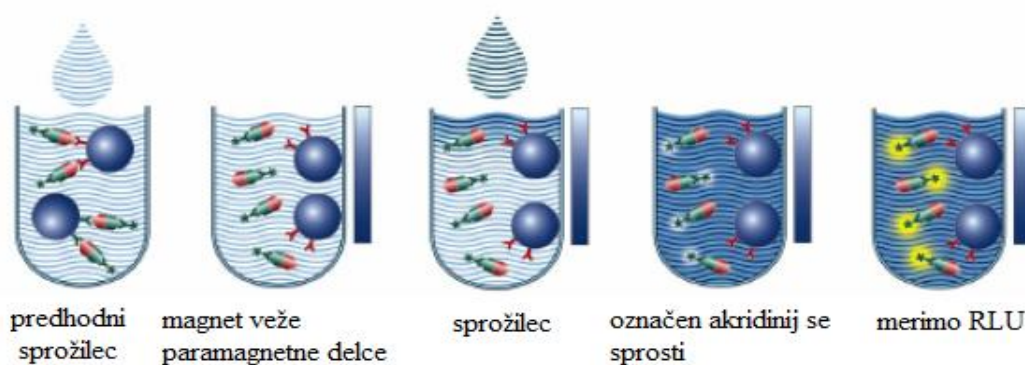
V prvem delu reakcije združimo vzorec in z 1116-NS-19-9 prevlečene paramagnetne delce. V vzorcu prisotne reaktivne determinante 1116-NS-19-9 se vežejo na 1116-NS-19-9 prevlečene mikrodelce. Sledi spiranje, nato pa dodamo 1116-NS-19-9 akridinijev konjugat. K reakcijski zmesi dodamo še pedsprožilno in sprožilno raztopino (shematski prikaz na sliki 5) (16).

V drugem delu reakcije predhodni sprožilec sprosti vezan akridinij iz trdne faze v raztopino. Magnet potegne paramagnetne delce na steno reakcijske posode, da se prepreči mešanje mikrodelcev v postopek svetlobnega sproščanja. Nato k raztopini dodamo sprožilec, da zagotovimo alkalne pogoje za nastanek svetlobe. Označen akridinij se sprosti v raztopino in

nastane svetlobni signal, ki ga merimo kot relativno svetlobno enoto (RLU) (shematski prikaz na sliki 6) (7).



Slika 5: Prvi del reakcije pri CMIA metodi (povzeto po 7)



Slika 6: Drugi del reakcije pri CMIA metodi (povzeto po 7)

### 3.2.2 OPREMA IN INSTRUMENTI

Za izvedbo postopka uporabljamo analizator Architect proizvajalca Abbott in standardno laboratorijsko opremo (15).

### 3.2.3 REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE

#### a) CEA

Reagent: Reagent kit CEA (ref. 7K68) proizvajalca Abbott

Kalibrator: Calibrator CEA (ref. 7K68-02) proizvajalca Abbott

Kontrolni material: Multichem IA plus (ref. 05P76-10) proizvajalca Technopath (15).

b) **CA 19-9**

Reagent: Reagent kit CA 19-9 (ref. 2K91-20) proizvajalca Abbott.

Kalibrator: Calibrator CA 19-9 (ref. 2K91-01) proizvajalca Abbott.

Kontrolni material: Multichem IA plus (ref. 05P76-10) proizvajalca Technopath (13).

### 3.2.4 KALIBRACIJA

Kalibracijo izvajamo ob zamenjavi serije reagentov, po tistih servisnih posegih, ki bi lahko spremenili pogoje za izvedbo analize in kadar je to potrebno zaradi neustreznih rezultatov kontrolnih materialov (15).

### 3.2.5 DELOVNI POSTOPEK

Priprava reagentov:

- Reagent z magnetnimi delci moramo pred postavitvijo na analizator pazljivo premešati, da se usedlina suspendira. Steklenico reagenta moramo obrniti 30-krat. Nato vizualno pregledamo reagent in če so mikrodenci še vedno prilepljeni na steklenici jo moramo obračati toliko časa, da se mikrodenci resuspendirajo v celoti.
- Reagente iz kompleta postavimo na ustrezna mesta v stojala.
- Reagente odpremo, namestimo pregrade in stojala vložimo v analizator. V izogib kontaminaciji je potrebno nositi čiste rokavice pri dodajanju pregrade na odprte steklenice z reagenti. Septume (pregrade) uporabljamo, da se prepreči izhlapevanje in kontaminacija reagentov (14).

Potek analize:

Ko pritisnemo na aparatu RUN sistem Arcitect opravlja naslednje funkcije:

1. Premakne vzorce v aspiracijske točke.
2. Naloži reakcijsko posodo v procesno pot.
3. Posrka in prenese vzorec v reakcijsko posodo.
4. Prenša mikrodence v reakcijsko posodo.
5. Miksa, inkubira in opere reakcijske zmesi.
6. Doda konjugate v reakcijsko posodo.

7. Miksa, inkubira in opere reakcijske zmesi.
8. Doda pred-sprožilno in sprožilno raztopino.
9. Meri kemiluminiscenčno emisijo za določitev koncentracije CEA v vzorcu.
10. Posrka vsebino reakcijske zmesi v posodo za tekoče odpadke.
11. Izračuna rezultat (14).

### 3.2.6 PODAJANJE REZULTATOV

#### a) CEA

Rezultate podajamo v  $\mu\text{g/L}$ .

Orientacijske referenčne vrednosti za CEA: do 4,2  $\mu\text{g/L}$  (15).

#### b) CA 19-9

Rezultate podajamo v kU/L.

Vrednosti, ki so nižje od 2,0 kU/L, podamo kot »< 2,0 kU/L«.

Orientacijske referenčne vrednosti za CA 19-9: do 37,0 kU/L (13).

### 3.2.7 VREDNOTENJE REZULTATOV

S statističnim programom SPSS smo preverili ali se izmerjeni rezultati razporejajo normalno (po Gaussovi krivulji). Za pridobitev podatkov smo uporabili Kolmogorov – Smirnov test. Če je p-vrednost več kot 0,05 se smatra, da je porazdelitev normalna. Če je p-vrednost manj kot 0,05 potem distribucija ni normalna. Če je porazdelitev normalna za statistično primerjavo uporabimo t-test za parametrične porazdelitve, če pa porazdelitev ni normalna pa uporabimo Mann – Whitney neparametričen test.

T-test smo uporabili, ker želimo preveriti razlike v povprečjih, med dvema neodvisnima skupinama, ker je odvisna spremenljivka na intervalnem ali razmernostnem nivoju in ker je porazdelitev podatkov normalna.

Neparametričen Mann-Whitneyev U test za neodvisne vzorce uporabljamo kadar želimo preveriti razlike v povprečjih med dvema skupinama in ker je odvisna spremenljivka na ordinalnem nivoju ali ker porazdelitev podatkov ni normalna. Tukaj preverjamo statistično pomembne razlike v povprečnih rangih pri izbranih spremenljivkah. Izračunali smo

povprečne range glede na drugo spremenljivko (neodvisno), ki izbrane spremenljivke deli. Vidimo, da se razlike v povprečnih rangih pojavljajo.

Specifičnost in občutljivost izračunamo po spodnji tabeli in s pomočjo ROC krivulje.

Tabela II: Tabela za izračun specifičnosti in občutljivosti

	tumorski označevalec povišan	tumorski označevalec - normalne vrednosti
število bolnikov z določeno vrsto maligne bolezni	A	B
število ljudi brez določene vrste maligne bolezni	C	D

Občutljivost :  $A / A + B$

Specifičnost:  $D / D + C$

ROC krivulja oceni primernost diagnostičnega testa - kako specifičen in občutljiv je. Dobimo izrisan graf in tabelo, kjer sta najpomembnejša podatka p-vrednost in Area vrednost. P-vrednost nam pove ali je ROC krivulja statistično pomembna, Area pa kako točen je diagnostični test - vrednoti se po spodnji tabeli.

Tabela III: Vrednotenje vrednosti AREA

Area	Primernost (specifičnost in občutljivost):
$\geq 0.9$	Odlična
$0.8 \leq \alpha < 0.9$	Dobra
$0.7 \leq \alpha < 0.8$	Sprejemljiva
$0.6 \leq \alpha < 0.7$	Slaba
$\alpha < 0.6$	Nesprejemljiva



## 4 REZULTATI

Za namen diplomske naloge smo uporabili izmerjene vrednosti CEA in CA 19-9 od 41 preiskovancev. Od tega je bilo 26 moških in 15 žensk. Najstarejši je bil star 91 let, najmlajši pa 46 let.

Tabela IVV: Izmerjene vrednosti CEA in CA 19 – 9 pri preiskovancih, vključenih v diplomsko nalogo

Zap. št.	Letnica rojstva	Spol	Datum odvzema	CEA [µg/L]	CA 19-9 [kU/L]	POTRJEN RAK ŽELODCA
1.	1962	Ž	5.12.2012	0,5	2	NE
2.	1935	M	6.1.2012	7,5	101,8	DA
3.	1946	Ž	5.9.2012	46,3	22,6	DA
4.	1921	Ž	13.9.2012	1,1	4,4	NE
5.	1930	M	29.10.2012	1,9	8,2	NE
6.	1939	Ž	27.7.2012	6,9	129,8	NE
7.	1934	M	1.3.2012	276,2	1184,4	DA
8.	1935	Ž	20.4.2012	33,7	3284,3	DA
9.	1950	M	28.11.2012	6,1	198,3	DA
10.	1934	M	28.2.2012	0,5	2	NE
11.	1935	M	16.2.2012	9,8	8,1	DA
12.	1945	M	27.6.2012	0,7	3,2	NE
13.	1939	Ž	19.6.2012	7,1	100,4	NE
14.	1950	M	12.11.2012	0,7	17,5	NE
15.	1947	M	6.12.2012	9,8	12,5	DA
16.	1933	Ž	23.11.2012	5,3	2,6	NE
17.	1949	M	12.12.2012	2	15,4	NE
18.	1930	Ž	8.8.2012	3,3	61,9	NE
19.	1928	M	8.7.2012	1,7	5	NE
20.	1935	Ž	19.4.2012	0,8	2	NE
21.	1923	M	18.7.2012	2,8	2	NE
22.	1935	M	3.12.2012	2,2	46	NE
23.	1949	M	28.3.2012	2	35,8	NE
24.	1947	M	26.9.2012	31,9	46354,8	DA
25.	1931	M	16.5.2012	1	28,2	NE
26.	1950	M	6.12.2012	170,3	10,5	DA
27.	1936	Ž	14.2.2012	1,1	61,6	NE
28.	1931	Ž	16.10.2012	1,5	5,2	NE

29.	1933	M	13.12.2012	1,3	2	NE
30.	1964	M	28.6.2012	2,2	20,1	NE
31.	1940	M	26.1.2012	2,3	23,8	NE
32.	1966	Ž	16.8.2012	3,5	28,1	DA
33.	1939	M	19.9.2012	3,2	8,5	DA
34.	1937	Ž	16.10.2012	5,9	2	DA
35.	1929	M	27.6.2012	9	11,9	NE
36.	1935	M	14.3.2012	4,8	8,9	NE
37.	1939	M	3.5.2012	1,4	17,5	NE
38.	1938	M	20.2.2012	0,9	2	NE
39.	1949	Ž	23.7.2012	3,6	5,9	DA
40.	1940	M	2.10.2012	14	14,1	DA
41.	1931	Ž	10.12.2012	0,7	6,8	NE

## 4.1 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

### 4.1.1 KOLMOGOROV – SMIRNOV TEST

Tabela V: Izračunane vrednosti Kolmogorov – Smirnov testa za CEA in CA 19-9

	CEA	CA 19-9
<b>Kolmogorov-Smirnov Z</b>	1,020	2,362
<b>Asimp. p-vrednost (2-stranska)</b>	,249	,000

Spremenljivka, ki deli odvisno: rak

Iz rezultatov Kolmogorov – Smirnov testa vidimo da so podatki normalno porazdeljeni pri CEA in CA 19-9 pa ne. Zaradi normalne porazdelitve rezultatov smo se pri CEA odločili za t-test, pri CA 19-9 pa bomo zaradi nenormalne porazdelitve rezultatov uporabili Mann – Whitney test.

### 4.1.2 T – TEST ZA CEA

Za analizo spremenljivk CEA smo uporabili T-test..

Opisna statistika nam pove kakšne so razlike v povprečjih. Povprečje vrednosti CEA pri pacientih, ki imajo potrjen rak na želodcu je 44,41, povprečje pri pacientih brez raka pa 2,43.

Tabela VI: Opisna statistika za CEA pri bolnikih s potrjenim rakom na želodcu in kontrolni skupini

<b>Rak</b>	<b>Število preiskovancev</b>	<b>Povprečje CEA [μg/L]</b>	<b>Standardni odklon</b>	<b>Standardna napaka</b>
<b>CEA Da</b>	14	44,41	79,67	21,29
<b>CEA Ne</b>	27	2,43	2,25	0,43

Standardni odklon pri potrjenem raku na želodcu je 79,67, pri bolnikih brez raka pa 2,25. Standardna napaka pri bolnikih z rakom je 21,29, pri bolnikih brez raka pa 0,43. S temi podatki vidimo, da je razpršenost podatkov zelo velika.

Nadalje smo preverjali statistično pomembne razlike v povprečjih pri izbranih spremenljivkah. Izračunali smo povprečja glede na drugo spremenljivko (neodvisno- kar je v našem primeru rak), ki izbrane spremenljivke deli. Vidimo da se razlike v povprečjih pojavljajo. S parametričnim t-testom smo preverili ali so te razlike statistično pomembne.

Tabela VIII: T-test za neodvisne vzorce

		<b>Levenov test enakosti varianc</b>		<b>t-test enakosti povprečij</b>		
		<b>F</b>	<b>p-vrednost</b>	<b>t</b>	<b>df</b>	<b>p-vrednost (2-stranska)</b>
<b>CEA</b>	<b>Predvidene enake variance</b>	19,478	,000	2,769	39	,009
	<b>Predvidene neenake variance</b>			1,971	13,011	,070

Če je p-vrednost več kot 0,05 potem ne moremo trditi, da obstajajo statistično pomembne razlike med skupinama glede na izbrano spremenljivko. Če pa je manj kot 0,05 potem pa statistično pomembne razlike obstajajo na nivoju 0,05. T je vrednost samega testa, df pa so stopnje prostosti. Ta dva parametra se uporabljata za izračun p-vrednosti. Kot vidimo je p-vrednost nad 0,05 ( $p=0,070$ ), zato lahko trdimo, da ni statistično pomembnih razlik v povprečjih med tistimi, ki imajo rak in tistimi, ki ga nimajo.

## 4.1.3 MANN - WHITNEYEV U TEST ZA CA 19-9

Tabela VIII: Opisna statistika za CA 19-9 pri kontrolni skupini in preiskovancih s potrjenim rakom na želodcu

<b>Rak</b>	<b>Število preiskovancev</b>	<b>Mediana CA 19-9 [kU/L]</b>	<b>Interkvartilni razpon</b>
<b>Da</b>	14	18,35	436,43
<b>Ne</b>	27	8,90	25,60
<b>Skupaj</b>	41	12,50	36,20

Povprečje vrednosti CA 19-9 pri pacientih, ki imajo potrjen rak na želodcu je 18,35, povprečje pri pacientih brez raka pa 8,90. Interkvartilni razpon pri potrjenem raku na želodcu je 436,43, pri bolnikih brez raka pa 25,60.

Mann – Whitneyev u test nam pove, da če je p-vrednost več kot 0,05 potem ne moremo trditi, da obstajajo statistično pomembne razlike med skupinama glede na izbrano spremenljivko. Če pa je manj kot 0,05 potem pa statistično pomembne razlike obstajajo na nivoju 0,05.

Tabela IX: Vrednosti Mann – Whitney U test- a za CA 19-9

	<b>CA 19-9</b>
<b>Mann-Whitney U</b>	122,000
<b>Asimp. p-vrednost (2-stranska)</b>	,065

Spremenljivka, ki deli odvisno: rak

Kot je razvidno iz tabele VII, se statistično pomembne razlike med tistimi, ki raka imajo in tistimi, ki ga nimajo, ne pojavljajo ( $p = 0,065$ ).

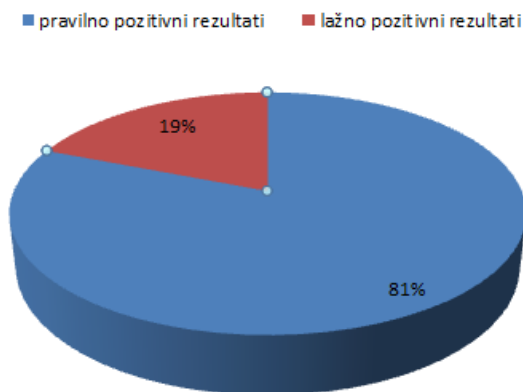
## 4.2 SPECIFIČNOST IN OBČUTLJIVOST

### 4.2.1 IZRAČUN SPECIFIČNOSTI IN OBČUTLJIVOSTI ZA CEA

Tabela VIII: Specifičnost in občutljivost za CEA

	tumorski označevalec povišan	tumorski označevalec - normalne vrednosti
število bolnikov z določeno vrsto maligne bolezni	11 (A)	3 (B)
število ljudi brez določene vrste maligne bolezni	5 (C)	22 (D)

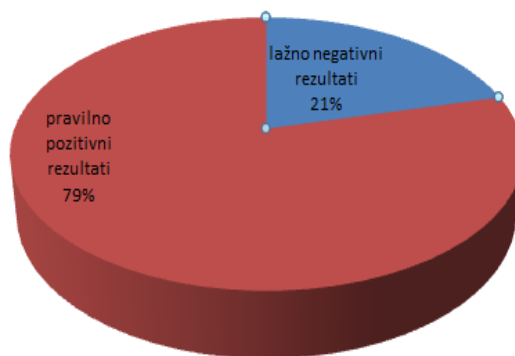
Specifičnost:  $D / C + D = 22 / 5 + 22 = 0,81 \times 100 = 81 \%$



Slika 7: Graf specifičnosti CEA

V naši raziskavi je specifičnost CEA 81 % za raka na želodcu. To pomeni, da smo lažno pozitivne rezultate dobili pri 19 % preiskovancev s povišano koncentracijo CEA, ki raka na želodcu niso imeli, ne moremo pa izključiti možnosti, da niso imeli katere druge oblike karcinoma ali drugega stanja pri katerem je TO CEA prav tako povišan.

Občutljivost:  $A / A + B = 11 / 11 + 3 = 0,79 \times 100 = 79 \%$



Slika 8: Graf občutljivosti CEA

V našem primeru je občutljivost CEA 79 %, kar pomeni, da smo izmerili povišano koncentracijo CEA v 79 % raka na želodcu. Pri ostalih 21 % je koncentracija CEA lažno negativna oziroma nižja od 4,2 µg/L.

#### 4.2.2 IZRAČUN SPECIFIČNOSTI IN OBČUTLJIVOSTI ZA CA 19-9

Tabela IXI: Specifičnost in občutljivost za CA 19-9

	tumorski označevalec povišan	tumorski označevalec - normalne vrednosti
število bolnikov z določeno vrsto maligne bolezni	5 (A)	9 (B)
število ljudi brez določene vrste maligne bolezni	6 (C)	21 (D)

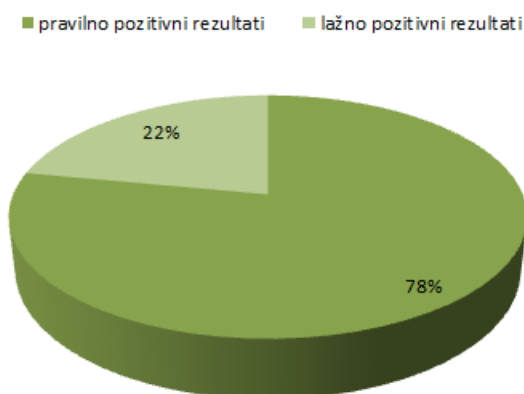
Občutljivost:  $A / A + B = 5/5+9 = 0,36 \times 100 = 36 \%$



Slika 9: Graf občutljivosti CA 19-9

Občutljivost za CA 19-9 je 36 %, kar pomeni, da smo povišano koncentracijo izmerili le v 36 % raka na želodcu. Pri ostalih 64 % je koncentracija lažno negativna oziroma manjša od 37 kU/L.

Specifičnost:  $D / C + D = 21/6+21 = 0,78 \times 100 = 78 \%$



Slika 10: Graf specifičnosti CA 19-9

V našem primeru je specifičnost CA 19-9 za raka na želodcu 78 %. To pomeni, da smo lažno pozitivne rezultate dobili pri 22 % preiskovancev s povišano koncentracijo CA 19-9, ki raka na želodcu niso imeli, ne moremo pa izključiti možnosti, da niso imeli katere druge oblike malignega obolenja, ali drugega stanja pri katerem je CA 19-9 prav tako povišan.

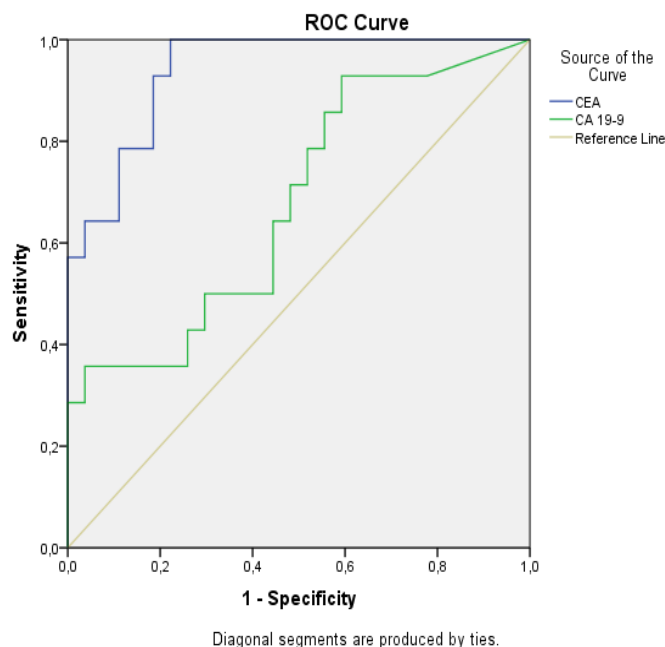
## 4.2.3 IZRAČUN SPECIFIČNOSTI IN OBČUTLJIVOSTI Z ROC KRIVULJO

### 4.2.3.1 ROC KRIVULJA ZA TO CEA IN CA 19-9

Tabela X: Področje pod krivuljo za CEA in CA 19-9

Testne spremenljivke	Area pod krivuljo		
	Area	Standardna napaka	Asimtotična p-vrednost
<b>CEA</b>	,939	,034	,000
<b>CA 19-9</b>	,677	,090	,065

Iz tabele je razvidno, da ima CEA statistično pomembne vrednosti ( $p=0,000$ ) in tudi vrednost AREA je odlična. Pri spremenljivki CA 19-9 ne moremo govoriti o statistični pomembnosti saj je  $p$ -vrednost nad 0,05 ( $p=0,065$ ), pa tudi vrednost AREA je slabša kot pri CEA. Navedeni rezultati so razvidni tudi iz grafa.



Slika 11: Graf - ROC krivulja za CEA in CA 19-9

Več kot je prostora med krivuljo in ravno diagonalno črto, bolj je diagnostični test primeren. Iz grafa je razvidno, da je CEA bolj primeren tumorski označevalec za določitev diagnoze kot CA 19-9.

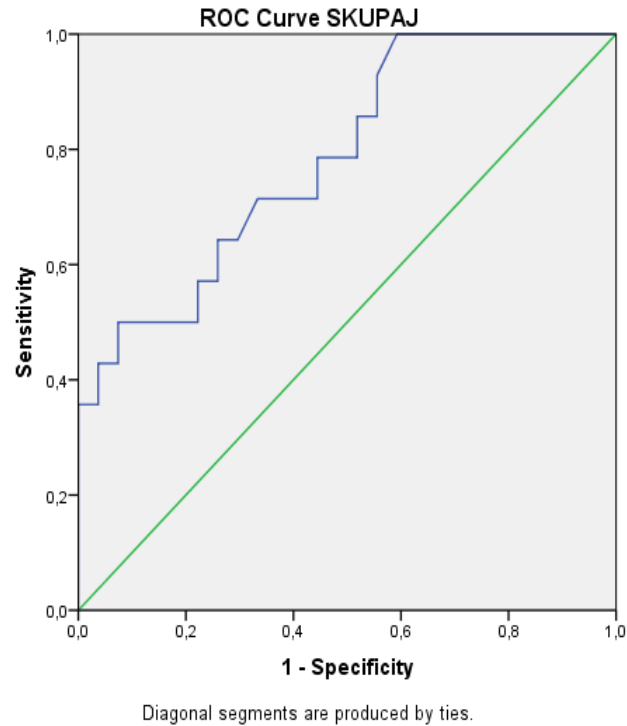
#### 4.2.3.2 ROC KRIVULJA ZA TO CEA IN CA 19-9 SKUPAJ

Tabela XI: Področje pod krivuljo za CEA in CA 19-9 skupaj

Testne spremenljivke	Area pod krivuljo		
	Area	Standardna napaka	Asimtotična p-vrednost
<b>Skupaj CEA in CA 19-9</b>	,786	,074	,003

Iz tabele XIII je razvidno, da imata CEA in CA 19-9 skupaj statistično pomembne vrednosti ( $p=0,003$ ), vrednost AREA pa je sprejemljiva. Navedeni rezultati so razvidni tudi iz grafa.





Slika 12: Graf – ROC krivulja za CEA in CA 19-9 skupaj

V tej ROC krivulji smo sešteli oba tumorska označevalca. Iz grafa je razviden skupni prispevek obeh dejavnikov pri določitvi diagnoze. Iz vrednosti Area razberemo da je občutljivost in specifičnost obeh označevalcev sprejemljiva, zato je skupni prispevek dejavnikov primeren samo za pomoč pri postavitvi diagnoze.

## 5 RAZPRAVA

V naši raziskavi nas je zanimala diagnostična uporabnost tumorskih označevalcev CEA in CA 19-9. V raziskavo je bilo vključenih 41 preiskovancev, od tega 26 moških in 15 žensk. Preiskovance smo razdelili v dve skupini. V prvo skupino smo uvrstili paciente, ki so imeli potrjeno diagnozo rak na želodcu, v drugo skupino pa paciente pri katerih rak ni bil diagnosticiran. Drugo skupino smo uporabili kot kontrolno skupino. V vzorcih smo s kemiluminiscenčno imunološko metodo z uporabo mikrodelcev izmerili koncentracije TO CEA in CA 19-9. Vrednosti teh dveh TO smo statistično obdelali. Uporabili smo statistični program SPSS. Zanimalo nas je ali obstajajo statistično pomembne razlike v povprečjih pri izbranih spremenljivkah. Najprej smo s Kolmogorov – Smirnov testom normalnosti preverili, če se podatki razporejajo normalno (po Gaussovi krivulji). Test smo opravili za CEA in CA 19-9. Od rezultatov tega testa je bilo odvisno kakšne statistične teste bomo opravili naprej. Pri tem testu nas zanima p-vrednost. Če je p-vrednost več kot 0,05 se smatra, da je porazdelitev normalna, če pa je p-vrednost manj kot 0,05 porazdelitev podatkov ni normalna. Pri CEA je p-vrednost 0,249, kar pomeni, da je porazdelitev podatkov normalna. Pri CA 19-9 pa je p-vrednost 0,000, kar pomeni, da se vrednosti CA 19-9 ne porazdeljujejo normalno. Na podlagi tega testa smo se odločili, da za nadaljnjo analizo spremenljivk pri CEA uporabimo t-test, za TO CA 19-9 pa bomo zaradi neenakomerne porazdeljenosti podatkov uporabili Mann – Whitney neparametričen test. T-test uporabimo kadar želimo preveriti razlike v povprečjih med dvema neodvisnima skupinama. Uporabimo ga tudi kadar je porazdelitev podatkov normalna. Izračunali smo razlike v povprečjih in ugotovili, da je razpršenost podatkov zelo velika. Izračunane povprečne vrednosti CEA so pokazale, da je povprečna vrednost koncentracije pri preiskovancih z rakom 44,41, kar je nad referenčno mejo, ki je 4,2  $\mu\text{g/L}$ , pri preiskovancih brez raka pa je povprečna vrednost koncentracije 2,43. Na podlagi t-testa smo ugotovili, da se pri CEA ne pojavljajo statistično pomembne razlike v povprečjih med tistimi, ki imajo rak in tistimi, ki ga nimajo. To smo razbrali iz podatka  $p = 0,070$ , ki je višji od 0,05 in to pomeni, da razlike niso statistično pomembne. Ker smo pri CA 19-9 ugotovili, da podatki niso normalno porazdeljeni smo za statistične izračune uporabili Mann – Whitney U test za neodvisne vzorce. Iz izračuna vidimo, da je p-vrednost 0,065, kar pomeni, da se statistično pomembne razlike med tistimi, ki imajo raka in tistimi, ki ga nimajo, ne pojavljajo. Izračunane povprečne vrednosti koncentracij pri CA 19-

9 so pokazale, da je povprečna vrednost preiskovancev z rakom 18,35, povprečna vrednost preiskovancev brez raka pa 8,90. Obe povprečni vrednosti sta pod referenčno mejo, ki je 37 kU/L.

Diagnostično uporabnost TO opredelimo s specifičnostjo in občutljivostjo. Občutljivost označevalca nam pove pri kolikšnem delu pacientov z določenim tumorjem je nivo označevalca povišan. Specifičnost pa predstavlja delež preiskovancev, ki nimajo določene maligne bolezni in imajo normalen nivo označevalca. Rezultati naše študije so pokazali da je občutljivost CEA 79 %, specifičnost pa 81 %. Za CA 19-9 smo izračunali, da je njegova občutljivost 36 %, specifičnost pa 78 %. Razpoložljivi podatki iz literature kažejo, da so že bile delane različne študije s katerimi so želeli pridobiti vrednosti občutljivosti in specifičnosti teh dveh tumorskih označevalcev. Študija, ki jo je delal Marrelli je pokazala, da je občutljivost CEA 44 %, občutljivost CA 19-9 pa 56 %. Če primerjamo to študijo z našo, je občutljivost CEA pri naši študiji boljša, kar pomeni, da je bilo manj lažno negativnih določitev. Občutljivost CA 19-9 pa je v naši študiji slabša (17). Leta 1989 je bila delana raziskava v kateri se je primerjala vloga različnih TO pri postavitvi diagnoze rak na želodcu. Občutljivost CEA je bila 70 %, za CA 19-9 pa 52 %. V naši raziskavi smo izračunali boljšo občutljivost za CEA (79 %) in slabšo za CA 19-9 (36%) (17). V raziskavah je bilo ugotovljeno tudi, da so serumske koncentracije CA 19-9 pri raku na želodcu povišane pri 15 – 30 %, vendar so ti bolniki imeli več metastaz v jetrih in bezgavkah (18). Specifičnost in občutljivost TO smo izračunali tudi s pomočjo ROC krivulje. Ugotovili smo, da je CEA bolj primeren tumorski označevalec za določitev diagnoze, saj so nam izračuni pokazali, da ima CEA statistično pomembne vrednosti ( $p = 0,000$ ) in tudi vrednost AREA je odlična (0,939). Pri CA 19-9 pa ne moremo govoriti o statistični pomembnosti, saj je p-vrednost nad 0,05 ( $p = 0,065$ ) in tudi vrednost AREA je slabša kot pri CEA ( $p = 0,677$ ). Z ROC krivuljo smo izračunali tudi specifičnost in občutljivost za oba TO skupaj. Iz izračunov je razvidno, da imata CEA in CA 19-9 skupaj statistično pomembne vrednosti ( $p = 0,003$ ), vrednost AREA pa je sprejemljiva. Iz tega je razvidno, da je skupni prispevek obeh dejavnikov primeren samo za pomoč pri postavitvi diagnoze.

Na podlagi teh izračunov lahko zaključim, da sta občutljivost in specifičnost za CEA v naših izračunih boljši kot pri drugih študijah, kar je razvidno tudi iz ROC krivulje za CEA, kjer se na izrisanem grafu tudi lahko razbere, da je CEA bolj primeren TO za postavitev diagnoze. Občutljivost za CA 19-9 pa je v naših izračunih zelo slaba. V drugih študijah je občutljivost

za CA 19-9 bistveno boljša. Iz tega lahko zaključimo, da CEA in CA 19-9 nista dovolj specifična in občutljiva tumorska označevalca za postavitev diagnoze, sta pa pomembna pri spremljanju bolezni in pri odkrivanju ponovitve bolezni.

Za nadaljnje študije bi bilo smiselno, da bi se raziskave delale v različnih starostnih obdobjih. Razdelili bi preiskovance v več starostnih obdobjih, kjer bi izmerili vrednosti koncentracij TO CEA in CA 19-9 in preverili ali starost vpliva na specifičnost in občutljivost teh dveh TO. V naši raziskavi je bilo vključenih razmeroma malo preiskovancev, zato bi v prihodnosti pri istovrstnih študijah bilo smiselno število preiskovancev povečati.

## 6 SKLEPI

Z našo diplomsko nalogo smo želeli ugotoviti diagnostični pomen tumorskih označevalcev CEA in CA 19-9. Na podlagi statističnih izračunov in rezultatov lahko zaključimo naslednje:

1. Za CEA smo izračunali:
  - 79 % občutljivost, kar pomeni, da smo izmerili povišano koncentracijo CEA v 79 % raka na želodcu. Pri ostalih 21 % smo dobili lažno negativno koncentracijo CEA.
  - 81 % specifičnost, kar pomeni, da smo lažno zvišane rezultate dobili pri 19 % preiskovancev, ki raka na želodcu niso imeli, ne moremo pa izključiti možnosti, da niso imeli katere druge maligne bolezni ali drugega stanja pri katerem je TO CEA prav tako povišan.
2. Za CA 19-9 smo izračunali:
  - 36 % občutljivost, kar je zelo nizko. To pomeni, da smo povišano koncentracijo CA 19-9 izmerili le v 36 % raka na želodcu. Pri ostalih 64 % je koncentracija bila lažno negativna.
  - 78 % specifičnost, kar pomeni, da smo lažno pozitivne rezultate dobili pri 22 % preiskovancev s povišano koncentracijo CA 19-9, ki raka na želodcu niso imeli, ne moremo pa izključiti možnosti, da nismo imeli katere druge oblike malignega obolenja, ali drugega stanja pri katerem je CA 19-9 prav tako povišan.
3. Specifičnost in občutljivost smo izmerili še s pomočjo ROC krivulje.
  - Pri ROC krivulji za CEA in CA 19-9 smo ugotovili, da je CEA bolj primeren tumorski označevalec za postavitev diagnoze kot CA 19-9.
  - Pri ROC krivulji za CEA in CA 19-9 skupaj pa smo ugotovili, da je skupen prispevek obeh dejavnikov primeren samo za pomoč pri postavitvi diagnoze.

## 7 LITERATURA

1. Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D: Interna medicina, Tiskarna Pleško d.o.o., 2005, 461- 488
2. Borovič V: Patologija, patološka fiziologija in osnove interne medicine, 1.izdaja, 6 natis, DZS 2010, 168 - 172
3. Rak na želodcu. Dostopno na: [www.cancer.org/stomach-cancer-pdf](http://www.cancer.org/stomach-cancer-pdf), september 2016
4. Steblovnik T; Kronično vnetje želodčne sluznice: 1; Dostopno na: [www.drmed.org/wp-content/uploads/2014/06/II-111.pdf](http://www.drmed.org/wp-content/uploads/2014/06/II-111.pdf), september 2016
5. Želodec. Dostopno na: [http://mss.svarog.si/biologija/MSS/index.php?page\\_id=11255](http://mss.svarog.si/biologija/MSS/index.php?page_id=11255), avgust 2016
6. Peptična razjeda. Dostopno na: <http://www.viva.si/Bolezni/Bolezni-prebavil-Gastroenterolo%C5%A1ke-bolezni/4175/Pepti%C4%8Dna-razjeda>, september 2016
7. Serologija. Dostopno na: [http://www.med.cmu.ac.th/hospital/blbank/2011/index.php?option=com\\_phocadownload&view=category&download=3:mt4-screening-in-blood-donors-lab&id=1:2011-08-22-10-20-](http://www.med.cmu.ac.th/hospital/blbank/2011/index.php?option=com_phocadownload&view=category&download=3:mt4-screening-in-blood-donors-lab&id=1:2011-08-22-10-20-), september 2016
8. Oddelek za abdominalno in splošno kirurgijo, Kirurška klinika UKC Maribor: Smernice in problemi zdravljenja malignomov želodca, trebušne slinavke in debelega črevesa ter danke, zbornik predavanj, Tiskarna OMAN, oktober 2014, 2 - 3
9. Ocvirk J: Rak želodca – Kaj morate vedeti o bolezni, Birografika Bori d.o.o. , 2011, 13 - 23
10. Novaković S, Hočevlar M, Jezeršek Novaković B, Stojan P, Žgajnar J, Onkologija, Raziskovanje, diagnostika in zdravljenje raka, Mladinska knjiga Založba d.d., 2009, 96-100, 318 - 320
11. Novaković S: Pregled pomembnejših tumorskih označevalcev v klinični onkologiji, Onkološki inštitut Ljubljana, 2000, 17-30.
12. Osredkar J: Izbrana poglavja iz klinične kemije, Učno gradivo za študente farmacije, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2008: 91-106

13. SOP HTM Določanje CA 19-9, Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, UKC Ljubljana 1-2
14. Architect system CEA. 2-4 Dostopno na:  
[www.illexmedical.com/files/PDF/CEA\\_ARC.pdf](http://www.illexmedical.com/files/PDF/CEA_ARC.pdf), april 2016
15. SOP HTM Določanje CEA, Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, UKC Ljubljana 1-2
16. Architect system CA 19-9XR. 2-5; Dostopno na:  
[www.illexmedical.com/files/PDF/CA19-9\\_ARC.pdf](http://www.illexmedical.com/files/PDF/CA19-9_ARC.pdf), april 2016
17. Rak želodca tumorski markerji. Dostopno na: [rmj.com.ro/articles/2015.4/RMR\\_Nr-4\\_2015\\_Art-15.pdf](http://rmj.com.ro/articles/2015.4/RMR_Nr-4_2015_Art-15.pdf), september 2016
18. Rak na želodcu z zelo povišano koncentracijo CA 19-9. Dostopno na:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3094686/>, september 2016