

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

CVETKA DREN

**DIPLOMSKA NALOGA**  
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

CVETKA DREN

**POMEN DOLOČANJA KONCENTRACIJE ALFA-FETOPROTEINA PRED IN PO  
TERAPIJI S SORAFENIBOM PRI PACIENTIH S HEPATOCELULARNIM  
KARCINOMOM**

**ROLE OF CONCENTRATION ALFA-FETOPROTEIN DETERMINATION BEFORE  
AND AFTER MEDICAL TREATMENT WITH SORAFENIB IN PATIENTS WITH  
HEPATOCELLULAR CARCINOMA**

Ljubljana, 2010

Diplomsko nalogo sem opravljala na Gastroenterološki interni kliniki, Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani, pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. in somentorja asis. dr. Rada Janše, dr. med.

### **Zahvala**

Zahvaljujem se prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., spec. med. biokem. za mentorstvo, strokovno usmerjanje in svetovanje pri diplomskem delu. Zahvaljujem se somentorju asis. dr. Radu Janši, dr. med. za somentorstvo, pomoč in praktične napotke med delom na kliniki. Še posebej bi se rada zahvalila družini in fantu Borku, za vso podporo in potrpežljivost v času študija in nastajanja diplomskega dela.

### **Izjava**

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. in somentorja asis. dr. Rada Janše, dr. med.

Cvetka Dren

## KAZALO VSEBINE

KAZALO SLIK .....	III
KAZALO GRAFOV .....	III
KAZALO PREGLEDNIC.....	IV
SEZNAM KRATIC IN OKRAJŠAV .....	V
POVZETEK .....	VI
ABSTRACT.....	VII
1. UVOD .....	1
1.1 JETRA .....	1
1.1.1 ANATOMIJA JETER .....	1
1.1.2 FUNKCIJE JETER.....	3
1.1.3 JETRNI TESTI.....	4
1.2 RAK JETRNIH CELIC - HEPATOCELULARNI KARCINOM (HCC).....	8
1.2.1 INCIDENCA .....	8
1.2.2 ETIOLOGIJA .....	9
1.2.3 KLINIČNA SLIKA .....	10
1.2.4 DIFERENCIALNA DIAGNOSTIKA.....	10
1.2.5 ZDRAVLJENJE .....	13
1.3 TUMORSKI OZNAČEVALEC ALFA FETOPROTEIN (AFP).....	21
2. NAMEN DELA .....	23
3. MATERIALI IN METODE .....	24
3.1 KLINIČNI DEL .....	24
3.2 EKSPERIMENTALNI DEL.....	24
3.2.1 PRINCIP KEMILUMINISCENČNE IMUNOLOŠKE SENDVIČ METODE ..	25
3.2.2 MATERIALI .....	26
3.2.3 PRIPRAVA REAGENTOV .....	26
3.2.4 PRIPRAVA VZORCEV .....	26
3.2.5 KALIBRACIJA ANALIZATORJA.....	27
3.2.6 POTEK DELA.....	27
3.2.7 SPECIFIČNE KARAKTERISTIKE ANALIZATORJA.....	28
4. REZULTATI IN RAZPRAVA .....	30
5. SKLEP.....	49
6. VIRI IN LITERATURA .....	52

## KAZALO SLIK

<b>Slika 1:</b> Prikaz jetrnega režnjiča in acinusa .....	2
<b>Slika 2:</b> Celična sestava stene sinusoida (E–endotelna celica, H–hepatocit, f–fenestra, D–Dissejev prostor, K–Kupfferjeva celica) .....	3
<b>Slika 3:</b> Nastanek HCC .....	10
<b>Slika 4:</b> Sinteza sorafeniba .....	20
<b>Slika 5:</b> Analizator LIAISON .....	25
<b>Slika 6:</b> Kemiluminiscenčna imunološka sendvič metoda .....	25

## KAZALO GRAFOV

<b>Graf 1:</b> Pogostost posameznih neželenih učinkov (vse stopnje) izražena v odstotkih ....	19
<b>Graf 2:</b> Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa .....	36
<b>Graf 3:</b> Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa .....	37
<b>Graf 4:</b> Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa .....	39
<b>Graf 5:</b> Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa .....	41
<b>Graf 6:</b> Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa .....	42

## KAZALO PREGLEDNIC

<b>Preglednica I:</b> Parametri Child-Pughove klasifikacije .....	11
<b>Preglednica II:</b> Stopnje Child-Pughove klasifikacije in stopnja preživelosti .....	12
<b>Preglednica III:</b> Demografske in izhodiščne značilnosti bolezni .....	17
<b>Preglednica IV:</b> ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) .....	17
<b>Preglednica V:</b> Neželeni učinki, opisani pri vsaj 5 % bolnikov v katerikoli terapevtski skupini pri HCC .....	18
<b>Preglednica VI:</b> intra-analizna in inter-analizna variacija .....	28
<b>Preglednica VII:</b> Koncentracija AFP v serumu razredčenim z vzorčnim topilom .....	29
<b>Preglednica VIII:</b> Ocena ponovljivosti .....	29
<b>Preglednica IX:</b> Vsi bolniki .....	31
<b>Preglednica X:</b> Prva skupina bolnikov z vrednostjo AFP v območju referenčnih vrednosti do 5,5 kU/L .....	35
<b>Preglednica XI:</b> Druga skupina bolnikov .....	37
<b>Preglednica XII:</b> Tretja skupina bolnikov .....	38
<b>Preglednica XIII:</b> Četrta skupina bolnikov .....	40
<b>Preglednica XIV:</b> Peta skupina bolnikov .....	42
<b>Preglednica XV:</b> Bolniki ki so prejeli terapijo s sorafenibom .....	44

## **SEZNAM KRATIC IN OKRAJŠAV**

AF – alkalna fosfataza

AFP – alfa fetoprotein

ALT – alanin-aminotransferaza

AST – aspartat-aminotransferaza

BLRcel – celokupni bilirubin

BLRdir – direktni bilirubin

GGT – gama-glutamil transpeptidaza

HCC – hepatocelularni karcinom

HAV – virus hepatitisa A

HBV – virus hepatitisa B

HCV – virus hepatitisa C

HEV – virus hepatitisa E

NASH – nealkoholni steatohepatitis

PEI – perkutano etilno injiciranje

RFA – radiofrekvenčna ablacija

TACE – transarterijska kemoembolizacija

## POVZETEK

Hepatocelularni karcinom je najpogostejši primarni rak jeter. Oktobra 2007 je Evropska komisija družbi Bayer Healthcare izdala dovoljenje za promet z zdravilom Nexavar, z zdravilno učinkovino sorafenib, ki zavira razrast tumorskih celic, razrast tumorskega žilja in pospeši celično smrt. Sorafenib je edini odobreni peroralni antiangiogenik, ki se je izkazal za učinkovitega v sistemskem zdravljenju napredovalega primarnega raka jeter. V ta namen smo se odločili iz skupine 49-ih bolnikov s potrjeno diagnozo jetrnega raka, zbranih v Gastroenterološki interni kliniki v Ljubljani, izločiti in podrobneje preučiti skupino 18-ih bolnikov, ki so bili zdravljeni s sorafenibom. V okviru preučevanja omenjene skupine bolnikov smo želeli določiti pomen določanja koncentracije tumorskega označevalca AFP, ugotoviti kako se ta koncentracija spreminja v času zdravljenja in kaj se dogaja z velikostjo tumorja. Poleg tega smo spremljali še aktivnost jetrnega parenhima in splošno stanje bolnikov. Koncentracijo AFP smo izmerili v serumu, in sicer s kemiluminiscenčno imunološko sendvič metodo s pomočjo analizatorja Liaison. Predvidevali smo, da bo visoka koncentracija AFP nakazovala na večje in številčnejše tumorje ter prisotnost metastaz. Ugotovili pa, da visoka koncentracija AFP ne nakazuje na prisotnost velikega tumorja in prisotnost metastaz ter obratno, nizka koncentracija AFP ne pomeni, da je tumor majhen. Prav tako koncentracija AFP v območju referenčnih vrednosti ne pomeni, da tumor ni prisoten. Sklepali smo tudi, da bo v času terapije s sorafenibom velikost tumorja mirovala oziroma se celo zmanjšala. Skladno s pričakovanji se velikost tumorja pri 16,7 % bolnikov ni spremenila, pri 38,9 % se je velikost celo zmanjšala, pri 22,2 % obolelih pa se je v nasprotju s pričakovanji velikost tumorja povečala. Pri 44,4 % bolnikov smo zaznali zmerno anemijo, pri 50 % bolnikov pa trombocitopenijo, ki je značilna pri jetrnih boleznih.

Spremljanje koncentracije tumorskega označevalca AFP pri bolnikih s HCC je zelo pomembno, in sicer pri bolnikih pred postavitvijo diagnoze HCC je njen pomen povezan z dejstvom, da povišana koncentracija AFP vzbudi sum na HCC, medtem ko je pri bolnikih s potrjeno diagnozo HCC povišana koncentracija AFP pomemben pokazatelj uspešnosti terapije.



## **ABSTRACT**

Hepatocellular carcinoma is the most frequent primary liver cancer. In October 2007, the European Commission granted the Bayer Healthcare company the marketing authorization for Nexavar drug with active substance sorafenib, which slows the growth of tumor cells, growth of the tumor veins and it accelerates the destruction of cells. Sorafenib is the only approved oral angiogenesis inhibitor, which proved to be efficient for a systematic treatment of advanced primary liver cancer. For this purpose we selected 18 patients treated with sorafenib for a more detailed analysis. They were selected from a group of 49 patients with confirmed liver cancer diagnosis being treated at the Gastroenterology Internal Clinic in Ljubljana. The goal of the study of the above mentioned group of patients was to determine the significance of determining the concentration of the AFP tumor marker, to determine how this concentration changes during the treatment and what happens to the size of the tumor. We also monitored the activity of the liver parenchyma and general condition of the patients. The AFP concentration was measured in the serum, namely with the chemiluminiscent immune sandwich method with the help of the Liaison analyser. We anticipated that high AFP concentration would mean bigger and more numerous tumors and the presence of metastases. Nevertheless, we determined that high AFT concentration level does not mean that there is a large tumor and presence of metastases and that low AFP concentration level does not mean that a tumor is small. Also, AFP concentration within the reference value does not mean there is no tumor. We also believed that during the treatment with sorafenib the size of the tumor would be stagnant or it would decrease. According to our expectations, the size of the tumor did not change for 16.7% of the patient, the size of the tumor was smaller of 38.9%, but, on the contrary with our expectations, the size of the tumor increased for 22.2% of the patients. We detected moderate anaemia with 44.4% of the patients, and thrombocytopenia for 50% of the patients, which is characteristic for liver disease.

Monitoring the concentration level of the AFP tumor marker with the HCC patients is very important; namely for the patients before the HCC diagnosis it is important because of the fact that elevated AFP concentration level points to HCC, while for the patients with a confirmed HCC diagnosis, elevated AFP concentration level is an important indicator for the success of the therapy.

## 1. UVOD

### 1.1 JETRA

#### 1.1.1 ANATOMIJA JETER

Jetra so največji in eden najpomembnejših notranjih organov. Pri odraslem človeku tehtajo 1500 gramov. Ležijo v desnem zgornjem kvadrantu trebušne votline. Ligament jih razdeli v dva glavna režnja, levi je nekoliko manjši od desnega.

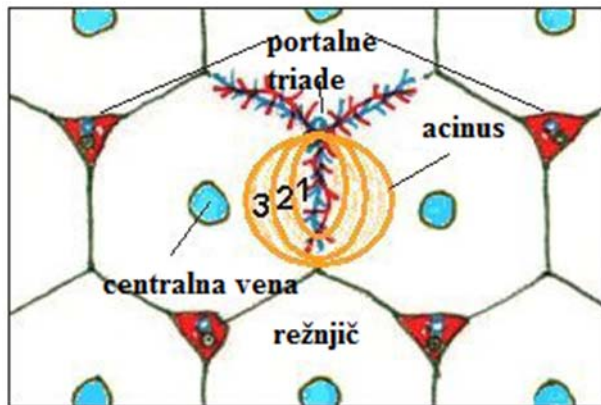
Jetra imajo dvojno oskrbo s krvjo. Portalna vena dovaja v jetra vensko kri iz želodca, črevesa in vranice in na ta način preskrbi jetrom 75 % kisika. Hepatična arterija pa dovaja v jetra arterijsko kri iz srca in tako preskrbi preostalih 25 % kisika. Portalna vena in hepatična arterija vstopata v jetra skozi jetrno lino (porto hepatis) na spodnji površini jeter in se razdelita v veji za levi in desni jetrni reženj. Žilam se pridružita levi in desni hepatični žolčni vod, ki se nato v jetrni lini združita v skupni hepatični vod. Tri glavne hepatične vene (desna, srednja, leva) se vlivajo v spodnjo veno kavo.

Funkcionalno anatomsko razdelimo jetra na osem segmentov, kar je zlasti pomembno v jetrni kirurgiji. Vsak segment ima ustrezen portalni pedikel, ki ga sestavljajo segmentna veja hepatične arterije, portalne vene in žolčni vod.

Jetrna režnja sta sestavljena iz **režnjičev ali lobulusov** (slika 1), ki je morfološko osnovna strukturna enota jeter. To je del jetrnega parenhima, ki obdaja centralno veno in ima značilno šesterokotno obliko. Na obrobju režnjiča ležijo portalna polja ali triade, sestavljene iz portalne vene, hepatične arterije in žolčnega voda. Režnjič vsebuje jetrne celice (hepatocite), ki so razporejeni v gredicah in se žarkasto širijo od centralne vene. Med gredicami jetrnih celic so sinusoidi ali jetrne kapilare. Kri teče iz jetrne arterije in portalne vene skozi sinusoidne v zbiralne centralne vene.

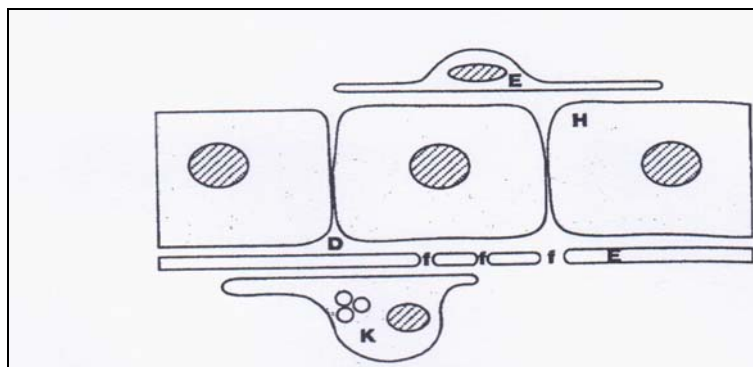
Funkcijska osnovna strukturna enota jeter je **jetrni acinus** (slika 1), ki je funkcionalna mikrocirkulacijska enota. Parenhimske celice so združene v koncentrične cone. Portalna triada tvori center acinusa, periferijo pa sestavljajo deli večjih lobulusov. Tako razdelimo acinus na tri funkcionalne cone, glede na oksigenacijo. Cono ena sestavljajo hepatociti okoli portalne triade, cono tri parenhimske celice okrog centralne vene, cono dve pa tvorijo hepatociti med obema conama. Celice cone ena so prve preskrbljene z oksigenirano krvjo, zato so odpornejše proti strupom ter nekrozi in se tudi prve regenerirajo. Celice v ostalih

dveh conah pa so bolj občutljive za strupe, prve podležejo nekrozi in se zadnje regenerirajo (1).



**Slika 1:** Prikaz jetrnega režnjiča in acinusa.

Jetrne celice tvorijo 90 % jetrnega parenhima. Vsaka parenhimska jetrna celica ima tri funkcionalno različne površine: **sinusoidno**, ki je v neposrednem stiku s krvjo, zato je pomembna za privzem snovi iz krvi in sekrecijo krvnih sestavin; **kanalikularno**, ki med dvema sosednjima hepatocitoma omejuje žolčni kanalikul in je pomembna pri izločanju žolča ter **lateralno** s katero se hepatociti tesno stikajo med seboj. Preko teh površin potekajo medsebojne informacije. Steno sinusoida (slika 2) sestavlja porozna mreža endotelijskih in Kupfferjevih celic. Slednje s fagocitozo odstranjujejo bakterije in endotoksine, ki prispejo s portalno krvjo iz črevesa. Med hepatocitom in endotelijskimi celicami leži Dissejev prostor, v katerem so Itove celice (jetrne zvezdaste celice), ki tvorijo majhen del jetrnega parenhima. Kljub temu pa so poglavitno mesto shranjevanja vitamina A v jetrih. Posebnost sinusoidne stene je, da nima bazalne membrane, za razliko od kapilar drugje v telesu, kar omogoča neposreden stik hepatocita s krvjo. Stena je fenestrirana, zato beljakovine prosto prehajajo in posledično tu ni onkotskega tlaka (1).



**Slika 2:** Celična sestava stene sinusoida (E–endotelna celica, H–hepatocit, f–fenestra, D–Dissejev prostor, K–Kupfferjeva celica).

Izločevalni jetrni sistem se začneja z žolčnimi kanalčki. Hepatociti tvorijo žolč in ga izločajo v drobne kanalčke, t. i. kanalikule ali žolčne kapilare, od koder se steka v interlobularne žolčne vode, ki so že v portalnih poljih. Žolč zapušča jetra po omrežju izvodil, ki po velikosti naraščajo in se v jetrni lini združijo v ekstrahepatična izvodila (1).

### 1.1.2 FUNKCIJE JETER

Jetra so osrednji organ presnove. Opravljajo več funkcij, najpomembnejše štiri pa so metabolična, izločevalna, shranjevalna in detoksifikacijska funkcija.

#### **Metabolične funkcije**

##### ***Metabolizem ogljikovih hidratov***

Jetra imajo pomembno vlogo v vzdrževanju stalne koncentracije glukoze v krvi. Odvečno glukozo shranjujejo v obliki glikogena, ob pomanjkanju glukoze v krvi pa dvigujejo njeno koncentracijo z glikogenolizo (encimska razgradnja glikogena do glukoze) in glukoneogenezo (sinteza glukoze iz piruvata, laktata, glicerola, aminokislin, galaktoze, fruktoze,...).

##### ***Metabolizem lipidov***

Specifični za jetra so sinteza holesterola, fosfolipidov, ketonskih teles in visoka stopnja beta oksidacije. Večina holesterola se pretvori v žolčne soli, preostali del pa se vgradi v lipoproteine. Jetra razgrajujejo hilomikronske ostanke in s holesterolom zasičene HDL, in sintetizirajo lipoproteine VLDL, ki se pretvarjajo naprej v LDL, IDL in HDL. Lipoproteini prenašajo holesterol, fosfolipide in trigliceride v druga tkiva. V jetrih poteka tudi pretvorba ogljikovih hidratov in proteinov v maščobe (2).

### ***Metabolizem aminokislin in proteinov***

V jetrih potekata interkonverzija (pretvorba) in oksidativno deaminiranje aminokislin. Interkonverzija služi za sintezo proteinov, kreatina, glutationa in za tvorbo tistih neesencialnih aminokislin, ki jih primanjkuje. Jetra tvorijo razen dela gama globulinov vse ostale plazemske proteine (albumini, globulini, faktorji koagulacije, inhibitorji koagulacije in fibrinolize, proteini akutne faze, transferin,...). Imajo pomembno vlogo pri koagulaciji in sicer tvorijo fibrinogen (faktor I), protrombin (faktor II) in faktorje V, VII, IX, X, XII. Pri deaminaciji pa nastaja amoniak, ki vstopi v cikel uree in se tako izloči iz telesa. Deaminirane aminokisliline se porabijo kot vir energije ali za sintezo ogljikovih hidratov in maščob.

### ***Metabolizem hormonov***

V jetrih poteka proteolitična razgradnja insulina in glukagona. Inaktivirajo in izločajo tudi ščitnične in steroidne hormone.

### **Izločevalna funkcija**

Jetra izločajo žolč, ki omogoča prebavo in absorpcijo maščob ter izločanje žolčnih kislin, odvečnega holesterola, maščobnih kislin, lecitina, elektrolitov, predvsem pa bilirubina. Izločajo se tudi inaktivirani hormoni in telesu tuje spojine.

### **Shranjevalna funkcija**

V jetrih so shranjeni vitamini A, D, K in B<sub>12</sub>. Shranjena pa je tudi največja količina železa v obliki feritina (z izjemo železa v hemoglobinu) (2).

### **Detoksifikacijska funkcija**

Jetra metabolizirajo zdravilne učinkovine, strupe. Po presnovi v jetrih se veliko zdravilnih učinkovin detoksificira, nekatere učinkovine šele po presnovi pridobijo zdravilne učinke (aktivacija zdravila) ali se pretvorijo v strupene presnovke (aktivacija toksičnih metabolitov). Potekata dve vrsti reakcij: **reakcije 1. faze:** oksidacije, redukcije, hidrolize; in **reakcije 2. faze:** konjugacija z aktivirano glukuronsko kislino, z aminokislinami in peptidi (glicin, glutamin, glutation, metionin), z aktiviranim sulfatom ali aktivirano očetno kislino (1,3).

## **1.1.3 JETRNI TESTI**

Jetrni testi se uporabljajo kot laboratorijski del preiskave serumskih biokemičnih markerjev jetrnih bolezni. Ti pripomorejo k sami diagnozi bolezni jeter in žolčnih izvodil, kot

dopolnitev h kliničnim preiskavam. Uporabljajo se tudi za spremljanje bolezni in kontrolo zdravljenja ter navsezadnje za prognozo bolezni. Kažejo nam okvaro določene funkcije jeter, ne pa določeno bolezen jeter. Pomanjkljivost jetrnih testov je v tem, da so praviloma nespecifični in nesenzitivni, zato jih uporabljamo v kombinacijah imenovanih baterija testov, ki jo razdelimo v dve skupini: **1. Testi funkcijske sposobnosti**, ki ocenjujejo izločevalno in biosintetsko sposobnost. Določamo *koncentracijo bilirubina v serumu in urinu* (pomembno za potrditev prisotnosti in napredovanja zlatenice), *koncentracijo albuminov v serumu* (jetrna sposobnost sinteze serumskih beljakovin) in *aktivnost faktorjev strjevanja krvi* (jetrna sposobnost sinteze faktorjev koagulacije). **2. Serumski encimski testi**, ki lahko odražajo okvaro hepatocitov ali zastoj izločanja žolča (holestazo). Določamo aktivnost *aminotferaz v serumu: alanin-aminotferaze (ALT) in aspartat-aminotferaze (AST)*, *aktivnost alkalne fosfataze (AF) v serumu* in *aktivnost gama-glutamil transpeptidaze (GGT) v serumu* (3).

Aminotferaze sodelujejo v reakcijah transaminacije. Pomembna sta dva encima, ki sta pokazatelja parenhimske okvare jeter, in sicer alanin-aminotferaza (ALT) in aspartat-aminotferaza (AST). ALT katalizira reverzibilno reakcijo prenosa aminoskupine med alaninom in piruvatom. Ima pomembno vlogo v metabolizmu aminokislin, proteinov in ogljikovih hidratov. AST pa katalizira reverzibilno reakcijo prenosa aminoskupine med aspartatom in 2-oksoglutaratom ( $\alpha$ -ketoglutaratom). Ketokislina se reverzibilno pretvarja v aminokislino in na ta način se prepletata metabolizma ogljikovih hidratov in proteinov. V serumu so aminotferaze normalno prisotne v nizkih koncentracijah. Za ALT je mejna vrednost pri moških 0,74  $\mu$ kat/L, pri ženskah pa 0,56  $\mu$ kat/L. Za AST pa je mejna vrednost pri moških 0,58  $\mu$ kat/L, pri ženskah pa 0,52  $\mu$ kat/L. Poškodbe jetrnih celic prizadenejo celične membrane, ki postanejo bolj permeabilne, kar povzroči izhajanje encimov v krvni obtok in povečanje serumske koncentracije aminotferaz. V serumu lahko poraste encimska aktivnost obeh encimov hkrati, ali pa se zveča samo aktivnost AST ali ALT. ALT se nahaja predvsem v citoplazmi hepatocitov, v drugih tkivih pa le v zelo nizkih koncentracijah. Zato je zvečanje aktivnosti ALT v serumu relativno specifičen in zelo občutljiv kazalec okvare hepatocitov. AST pa se nahaja v citosolu in mitohondrijih hepatocitov ter drugih celicah (srce, skeletne mišice, ledvice, možgani, trebušna slinavka, pljuča, eritrociti, levkociti). Zaradi razširjenosti v organizmu je manj specifičen indikator jetrnih bolezni. Količina aminotferaze v serumu ni sorazmerna z resnostjo jetrne

poškodbe. Na primer pri hudem alkoholnem hepatitisu najdemo le zmerno povišanje. Zato je potrebno serijsko testiranje in hkrati spremljanje aktivnosti obeh encimov. Pri jetrnih boleznih sta aktivnosti obeh encimov načeloma povečani vzporedno, razmerje aktivnosti AST/ALT je okoli 1 (de Ritisov količnik). Pri kronični alkoholni okvari jeter pa je razmerje aktivnosti lahko 2:1 v prid AST. Menijo, da je razmerje 3:1 že močan indikator alkoholizma. Pri tem je aktivnost AST le zmerno zvečana, aktivnost ALT pa je lahko celo zmanjšana, kar je posledica pomanjkanja pirodoksal-5-fosfata, kofaktorja ALT, ki ga pogosto primanjkuje v prehrani kroničnih alkoholikov. Povečanje aktivnosti aminotransferaz merimo z mnogokratniki normalne vrednosti: majhno – do 2-krat, zmerno – do 10-krat, hudo – nad 10-krat. Zmerno povečanje je precej nespecifično. Pojavi se pri cirozi, holestazi ali v kasnejšem stadiju hepatitisov. Močno povečanje aktivnosti pa ima diagnostično vrednost, saj nastopa skoraj izključno takrat, kadar so hepatociti močno prizadeti, pri virusnem, toksičnem in ishemičnem hepatitisu. Čeprav so jetrne bolezni najpogostejši vzrok zvišanja aminotransferaz, pa se encima lahko zvišata tudi pri hudih fizičnih naporih, pri hemolizi ali mišični poškodbi (3).

Gama-glutamil transpeptidaza (GGT) je inducibilen mikrosomski encim, ki katalizira prenos  $\gamma$ -glutamilne skupine iz glutationa na aminokislino, kar omogoča prehajanje aminokislin preko celične membrane. Najvišja koncentracija GGT je v epitelijskih celicah intrahepatičnih žolčnih poti, encim pa je tudi v ledvicah, trebušni slinavki, seminalnih vezikulah, vranici, srcu in možganih. Kot jetrni test je sicer zelo občutljiv, vendar pa je precej nespecifičen, saj se ugotovi porast aktivnosti GGT v serumu tudi pri nejetrnih boleznih. Normalna aktivnost tega encima v serumu je pri moških 0,92  $\mu$ kat/L, pri ženskah pa 0,63  $\mu$ kat/L, povečana pa je ob prekomernem uživanju alkohola, sedativov, antiepileptikov, tricikličnih antidepresivov, oralnih kontraceptivov, ki inducirajo mikrosomalne encime. Serumsko aktivnost je povišana tako pri parenhimski okvari kot tudi pri holestazi in metastazah v jetrih. Po prenehanju uživanja zdravil in pitja alkohola se po dveh do petih tednih vrednost GGT povrne na normalo (3).

Plazemski albumin sintetizirajo izključno hepatociti. Koncentracija albumina je 35–50 g/L in predstavlja 50–60 % vseh plazemskih proteinov. Albumin ima relativno dolg razpolovni čas (15–20 dni). Njegovi glavni funkciji sta uravnavanje onkotskega pritiska in transport lipofilnih molekul v krvi. Ker omogoča vzdrževanje onkotskega tlaka, je za organizem zelo pomemben, kar se kaže z veliko funkcionalno rezervo njegove sinteze. Zato albumin ni

dober indikator akutne jetrne poškodbe. Pri hepatitisu je hipoalbuminemija, znižanje koncentracije pod 30 g/L, znak prehoda v kronični hepatitis. Do hipoalbuminemije pride tudi pri drugih kroničnih jetrnih boleznih, na primer pri jetrni cirozi, in sicer je lahko posledica izgub v peritonealni prostor (ascites), pri čemer je sinteza albumina lahko normalna ali celo povečana (3).

Bilirubin je razgradni produkt hemoglobina. Določanje je pomembno za oceno jetrne funkcije in diferencialno diagnozo zlatenice. Nastaja v celicah retikulo-endotelijskega sistema iz odmirajočih eritrocitov (80 %) in v jetrnih celicah (20 %) iz hemoproteinov (citokromi, mioglobin, peroksidaza). Majhne količine bilirubina nastajajo tudi pri propadanju novonastalih eritrocitov v kostnem mozgu. Ob razgradnji hema nastane nekonjugirani (indirektni) bilirubin, ki se vezan na albumin prenese v hepatocite, kjer poteče konjugacija pod vplivom uridindifosfat glukuroniltransferaze. Konjugirani (direktni) bilirubin se z membranskim prenašalnim proteinom (ang. *multidrug resistance-associated protein*) izloča v žolčne kanalčke in po žolčnih izvodilih naprej v dvanajstnik. Intestinalne bakterije pretvorijo večji del konjugiranega bilirubina v vodotopni urobilinogen, ki se ponovno vključi v enterohepatični cikel. Preostali konjugirani bilirubin se po pretvorbah v črevesju izloči z blatom. Privzet urobilinogen se z jetri skoraj popolnoma izloči v žolč, le majhen del se ga z ledvicami izloči v urin.

Običajne vrednosti serumskih koncentracij celokupnega bilirubina (BLR<sub>cel</sub>) znašajo do 17  $\mu\text{mol/L}$ . Od tega do 30 % (do 5,1  $\mu\text{mol/L}$ ) predstavlja direktni bilirubin (BLR<sub>dir</sub>), preostali del pa indirektni bilirubin. Zlatenica se pojavi pri koncentracijah nad 50  $\mu\text{mol/L}$ . Povišane vrednosti nekonjugiranega bilirubina se pojavijo pri hemolizi in nekaterih dednih napakah (Gilbertov sindrom, Crigler-Najjarov sindrom). Konjugirana hiperbilirubinemija pa je v skoraj vseh primerih posledica okvarjenega izločanja bilirubina zaradi bolezni jeter ali žolčnih izvodil (1).

Motnje koagulacije najlažje določamo z merjenjem protrombinskega časa (PČ). PČ pokaže celotno količino protrombina v krvi. Odvisen je od normalne hepaticne sinteze koagulacijskih faktorjev in zadostnega intestinalnega privzema vitamina K. Absorbcija tega vitamina pa zahteva normalno sekrecijo žolča in delovanje črevesne sluznice. Huda akutna ali kronična parenhimska jetrna poškodba lahko vodi v podaljšanje PČ zaradi nezadostne sinteze koagulacijskih faktorjev. V podaljšanje PČ pa vodi tudi holestaza (pride



do malabsorbcije vitamina K), antibiotična terapija (ni več bakterijske proizvodnje vitamina K), antikoagulantna terapija, hepatocelularni karcinomi (proizvajajo spremenjeno obliko protrombina). Običajne vrednosti znašajo od 11 do 16 sekund. Rezultate pogosteje izražamo v mednarodnem normaliziranem razmerju INR (International normalised ratio). INR je kvocient med PČ vzorca plazme preiskovane osebe in PČ kontrolnega vzorca plazme. Referenčne vrednosti znašajo 0,85–1,15 (1, 3).

## **1.2 RAK JETRNH CELIC - HEPATOCELULARNI KARCINOM (HCC)**

### **1.2.1 INCIDENCA**

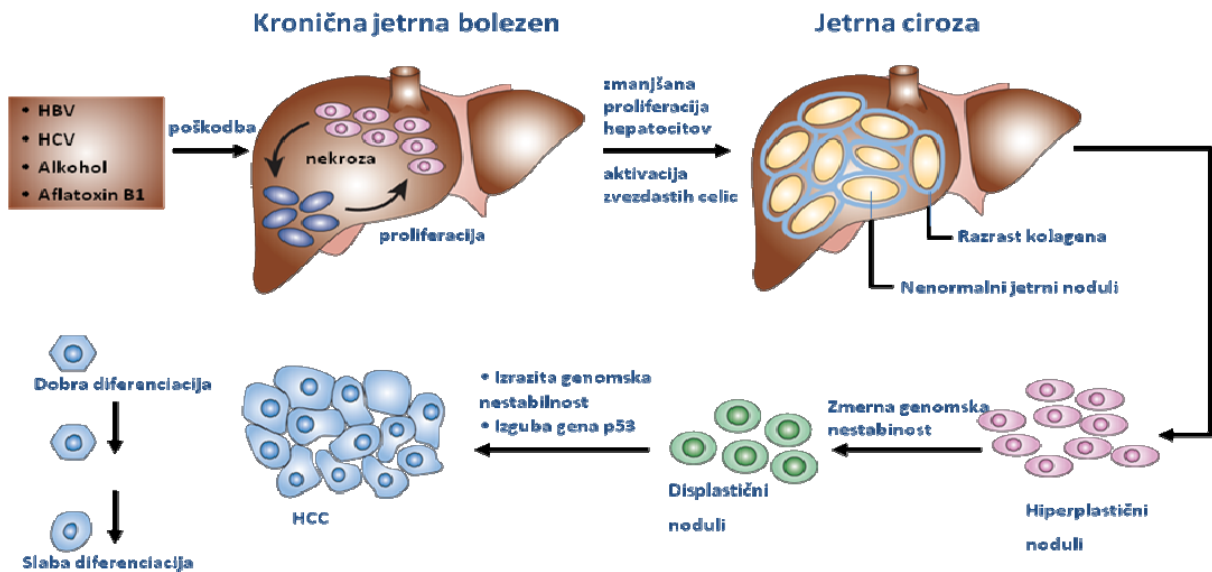
Rak jetrnih celic ali hepatocelularni karcinom (HCC) je najpogostejši primarni rak jeter in predstavlja 90 % vseh primarnih jetrnih malignih tumorjev. Po podatkih American cancer society (ASC) je zaznati porast jetrnega raka predvsem v drugi polovici 20. stoletja. V zadnjih 20-ih letih je tako v Združenih državah Amerike zaznati 70-odstotni porast te bolezni, zlasti med mlajšimi, odstotek obolelih pa narašča tudi v drugih predelih sveta (4). V Združenih državah Amerike je bilo v letu 2009 diagnosticiranih 22.620 novih primerov jetrnega raka, in sicer 16.410 moških in 6210 žensk. Umrlo je 18.160 ljudi (12.090 moških in 6070 žensk). Povprečna starost bolnikov z jetrnim rakom je 64 let. Tako je 90 % ljudi z jetrnim rakom starejših od 45 let, nadalje je 4 % bolnikov starih med 35 in 44 let in manj kot 3 % bolnikov je mlajših od 35 let (5). Povprečna starost bolnikov zajetih v preiskavo za namene te diplomske naloge pa je 67 let.

V globalnem merilu je HCC najbolj pogost v državah subsaharske Afrike ter vzhodne in jugovzhodne Azije (6). Letno na svetu za HCC zbolijo več kot 500.000 ljudi od tega 55 % na Kitajskem (5,7). Slednje ga uvršča na peto mesto najbolj pogostih malignih obolenj (6). Po stopnji umrljivosti pa HCC sodi na tretje mesto, stopnja preživelosti v razvitem svetu je namreč od 3 do 5 % (8). Incidenčna stopnja je torej najvišja na Kitajskem, in sicer pri moških 37,9 na 100.000 prebivalcev, pri ženskah pa 14,2 na 100.000 prebivalcev. Najnižja incidenčna stopnja je v centralni Aziji in severni Evropi, in sicer med 2,6 in 3,4 na 100.000 prebivalcev pri moških ter od 1,4 do 1,7 na 100.000 prebivalcev pri ženskah (8). Po podatkih za Slovenijo je groba incidenčna stopnja na 100.000 prebivalcev pri moških 10,5 in pri ženskah 5,1 (9). Iz navedenih podatkov je razvidno, da je jetrni rak pogostejši pri

moških, kot pri ženskah. Upoštevajoč navedbe ASC je možnost povprečnega moškega, da zboli za jetrnim rakom, 1:100, medtem ko je pri ženskah to razmerje bistveno višje, in sicer 1:217 (5).

### 1.2.2 ETIOLOGIJA

HCC v 60–90 % vznikne v cirotično in posthepatično spremenjenih jetrih (slika 3). Rak jetrnih celic se razvije vsako leto pri 1–6 % bolnikov z jetrno cirozo (10). Med dejavnike povezane z rakom jeter prištevamo cirozo jeter kot posledico kronične infekcije z virusom hepatitisa B (HBV) ali hepatitisa C (HCV), alkoholizma, presnovnih bolezni (hemokromatoza, tirozinemija, pomanjkanje alfa 1-antitripsina, bolezni shranjevanja glikogena, Wilsonova bolezen), okužbe z alfatoksini, ki izvirajo iz kontaminacije žitaric z glivo *Aspergillus flavus* (11). V Združenih državah je poleg alkoholizma pogostejši vzrok HCC-ja infekcija s HCV, medtem ko v Aziji in državah v razvoju prevladuje infekcija s HBV. Virus hepatitisa A (HAV) in hepatitisa E (HEV) lahko prav tako povzročita hepatitis, vendar ne pride do razvoja v kronično obliko in posledično do ciroze. Zatorej ju ne prištevamo med dejavnike povezane z rakom jeter (12). Razvoj ciroze jeter pa lahko povzroči tudi nealkoholni steatohepatitis (NASH). To bolezensko stanje se pojavi pri osebah, ki ne uživajo alkohola in velikokrat poteka brez izrazitih kliničnih znakov. Glavni razlog je kopičenje maščob v jetrnih celicah, v katerih se sproži vnetni proces. O zamaščenosti (steatozi) jeter govorimo, ko maščobe v jetrih presežejo 5 % teže organa. Ko z laboratorijskimi izvidi ugotovimo povišano aktivnost jetrnih encimov (ALT, AST), povišane vrednosti maščob in krvnega sladkorja, in ko ultrazvočna preiskava trebuha potrdi povečana in zamaščena jetra, je za potrditev diagnoze NASH potrebno izvesti še biopsijo jeter. NASH se pogosto pojavi pri ljudeh v srednjih letih s čezmerno prehranjenostjo in inzulinsko rezistenco. Ti bolniki imajo pogosto povišan krvni tlak, povišane vrednosti glukoze, holesterola, trigliceridov, jetrnih encimov (ALT, AST). V Združenih državah Amerike kjer je prekomerna teža že nacionalni zdravstveni problem, so raziskave pokazale, da ima od 10 do 20 % Američanov zamaščena jetra, od tega od 2 do 5 % NASH. V zadnjih desetih letih se je pri odraslih debelost podvojila, pri otrocih pa kar potrojila (13). Histološko ne ločimo nealkoholnega steatohepatitisa od alkoholnega, ker so spremembe enake. Bolezni ločimo le z natančno anamnezo o količini zaužitega alkohola, katerega meja je 20–30 gramov alkohola dnevno (1).



Slika 3: Nastanek HCC.

### 1.2.3 KLINIČNA SLIKA

HCC nima značilne simptomatike. Najpogostejši znak je povečanje jeter ali tvorba v jetrih. Ker se največkrat razvije v cirotičnih jetrih posumimo nanj, kadar se pri bolniku z jetrno cirozo pojavi bolečina v trebuhu, šibkost, utrudljivost, povišana telesna temperatura neznanega izvora, izguba telesne teže in občutek tiščanja ali prisotnosti mase v zgornjem delu trebuha. Nastopi lahko naglo poslabšanje jetrne funkcije, postopno naraščanje vrednosti alfa fetoproteina (AFP) in alkalne fosfataze (AF). Lahko pa so prisotne patološke vrednosti jetrnih testov in pojavijo se znaki jetrne odpovedi: progresivna zlatenica, ascites, podaljšano delovanje zdravil in patološki testi koagulacije (11).

### 1.2.4 DIFERENCIALNA DIAGNOSTIKA

S pomočjo anamneze pridobimo podatke o dejavnih tveganja in simptomih, s kliničnim pregledom pa odkrijemo znake jetrne bolezni. Diagnozo postavimo na podlagi krvnih preiskav, seroloških testov in slikovnih pregledov. Laboratorijske preiskave nam razkrijejo patološke jetrne teste, znake metabolne disfunkcije. Pri bolniku z jetrno cirozo vzbudi sum na HCC nesorazmeren ter nepojasnen dvig AF in GGT. Značilno je zvišanje tumorskega označevalca AFP v serumu, ki običajno presega 500 µg/L. Prva morfološka preiskava pri

bolnikov, za katere sumimo, da imajo HCC je **ultrazvočni pregled (UZ)**, ki lahko pokaže solitaren proces, večje število malih lezij ali difuzni infiltrativni proces. Ultrazvočno se HCC prikaže kot hiperehogeno (predvsem ob večjem deležu maščob v tumorju) ali hipoehogeno okroglasta tvorba, ki jo včasih obkroža rob komprimiranega parenhima. Metoda je široko dostopna, neinvazivna ter najcenejša izmed vseh radioloških tehnik. Z UZ lahko odkrijemo spremembe s premerom 1 cm, tumorje večje od 5 cm pa težko ločimo od metastatskih procesov v jetrih. Slabost UZ je slaba ponovljivost, subjektivnost preiskave in morebitna omejenost kvalitete posnetkov zaradi bolnikove debelosti, interpozicije reber in prisotnosti zraka v desnem zgornjem kvadrantu (1,11). Občutljivost UZ pri odkrivanju HCC pri bolnikih z jetrno cirozo in zdravih nosilcih HBV je 78- oz. 71-odstotna, specifičnost v obeh skupinah je 93-odstotna. (14).

Nadaljnji diagnostični postopki potekajo stopenjsko in racionalno, do tiste stopnje, ko lahko bolniku ponudimo zdravljenje ali ne. Za razliko od drugih malignih tumorjev, zdravljenja HCC ne omejuje le stadij tumorja, ampak tudi stopnja jetrne okvare. Stopnjo jetrne ciroze določimo po Child-Pughovi klasifikaciji (1). Child-Pughova klasifikacija (preglednici I, II) za opredelitev stopnje jetrne ciroze na A, B in C zajema pet klinično pomembnih parametrov, in sicer prisotnost oziroma odsotnost ascitesa, plazemsko koncentracijo bilirubina in albumina ter protrombinski čas in stopnjo encefalopatije. Jetrna encefalopatija je skupek nevroloških in psihiatričnih motenj, ki nastanejo zaradi nesposobnosti cirotičnih jeter za detoksikacijo pri presnovi nastalih za centralno živčevje strupenih snovi. Med njimi ima osrednjo vlogo amoniak, ki ga tvorijo črevesne bakterije iz ostankov dušikovih spojin v blatu. Prek črevesne stene se resorbira v krvni obtok in nato prehaja prek žilno-možganske pregrade v možgane (15).

### Preglednica I: Parametri Child-Pughove klasifikacije

Parameter	Točke		
	1	2	3
Ascites	odsoten	blag	močan
Bilirubin, $\mu\text{mol/L}$	<34	34–50	>50
Albumin, g/L	>35	28–35	<28
INR	<1.8	1.8–2.3	>2.3
Encefalopatija	odsotna	stopnja 1–2*	stopnja 3–4*

\* stopnja 1: motnje spanja, zmanjšana koncentracija, depresija, anksioznost, razdražljivost

stopnja 2: zaspanost, zmedenost, slab kratkotrajni spomin

stopnja 3: motnje zavesti, zmedenost, amnezija, jeza, paranoja, nenavadno obnašanje

stopnja 4: koma

### Preglednica II: Stopnje Child-Pughove klasifikacije in stopnja preživelosti

Stopnja	Točke	Enoletno preživetje bolnika (%)	Dvoletno preživetje bolnika (%)
<b>Child-Pugh A:</b> dobro kompenzirana bolezen	5–6	100	85
<b>Child-Pugh B:</b> delno kompenzirana bolezen	7–9	80	60
<b>Child-Pugh C:</b> dekompenzirana bolezen	10–15	45	35

Tumor torej ugotovimo z ultrazvočnim pregledom in potrdimo z določitvijo koncentracije tumorskega označevalca AFP. Pri napredovali cirozi stopnje C po Child-Pughu, zaradi slabe jetrne funkcije, diagnostike ne nadaljujemo. Pri ohranjeni jetrni funkciji, ki jo opredelimo po Child-Pughu kot stopnjo A ali B, pa diagnostiko nadaljujemo z določanjem stadija tumorja. Najboljše podatke o velikosti tumorja dobimo z uporabo **računalniške tomografije (CT)**, kombinirane z angiografijo hepatične arterije. Pri angiografiji uporabljamo oljno kontrastno sredstvo, ki se selektivno kopiči v malignem tumorjevem žilju, kjer ostaja tudi več tednov, medtem ko iz nebolelih predelov jeter izgine v nekaj dneh. Tako ob klasični angiografiji injiciramo bolnikom lipiodol, čez 10 do 14 dni pa napravimo CT. Prednost CT pred UZ je boljša ponovljivost, ocena razširjenosti malignega procesa, natančnost preiskave lahko povečamo z uporabo kontrastnih sredstev (1). S CT opredelimo tudi morebitno žilno invazijo HCC, težko pa razlikujemo majhne nodule HCC od cirotičnih nodulov. Po priporočilih Ameriške akademije za radiologijo sta za začetno oznako jetrnih sprememb potrebni sodobna CT ali UZ preiskava trebuha, za opredelitev nejasnih sprememb pa se priporoča preiskavo z **magnetno resonanco (MR)** (16). Z MR lahko dobro opredelimo žilno invazijo, slabosti metode so slabša dostopnost, visoka cena in relativna invazivnost. K boljšemu prikazovanju pomaga aplikacija gadolinija, pri čemer je HCC močno ojačan. Uporabljamo pa tudi druga kontrastna sredstva, npr. supermagnetni železov oksid in trinatrijev mangafodipir. MR se kot primarna diagnostična metoda

uporablja v primerih, ko je bolnik alergičen na neionska sredstva ter v primeru maščobne infiltracije jeter (11). V dvomljivih primerih pa poda dokončno diagnozo histološki pregled jetrnega punktata, ki ga dobimo z **ultrazvočno vodeno biopsijo** iz tumorja. Ultrazvočno vodena perkutana biopsija jeter da v 90 % primerov vzorec, primeren za postavitev histološke diagnoze. Redko (0,06–0,32 %) se pri tovrstni diagnostiki pojavijo komplikacije, kot so krvavitev, biliarni peritonitis, penetracija viscere in pnevmotoraks (17). Biopsija ni potrebna v primeru, ko je pri bolnikih z jetrno cirozo viden tumor v jetrih in je koncentracija AFP večja od 500 µg/L (1). Uporabljajo pa se tudi druge nuklearno-medicinske tehnike, kot je scintigrafija z galijem (pozitivna pri 90 % HCC), scintigrafija z žveplovim koloidom, pozitronska emisivna tomografija in druge (11).

### 1.2.5 ZDRAVLJENJE

Zdravljenje je odvisno od velikosti tumorja, jetrne funkcije in splošnega stanja bolnika. Izbiramo med transplantacijo in operacijo ali neoperativnimi načini.

**Presaditev jeter** je najbolj učinkovit način zdravljenja. Zanj se odločamo pri bolnikih, ki imajo tumor manjši od 5 cm, ali imajo manj kot tri tumorje manjše od 3 cm. Ob tem mora biti zadovoljiva jetrna funkcija (jetra ciroza Child A) (11). Petletno preživetje bolnikov s HCC po transplantaciji je 38 %, kar je nizko v primerjavi s petletnim preživetjem po transplantaciji jeter zaradi nemaligne bolezni, ki je 67-odstotna (18). Negativni napovedni dejavniki glede ponovitve bolezni so invazija tumorja v velike žile, tumor večji od 5 cm, multipli jetrni tumorji, metastaze tumorja v bezgavke.

**Resekcija jeter** je kirurška odstranitev dela jeter z namenom, da bi v celoti odstranili tumor. Glede na obseg resekcije razlikujemo lobektomije (operacijska odstranitev režnja), segmentektomije (operacijska odstranitev segmenta) in trisegmentektomije (11). Primerna je za bolnike, ki imajo enega ali dva tumorja manjša od 3 cm in dobro ohranjeno jetrno funkcijo. Zlasti dobro ohranjena jetrna funkcija je predpogoj za uspešno resekcijo jeter. Statistični podatki kažejo, da tudi v primeru skrbno izbranih bolnikov, ki naj bi bili primerni za takšen operativni poseg, 10 % le-teh umre v relativno kratkem času po posegu, in sicer zaradi odpovedi jetrne funkcije. Zaradi navedenega je v praksi zelo majhen odstotek bolnikov s HCC primernih za tovrsten poseg. Kljub navedenemu pa se lahko sicer zdrava jetra po resekciji tudi uspešno regenerirajo. Tudi če odstranimo do tri četrtine jeter, ta v pol leta zrastejo do enake gmote kot pred resekcijo. Res je, da ne dobijo nazaj prvotne

oblike, so pa funkcionalno enako sposobna kot pred operacijo. Pri jetrni cirozi je obnavljanje jeter zelo okrnjeno ali pa je celo nično. Pri bolnikih z uspešno odstranjenimi tumorji je petletno preživetje 35,8-odstotno. Lahko pa pride do ponovnega vznika HCC drugje v jetrih (19).

Med neoperativne načine zdravljenja prištevamo perkutano alkoholno sklerozacijo (PEI), radiofrekvenčno ablacijo (RFA) in transarterijsko kemoembolizacijo (TACE) (1).

Pri PEI poskušamo tumor uničiti neposredno z aplikacijo absolutnega alkohola preko zelo tanke igle ob UZ ali CT nadzoru. Alkohol povzroči dehidracijo tumorskih celic in s tem denaturacijo celičnih proteinov. PEI uporabljamo pri bolnikih, ki imajo manj kot tri tumorje in so le ti manjši od 3 cm, poleg tega ne smejo biti prisotni znaki kronične odpovedi jeter (ascites, zlatenica). Pomembno je tudi, da tumor ni blizu velikih žil. Poseg je razmeroma preprost in poceni. Slabost metode pa je uhajanje alkohola na površino jeter in v trebušno votlino, kar povzroča bolečino in pojav vročine (20). Alkoholizacija HCC v cirotičnih jetrih je dala dobre rezultate s 5-letnim preživetjem, pri stopnji A po Child-Pughu do 50 % in pri stopnji B po Child-Pughu do 12 % (21).

RFA je zelo natančna preiskava, pri kateri zdravnik vodi iglo-sondo, ciljano v tumor, pod kontrolo UZ, CT ali MR. Ko je sonda na svojem mestu, se iz konice igle razprejo zelo tanke fleksibilne žice-elektrode. Po vključitvi električnega generatorja se elektrode segrejejo in oddajajo toploto v želeno področje. Tkivo se segreva do temperature 90 stopinj. Toplota tako uničuje in razgrajuje tumorsko tkivo. Le-to se razgradi in absorbira po naravnih poteh v telesu. RFA je možno izvesti na tri načine: *perkutani postopek*, ki poteka skozi kožo pod kontrolo UZ, CT ali MR in je minimalno invaziven; *laparoskopski postopek*, ki poteka pod vplivom splošne anestezije skozi kožo s posebnimi inštrumenti za gledanje in je srednje invaziven, potrebnih pa je več manjših rezov na koži; *odprti kirurški postopek*, ki dovoljuje zdravniku, da pred posegom vidi tumor in je najbolj invaziven. RFA je učinkovita metoda, s katero lahko odstranimo do 5 cm velik tumor ali do tri tumorje, ki so manjši od 3 cm. Postopek RFA se lahko ponavlja, če tumor ponovno zraste. Slabost RFA pa je verjetnost kožnih opeklin, krvavitvev, nabiranja tekočin, poškodbe struktur ob tumorju ali nastanka vnetij, ki pa je zelo nizka (22). Petletna prospektivna študija preživetja bolnikov, ki so bili zdravljeni z RFA, je bila po enem letu 97-odstotna, po dveh letih 89-odstotna, po treh letih 71-odstotna, po štirih letih 57-odstotna in po petih letih 48-odstotna. Lokalna ponovitev bolezni po enem letu je bila 4-odstotna, po treh letih 10-odstotna in po petih letih prav tako 10-odstotna (23).

**TACE** je postopek, ko preko jetrnega žilja s katetrom dosežejo tumor v jetrih, v katerega vbrizgajo citostatik (mitomicin) in embolizacijsko sredstvo. Najbolj razširjeno makroembolizacijsko sredstvo je gelfoam, ki deluje zgolj na tumor in sodeč po podatkih eksperimentalne študije ni škodljiv za preostalo jetrno tkivo. Kot mikroembolizacijsko sredstvo pa se uporablja Lipiodol, ki se kopiči v tumorskem tkivu in deluje kot kontrastno sredstvo. Namen TACE je zavreti rast in zamašiti prehranjevalno žilje tumorja. Poseg opravijo pri solitarnih tumorjih večjih od 5 cm in pri treh ali več tumorjih manjših od 3 cm. S to metodo, ki jo sicer uporabljamo kot začetno zdravljenje pred operacijo, lahko včasih tako zmanjšamo tumor, da uspemo prej neodstranljivi tumor operativno odstraniti. Rezultati študije preživetja bolnikov, pri katerih je bila uporabljena ta metoda, so sledeči: po enem letu 57-odstotna, po dveh letih 31-odstotna in po treh letih 26-odstotna. Rezultati prospektivne študije, ki je primerjala stopnjo preživetja pri resekciji in TACE niso pokazali bistvenih razlik med navedenima metodama (24).

**Sistemska kemoterapija** z uporabo 5-fluorouracila, doksorubicina, cisplatina, epirubicina, itn., se uporablja kot paliativno zdravljenje, žal pa bistveno ne podaljša preživetja (25). Kemoterapija pri primarnem jetrnem raku torej ni najbolj učinkovita, je pa zato več učinkov pokazalo **zdravljenje s tarčnim zdravilom Nexavar** z zdravilno učinkovino **sorafenib**. Sorafenib je peroralni multikinazni zaviralec, ki zavira serin-treoninski kinazi Raf-1 in B-Raf ter aktivnost receptorja tirozin kinaze za žilni endotelijski rastni faktor (VEGFR) 1, 2 in 3 in receptorja za trombocitni rastni faktor  $\beta$  (PDGFR- $\beta$ ) (26). Zavira razrast (proliferacijo) tumorskih celic, razrast tumorskega žilja (angiogenezo) in pospeši celično smrt. To celično signaliziranje preko Raf/MEK/ERK in poti VEGF je pomembno v razvoju primarnega jetrnega raka, zato je njegovo zaviranje možna pot ozdravitve (27). Deluje tako, da upočasnjuje rast rakastih celic, in da prekine dotok krvi, ki oskrbuje tumor. Raf signalna pot v rakavih celicah je odgovorna za nekontrolirano rast rakavih celic. Raf serin/treonin kinaze fosforilirajo in aktivirajo MEK, ki fosforilira in aktivira ERK. Aktivirana ERK je ključ Raf/MEK/ERK signalne poti in se s translokacijo prenese v jedro, kjer fosforilira in regulira različne transkripcijske faktorje, kar vodi do sprememb v genski ekspresiji. Sorafenib zavira ERK fosforilacijo (28). Ta zdravilna učinkovina sodi v skupino tarčnih zdravil, ki jih tako poimenujemo, ker je njihovo delovanje usmerjeno proti določenim tarčam v signalnih celičnih poteh. Pri sorafenibu so takšne tarče najštevilčnejše v tumorskih celicah in celicah sten žil, ki prehranjujejo primarni tumor ter tudi njegove razsevke drugje po telesu.



Poleg zdravljenja bolnikov s HCC, se sorafenib uporablja tudi za zdravljenje bolnikov z napredujočim rakom ledvičnih celic. Ker je število teh bolnikov majhno, veljata boleznici za redki, zato je bilo zdravilo Nexavar določeno kot »zdravilo sirota«. Priporočen odmerek je 400 mg (dve tableti po 200 mg) dvakrat dnevno, brez hrane ali z malo oziroma zmerno mastno hrano. Če se ga zaužije z zelo mastno hrano, se njegova absorpcija v primerjavi s tisto po zaužitju na tešče zmanjša za 30 %. Po peroralni uporabi je plazemska koncentracija sorafeniba največja v približno treh urah. Presnovi se predvsem v jetrih, in sicer z oksidacijsko presnovo, pri kateri posreduje CYP3A4, in glukuronizacijo, pri kateri posreduje UGT1A9. Pri bolnikih s HCC z blago ali zmerno hudo jetrno okvaro (Child-Pugh A in B) so bile vrednosti izpostavljenosti primerljive in v okviru tistih, ki so jih ugotovili pri bolnikih brez jetrne okvare. Tako tem bolnikom odmerka sorafeniba ni potrebno prilagajati, medtem ko podatkov za bolnike s hudo jetrno okvaro (Child-Pugh C) ni. Prav tako bolnikom z blago, zmerno ali hudo okvaro ledvic odmerka ni treba prilagajati, za bolnike, ki potrebujejo dializo pa ni podatkov. Razpolovna doba izločanja sorafeniba je približno od 25 do 48 ur. Izloča se z žolčem v črevo. Zdravljenje traja tako dolgo, dokler je opaziti njegovo klinično koristnost oziroma dokler neželeni učinki zdravljenja niso prekomerno izraženi (29).

Učinke sorafeniba so preučevali v študiji SHARP (sorafenib HCC assessment randomised protocol), ki je bila mednarodna, multicentrična, randomizirana, dvojno slepa, s placebom kontrolirana študija III. faze pri 602 bolnikih s karcinomom jetrnih celic. Bolnikov, ki so prejeli sorafenib, je bilo 299, ostali so prejeli placebo. Demografske in izhodiščne značilnosti bolezni (preglednica III) so bile med skupino, ki se je zdravila s sorafenibom (400mg dvakrat dnevno) in skupino, ki je dobivala placebo, primerljive glede na stanje po ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group; preglednica IV) in po barcelonski klasifikaciji BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer). Študija je vključevala bolnike z jetrno cirozo stopnje A in B po Child-Pughu, vendar je za stopnjo B na voljo le malo podatkov. Rezultati študije so pokazali, da se je bolnikom, ki so prejeli sorafenib preživetje podaljšalo za 44 % v primerjavi z bolniki, ki so prejeli placebo. Mediana preživetja bolnikov, ki so prejeli sorafenib je bila 10,7 mesecev, medtem ko pri bolnikih, ki so prejeli placebo 7,9 mesecev. Mediana časa do napredovanja bolezni pri bolnikih, ki so prejeli sorafenib je bila 5,5 mesecev, pri placebo skupini pa skoraj polovico manjša, in sicer 2,8 meseca (30). Analiza je torej pokazala statistično značilno prednost sorafeniba pred placebom. Na podlagi rezultatov študije SHARP, so zdravilo Nexavar odobrili v 60-ih

državah. Evropska komisija je dovoljenje za promet z zdravilom Nexavar, veljavno po vsej Evropski uniji, odobrila družbi Bayer HealthCare, oktobra 2007 (29).

**Preglednica III: Demografske in izhodiščne značilnosti bolezn**

Spremenljivka, n (%)	sorafenib (n=299)	placebo (n=303)
<b>moški</b>	260 (87 %)	264 (87 %)
<b>povprečna starost (v letih)</b>	64,9	66,3
<b>regija</b>		
Evropa in Avstralija	263 (88 %)	263 (87 %)
Severna Amerika	27 (9 %)	29 (10 %)
Centralna in južna Amerika	9 (3 %)	11 (4 %)
<b>MVP* in/ali EŠ**</b>		
odsoten	90 (30 %)	91 (30 %)
prisoten	209 (70 %)	212 (70 %)
<b>ECOG</b>		
0	161 (54 %)	164 (54 %)
1	114 (38 %)	117 (39 %)
2	24 (8 %)	22 (7 %)
<b>BCLC</b>		
faza B	54 (18 %)	51 (17%)
faza C	244 (82 %)	252 (83%)
<b>Child – Pugh stopnja</b>		
A	284 (95 %)	297 (98 %)
B	14 (5 %)	6 (2 %)

\* MVP = makroskopska vaskularna prizadetost \*\*EŠ = ekstrahepatično širjenje

**Preglednica IV: ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group)**

Stopnja	ECOG
0	bolnik v odlični fizični kondiciji
1	bolnik ima omejitve pri fizičnem naporu in aktivnostih, vendar je sposoben opravljati lažja dela (v sedečem položaju, pisarniško delo, lažja hišna opravila)
2	bolnik je sposoben sam skrbeti zase, vendar ni sposoben opravljati nobenega dela
3	bolnik ni sposoben v celoti sam skrbeti zase, več kot 50 odstotkov časa je prikovan na posteljo
4	popolnoma nesposoben, nezmožen samooskrbe (nepokreten)
5	smrt

Barcelonska klasifikacija BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) obsega 4 stadije: **A:** vključuje bolnike, ki imajo asimptomatski tumor primeren za radikalno terapijo: resekcija, transplantacija ali perkutano zdravljenje; **B:** bolniki z asimptomatskim multinodularnim HCC; **C:** bolniki s simptomatskim tumorjem in/ali z invazivnim tumorskim vzorcem

(vaskularna invazija, ekstrahepatično širjenje); **D:** bolniki, ki lahko prejmejo le simptomatsko zdravljenje (31).

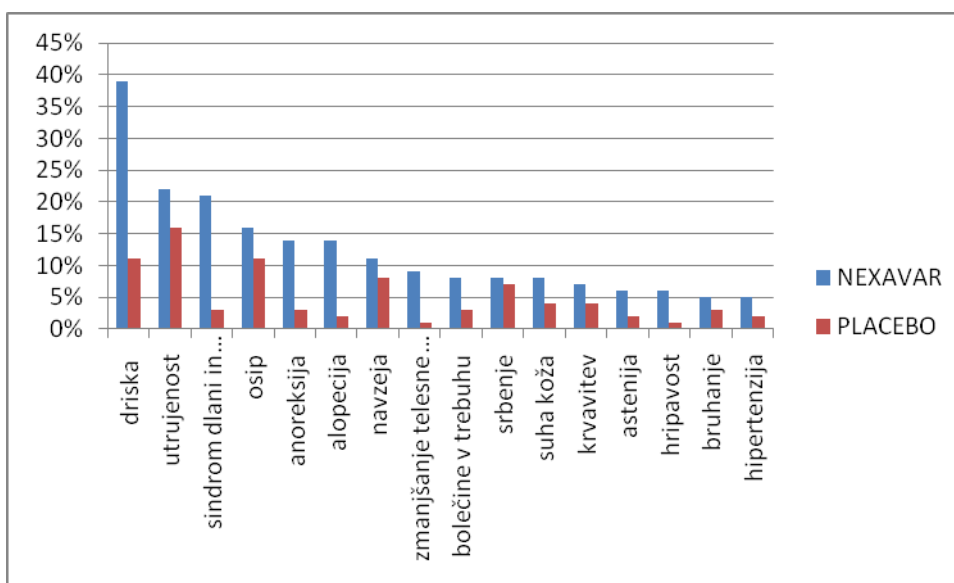
Po nekajletnih izkušnjah s sorafenibom velja dejstvo, da bolniki to zdravilno učinkovino na splošno precej dobro prenašajo, kljub vsemu pa se večina bolnikov med zdravljenjem sreča tudi z neželenimi učinki takšnega zdravljenja (preglednica V). Sorafenib lahko vpliva tudi na rezultate nekaterih krvnih testov. Poročali so o limfopeniji, hipofosfatemiji, zvečanih vrednostih lipaze in amilaze.

**Preglednica V: Neželeni učinki, opisani pri vsaj 5 % bolnikov v katerikoli terapevtski skupini pri HCC**

neželeni učinek	sorafenib n = 297			placebo n = 302		
	vse stopnje *	3. stopnja	4. stopnja	vse stopnje	3. stopnja	4. stopnja
driska	39 %	8 %	0 %	11 %	2 %	0 %
utrujenost	22 %	3 %	1 %	16 %	3 %	< 1 %
sindrom dlani in podplato	21 %	8 %	0 %	3 %	< 1 %	0 %
osip	16 %	1 %	0 %	11 %	0 %	0 %
anoreksija	14 %	< 1 %	0 %	3 %	1 %	0 %
alopecija	14 %	0 %	0 %	2 %	0 %	0 %
navzeja	11 %	< 1 %	0 %	8 %	1 %	0 %
zmanjšanje telesne mase	9 %	2 %	0 %	1 %	0 %	0 %
bolečine v trebuhu	8 %	2 %	0 %	3 %	1 %	0 %
srbenje	8 %	0 %	0 %	7 %	< 1 %	0 %
suha koža	8 %	0 %	0 %	4 %	0 %	0 %
krvavitev	7 %	1 %	0 %	4 %	1 %	< 1 %
astenija	6 %	1 %	< 1 %	2 %	< 1 %	0 %
hripavost	6 %	0 %	0 %	1 %	0 %	0 %
bruhanje	5 %	1 %	0 %	3 %	1 %	0 %
hipertenzija	5 %	2 %	0 %	2 %	1 %	0 %

Stopnja	*stopnje neželenih učinkov zdravljenja po CTCAE (common terminology criteria for adverse events)
0	brez neželenih učinkov
1	blagi neželeni učinki
2	zmerni neželeni učinki
3	težki neželeni učinki
4	življenje ogrožujoče stanje
5	smrt

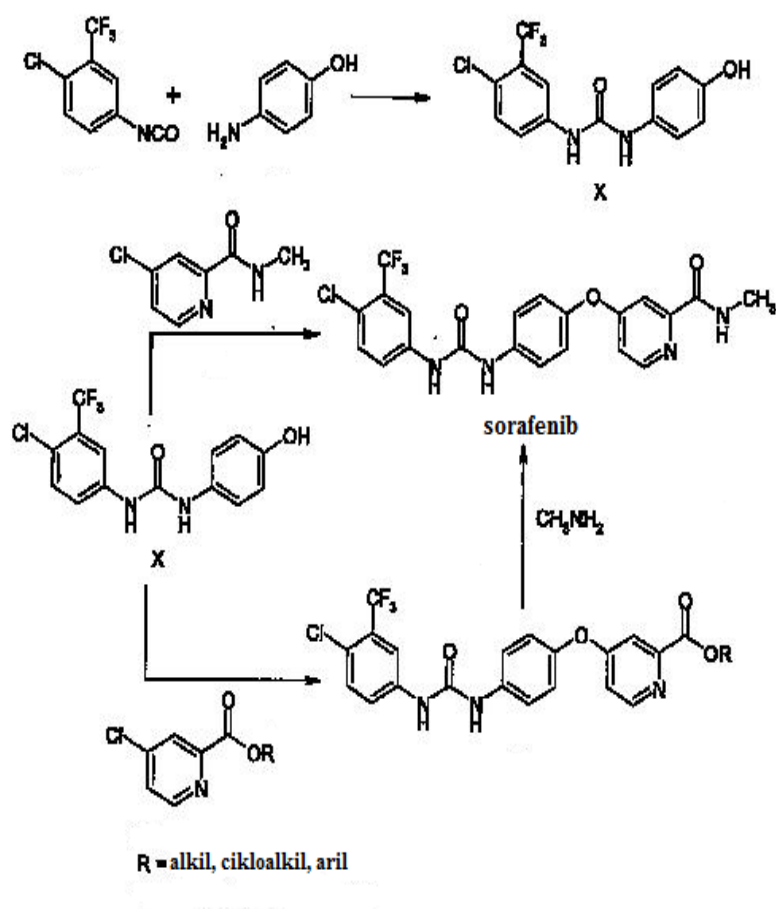
**Graf 1: Pogostost posameznih neželenih učinkov (vse stopnje) izražena v odstotkih**



Nekatera zdravila lahko vplivajo na sorafenib, prav tako pa lahko tudi sorafenib vpliva na nekatera zdravila. Kot že povedano se sorafenib presnovi predvsem v jetrih, in sicer z oksidacijsko presnovo, pri kateri posreduje CYP3A4, in z glukuronizacijo, pri kateri posreduje UGT1A9. Induktorji aktivnosti CYP3A4 ali glukuronidacije (na primer šentjanževka, fenitoin, karbamazepin, fenobarbital in deksametazon) ali obojega, lahko zvečajo presnovo sorafeniba in tako zmanjšajo njegovo plazemsko koncentracijo. Zmanjšanja plazemske koncentracije sorafeniba ni možno izključiti tudi pri sočasni uporabi zdravil za kislinsko pogojene bolezni (antacidi, antagonisti receptorjev H<sub>2</sub> ali zaviralci protonske črpalke), ker se topnost sorafeniba zmanjša z zvečanjem pH. Možnosti zvečanja koncentracij s sorafenibom sočasno predpisanih substratov CYP2C9 (na primer varfarin, fenprokumon), CYP2B6 (na primer bupropion, ciklofosamid, efavirenz, ifosamid, metadon) in CYP2C8 (na primer paklitaksel, amodiakvin, repaglinid), prav tako

ni možno izključiti. Previdnost je potrebna tudi pri sočasni uporabi sorafeniba in drugih antineoplazemskih učinkovin (doksorubicin, irinotekan, docetaksel) ter pri uporabi digoksina (29).

Sorafenib je edini odobreni peroralni antiangiogenik, ki se je izkazal za učinkovitega v sistemskem zdravljenju napredovalega primarnega raka jeter, katerega prednost je tudi peroralna oblika, tako da ga lahko bolniki jemljejo doma. Gre za sintezno pridobljeno nizkomolekularno molekulo, sinteza je prikazana na sliki 4.



**Slika 4:** Sinteza sorafeniba

(kemično ime sorafeniba je 4-(4-{3-[4-kloro-3-(trifluorometil)fenil]ureido}fenoksi)-*N*<sup>2</sup>-methylpiridin-2-karboxamid, molekulska formula pa  $C_{21}H_{16}ClF_3N_4O_3$ ).

### 1.3 TUMORSKI OZNAČEVALEC ALFA FETOPROTEIN (AFP)

Tumorski označevalci so snovi, ki so produkti malignih celic ali snovi, ki so nastale v drugih celicah pod vplivom delovanja malignih celic. Določamo jih v telesnih tekočinah, najpogosteje v serumu ali plazmi. Tumorski označevalci so lahko bodisi novosintetizirane snovi, kakršnih v zdravem organizmu ne najdemo, bodisi snovi, ki so običajno prisotne v veliko manjših koncentracijah. Določanje tumorskih označevalcev nam lahko pomaga pri diagnozi bolezni, napredovanju njenega poteka, določanju stadija bolezni, izbiri načina zdravljenja ter pri zgodnjem odkrivanju ponovitve in razširitve bolezni. Idealen tumorski označevalec naj bi bil prisoten samo v tumorskih celicah, značilen naj bi bil za organ in vrsto tumorja, določljiv v serumu vseh bolnikov z istim tipom tumorja, tvoril naj bi se v zadostnih količinah in bil dokazljiv v serumu že na začetku razvoja tumorja, njegove serumske koncentracije pa naj bi odražale dinamiko rasti tumorske mase oziroma velikost tumorske mase. Poleg tega naj bi bile serumske koncentracije uporabne kot napovedni dejavnik poteka bolezni, pri bolnikih z določenim tipom tumorja.

**AFP** so leta 1963 odkrili v serumu mišk s HCC. Je glikoprotein z molsko maso okrog 70 kDa in z razpolovnim časom 5 dni. Pri odraslih je AFP v krvi v izredno majhnih koncentracijah, povečane serumske koncentracije (več kot 10 µg/L) pa zasledimo ob akutnem virusnem hepatitisu, jetrni cirozi, obstruktivnem ikterusu in pri nekaterih rakavih obolenjih, kot so rak trebušne slinavke, pljuč in želodca. Povišano vrednost AFP najdemo tudi med nosečnostjo. Poseben pomen ima spremljanje AFP pri bolnikih s HCC, kjer so koncentracije AFP nad 1200 µg/L tako rekoč potrditev primarnega jetrnega raka. AFP je nespecifičen biološki marker, povišan pri 50–70 % bolnikov s HCC. Njegova vrednost je višja tudi pri nekaterih bolnikih z germinativnimi tumorji (rak testisov in jajčnikov) (32, 33). Občutljivost AFP za spremljanje in diagnosticiranje HCC je 52–80 %, specifičnost AFP pa 90–98 % (34). Občutljivost označevalca pove, pri kolikšnem deležu bolnikov z določenim tumorjem je nivo označevalca povišan. Čim večji je delež bolnikov z istovrstnim tumorjem, pri katerih je nivo povišan, tem bolj občutljiv je označevalec. Specifičnost pa predstavlja delež preiskovancev, ki nimajo rakavega obolenja in imajo normalno koncentracijo tumorskega označevalca. To pomeni, da je označevalec tem bolj specifičen, čim manjkrat je prisoten pri ljudeh brez določene vrste tumorja. Idealen

tumorski označevalec naj bi bil potemtakem 100-odstotno občutljiv in specifičen za neko rakavo obolenje, njegova referenčna vrednost pa naj bi bila 0. Referenčna vrednost je tista arbitrarno določena koncentracija označevalca, nad katero govorimo o povišanih vrednostih. Glede na to, da kot tumorske označevalce uporabljamo snovi, ki so prisotne tudi v drugih celicah, je referenčna vrednost vedno večja od 0 in je postavljena tako, da dosežemo kompromis med specifičnostjo in občutljivostjo označevalca. Večanje specifičnosti za določen označevalec pomeni istočasno zmanjšanje njegove občutljivosti in obratno. Z drugimi besedami, referenčno vrednost moramo postaviti tako, da imamo čim manj lažno negativnih in čim manj lažno pozitivnih rezultatov (32, 33).

Študije so pokazale, da je celotno preživetje bolnikov s HCC z normalno koncentracijo AFP (2298 dni) signifikantno večje kot pri bolnikih, ki imajo koncentracijo AFP večjo od 20 µg/L (1350 dni). Preživetje bolnikov z normalno koncentracijo AFP je bilo po enem letu 93-odstotno, po treh letih 83-odstotno in po petih letih 70-odstotno. Medtem ko je bilo pri bolnikih z višjo koncentracijo AFP (> 20 µg/L) preživetje po enem letu 82-odstotno, po treh letih 56-odstotno in po petih letih 47-odstotno (35). Neka druga študija je vključevala 260 bolnikov s cirozo jeter. HCC se je razvil pri 26 % tistih cirotičnih bolnikov, ki so imeli koncentracijo AFP konstantno nižjo od 20 µg/L in kar pri 46 % tistih bolnikov, pri katerih so bile izmerjene višje koncentracije AFP (> 20 µg/L). Poleg tega pa že občasen in za kratek čas trajajoč dvig koncentracije AFP na okoli 100 µg/L pri bolnikih s cirozo jeter, predstavlja signifikantno višje tveganje za razvoj HCC (36).

## **2. NAMEN DELA**

Namen moje diplomske naloge je ovrednotiti pomen določanja koncentracije tumorskega označevalca AFP pri skupini bolnikov s potrjeno diagnozo HCC, ugotoviti, kakšna je vrednost AFP pred terapijo in kako se le-ta spreminja med terapijo s sorafenibom. Nexavar je namreč prvo registrirano zdravilo, ki se je izkazalo za učinkovito v sistemske zdravljenju napredovalega primarnega raka jeter. Skušali bomo ugotoviti tudi, zakaj določeni obravnavani bolniki niso bili primerni za zdravljenje s sorafenibom. Poleg tega nas je zanimalo tudi, kakšna je velikost tumorja pri posameznih bolnikih in ali se le-ta spreminja med omenjeno terapijo. Poleg navedenega smo pri bolnikih s HCC spremljali še aktivnost jetrnega parenhima in splošno stanje bolnikov. Koncentracijo AFP bomo določili s kemiluminiscenčno imunološko sendvič metodo, s pomočjo LIAISON analizatorja. Pri delu bomo iz podatkov o spolu, starosti in kliničnem ozadju bolezni določili skupine z večjim tveganjem za nastanek HCC.

Na podlagi znanih podatkov o sorafenibu pričakujemo, da bo v času terapije velikost tumorja mirovala ali se celo zmanjšala, posledično pa se bo znižala tudi koncentracija AFP. Pričakujemo tudi, da bo koncentracija AFP višja ob prisotnosti večjega tumorja in prisotnosti metastaz.



### **3. MATERIALI IN METODE**

#### **3.1 KLINIČNI DEL**

Na Gastroenterološki interni kliniki, Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani, smo obravnavali 49 bolnikov s HCC. Od tega 44 bolnikov moškega spola (89,8 %) s povprečno starostjo ob postavitvi diagnoze 65,7 let in 5 bolnikov ženskega spola (10,2 %) s povprečno starostjo 78,6 let. Diagnoza je bila postavljena na podlagi krvnih preiskav, seroloških testov ter slikovnih pregledov s pomočjo UZ in CT trebuha, s čimer je bil izmerjen premer tumorja. Za opredelitev nejasnih sprememb pride v poštev MR jeter in biopsija novotvorbe. Ker pa zdravljenja HCC ne omejuje le velikost tumorja, ampak tudi stopnja jetrne ciroze, le-to določimo po Child-Pughovi klasifikaciji. Bolniki so bili zdravljeni z različnimi metodami zdravljenja. Bolnikov primernih za zdravljenje s sorafenibom je bilo 18 (36,7 %), prav tako je bilo 18 bolnikov takšnih, ki so prejeli le simptomatsko zdravljenje.

#### **3.2 EKSPERIMENTALNI DEL**

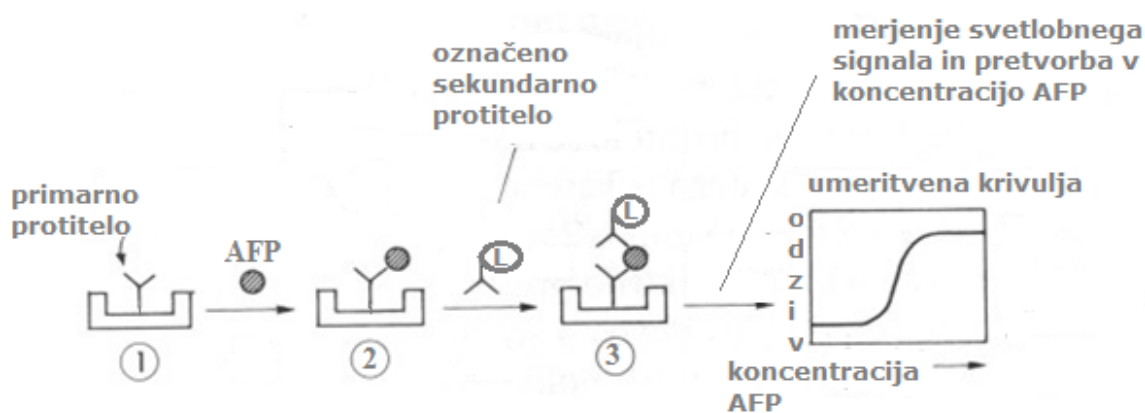
Tumorski označevalci so v telesnih tekočinah prisotni v nizkih koncentracijah, zato potrebujemo za njihovo določevanje visoko občutljive metode. Uporabljajo se različne tehnike kot radioimunska metoda, encimskoimunska metoda in kemiluminiscenčna imunološka sendvič metoda, ki se med seboj razlikujejo po spojini, ki je vezana na detekcijska protitelesa in po načinu detekcije nastalih kompleksov. Kemiluminiscenčno imunološko sendvič metodo smo uporabili za kvantitativno določanje AFP. Meritve smo opravili na avtomatskem analizatorju LIAISON (REF 314471) proizvajalca DiaSorin (slika 5). V serumu shranjenim pri -20 °C smo torej s kemiluminiscenčno imunološko sendvič metodo s pomočjo LIAISON analizatorja izmerili koncentracijo AFP.



Slika 5: Analizator LIAISON.

### 3.2.1 PRINCIP KEMILUMINISCENČNE IMUNOLOŠKE SENDVIČ METODE

Specifična mišja monoklonska protitelesa so vezana na magnetne delce (trdni nosilec), na sekundarno monoklonsko protitelo pa je vezan izoluminolni derivat (konjugat izoluminol-protitelesa). Med prvo inkubacijo se AFP, prisoten v vzorcu, veže na trdno fazo monoklonskega protitelesa. Po izpiranju sledi druga inkubacija, kjer sekundarno protitelo reagira z AFP vezanim na trden nosilec. Po inkubaciji se nevezan material odstrani s spiranjem. Na koncu se doda start reagent, ki povzroči svetlobno kemiluminiscenčno reakcijo. Svetlobni signal izmeri fotopomnoževalnik v relativnih svetlobnih enotah (RLU), ki jih računalnik avtomatsko pretvori v vrednosti IU/ml kar ustreza  $1,21 \mu\text{g/L}$ . Količina sproščene svetlobe je torej sorazmerna koncentraciji AFP.



Slika 6: Kemiluminiscenčna imunološka sendvič metoda.

### 3.2.2 MATERIALI

Uporabili smo komplet reagentov za 100 določitev, pripravljenih za direktno uporabo:

- 2,3 ml suspenzije magnetnih delcev (magnetni delci prekriti z mišjimi monoklonskimi AFP-protitelesi),
- 1,0 ml kalibratorja (nizek),
- 1,0 ml kalibratorja (visok),
- 23 ml raztopine sekundarnih protiteles (mišja monoklonska AFP-protitelesa označena z izoluminolom),
- 23 ml reakcijskega pufra,
- 25 ml topila.

Ostali material:

- modul LIAISON (REF 319130),
- start reagent LIAISON (REF 319102),
- kontrola za oddano svetlobo LIAISON (REF 319101),
- tekočina za izpiranje LIAISON (REF 319100),
- odpadne vrečke LIAISON (REF 450003),
- multikontrola tumorskih označevalcev LIAISON (REF 319109),
- komplet za čiščenje LIAISON (REF 310990).

### 3.2.3 PRIPRAVA REAGENTOV

Reagente pripravimo tako, da jih pred uporabo horizontalno previdno pretresemo, pri čemer se izogibamo nastanku pene. Odstranimo pokrov z vsake posodice in obračamo kolešček na dnu posode z magnetnimi delci, dokler ne nastane usedlina rjave barve. To povzroči resuspenzijo magnetnih delcev. Nato postavimo komplet reagentov v ustrezen prostor v analizatorju. Pred uporabo pustimo stati 30 minut, med tem pa analizator premeša in resuspendira magnetne delce.

### 3.2.4 PRIPRAVA VZORCEV

Vzorčni material je bil serum. Pred uporabo je bil zamrznjen pri  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , shranjen pa samostojno, ločen od sedimenta. Pred izvajanjem metode smo shranjene vzorce dobro

premešali s pomočjo Vortex mešalnika. Hemolizirane ali lipemične vzorce in vzorce, ki so bili mikrobiološko kontaminirani, nismo uporabljali za določanje AFP. Minimalen volumen vzorca potreben za enkratno določitev je 175 µl.

### 3.2.5 KALIBRACIJA ANALIZATORJA

Kalibracija (umerjanje) je primerjanje odziva instrumenta s standardom. Njen namen je zmanjševanje sistemskih napak. Kalibracijo je potrebno izvesti:

- po dveh tednih in/ali vsakič, ko je uporabljen nov komplet reagentov,
- ko je analizator servisiran,
- ko ležijo kontrolne koncentracije izven pričakovanih vrednosti,
- ko se sobna temperatura spremeni za 5 °C ali več.

### 3.2.6 POTEK DELA

Analizator smo upravljali v skladu z navodili proizvajalca. Vsi testni parametri so bili označeni s črtnimi kodami, ki jih aparat prepozna in mu omogočajo prepoznavanje vsebine. V kolikor se čitalec pokvari, je mogoče kodo vnesti tudi ročno.

Postopek analizatorja je bil sledeč:

- 25 µl vzorca, kalibratorja ali kontrole,
- 200 µl reakcijskega pufra,
- 20 µl suspenzije magnetnih delcev prekritih z mišjimi monoklonskimi AFP-protitelesi,

analizator pomeša in 10 minut inkubira, sledi izpiranje, nato analizator doda še

- 200 µl raztopine sekundarnega protitelesa

in še enkrat inkubira za 10 minut, ponovno sledi izpiranje in merjenje oddane svetlobe.

Vzorci in reagenti so bili odmerjeni avtomatsko, prav tako računalniški program samodejno izračuna rezultat v zelenih enotah na podlagi umeritvene krivulje.

### 3.2.7 SPECIFIČNE KARAKTERISTIKE ANALIZATORJA

- **Analitična specifičnost**

Analitična specifičnost je sposobnost metode za natančno določitev specifičnega analita v prisotnosti potencialnih motečih snovi v vzorcu. Študije za nadzorovanje motečih snovi so pokazale, da koncentracije bilirubina do 214  $\mu\text{mol/L}$ , hemoglobina do 1,6 mg/L ali trigliceridov do 12,5 g/L ne vplivajo na merjenje.

- **Natančnost**

Različni vzorci, z različnimi koncentracijami AFP, so bili analizirani za ocenitev ponovljivosti ter obnovljivosti znotraj in med analiznimi postopki (preglednica VI).

**Preglednica VI: intra-analizna in inter-analizna variacija**

intra-analizna variacija			inter-analizna variacija		
povprečna vrednost (kU/L)	CV (%)	n (število merjenj)	povprečna vrednost (kU/L)	CV (%)	n (število merjenj)
19,9	2,3	20	24,1	2,9	9
77,3	2,3	20	67,8	6,5	8
241,8	1,5	20	93,6	5,2	13
461,5	2,2	20	252,3	6,7	12

- **Točnost**

Točnost je bila preverjena z redčitvenim testom in testom ponovljivosti.

*Redčitveni test:* vzorce, ki so vsebovali visoke koncentracije AFP, smo testirali nerazredčene in po različnih razredčitvah z vzorčnim topilom. Pričakovane vrednosti meritev so bile določene z linearno regresijo (preglednica VII).

**Preglednica VII: Koncentracija AFP v serumu razredčenim z vzorčnim topilom**

Osnovna koncentracija AFP = 614 kU/L

Redčenje	Izmerjene vrednosti (kU/L)	Pričakovana vrednost (kU/L)	Ponovljivost (%)
1 : 1,25	513,4	491,2	105
1 : 1,67	244,6	245,6	100
1 : 2,50	119,3	122,8	97
1 : 10,0	55,3	61,4	90

*Test ponovljivosti:* vzorcem z različnimi koncentracijami AFP so bile opravljene meritve za ocenitev ponovljivosti.

**Preglednica VIII: Ocena ponovljivosti**

Izmerjena vrednost (kU/L)	Pričakovana vrednost (kU/L)	Ponovljivost (%)
602,2	614,8	98
491,9	499,1	99
374,6	383,4	98
268,9	267,7	100
149,7	152,0	98

- **Analitična občutljivost**

Analitična občutljivost je definirana kot najmanjša količina snovi, ki jo lahko natančno zaznamo. Meja detekcije je 0,2 kU AFP/L.

#### **4. REZULTATI IN RAZPRAVA**

Na Gastroenterološki interni kliniki, Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani, je bilo v obdobju od leta 2006 do 2009 diagnosticiranih 49 bolnikov s HCC, 44 bolnikov moškega spola (89,8 %) s povprečno starostjo ob postavitvi diagnoze 65,7 let in 5 ženskega spola (10,2 %) s povprečno starostjo 78,6 let. Starost bolnikov je bila od 50 do 86 let. Med dejavnike povezane z rakom jeter je bila v 40,8 % prisotna ciroza jeter etilne etiologije, 10,2 % bolnikov je bila okuženih z virusom hepatitisa C in 2,0 % bolnikov z virusom hepatitisa B. Pri ostalih bolnikih podatek ni bil podan. Stopnja jetrne ciroze, določena po Child-Pughovi klasifikaciji, je bila v 28,6 % stopnje A, v 22,4 % stopnje B in v 16,3 % stopnje C, pri nekaterih bolnikih pa stopnja ni bila opredeljena. Bolniki so bili zdravljeni z različnimi načini zdravljenja, od operativnega – resekcija jeter (8,2 %), do neoperativnega načina – bodisi s perkutano alkoholno sklerozacijo (4,1%), radiofrekvenčno ablacijo (4,1 %) ali transarterijsko kemoembolizacijo (30,6 %). Bolnikov primernih za sistemsko zdravljenje s sorafenibom je bilo 18 (36,7 %), preostali za tovrstno terapijo niso bili primerni, zaradi oslabele jetrne funkcije, velikosti tumorja ali neželenih učinkov. Bolnikov, ki so prejeli le simptomatsko zdravljenje je bilo 18. Podatki so zbrani v preglednici IX.

	STAROST	VELIKOST TUMORJA (cm <sup>3</sup> )	AFP (kU/L)	METASTAZE	ANAMNEZA	ZDRAVLJENJE	AST (μkat/L)	ALT (μkat/L)	γ-GT (μkat/L)	Hb(g/L)	ERIT	ALB (g/L)	TROMB	PC	INR
B1	70	0,52	465		diag.07, HCV, ciroza child A	TACE, sorafenib	2,24	2,54	1,32	137	4,41	36	150	0,79	1,17
B2	69	7,2	514,9		diag.07, HCV	TACE	1,26	1,31	2,92	136	4,28		142	0,97	1,01
B3	58	8,2	3,9		diag.08, HCV ciroza child B	segmentektomija, sorafenib	1,51	1,2	1,35	131	4,22		30		
B4	64	11,5	3,5	trebuh, medenica	diag.07, etilična ciroza child A	RFA, sorafenib	1,46	0,46	4,46	74	2,4		99	0.13	
B5	74	14,1	260,9	okostje	rak prostate, ciroza child C	RFA	0,34	0,35	0,7	131	4,28	47	169		
B6	70	14,1	1108		diag.07, etilična ciroza child A	10x PEI, sorafenib	0,87	0,52	2,21	120	4,8	43	101	0,59	1,4
B7	71	14,1	13,5	skelet	HCV	sorafenib	1,26	0,84	2,26	127	4,53	37	137	nad1	pod1
B8	66	24,3	9		diag.07 etilična ciroza child A	kemoterapija s Xelodo	0,64	0,4	3,41	140	4,6	44	124		
B9	63	24,3	2,2		etilična ciroza child A	segmentektomija	0,31	0,32	1,28	92	3	32	174	0,83	1,12
B10	56	31,1	21,9		diag.08 etilična ciroza child A	sorafenib	0,84	0,71	4,05	89	3,26	31	127	0,64	1,3
B11	69	44,6	546		diag.07, etilična ciroza child C	sorafenib	1,02	0,72	4,44	100	4,5	40	192	0,72	1,23
B12	60	44,6	71,7		diag.08 ciroza child B	sorafenib	1,02	0,59	7,55	139	3,78	33	116		
B13	61	51	2151,2		etilična ciroza child A	TACE, PEI	1,47	0,75	1,8	134	3,59	24	104	0,48	1,6
B14	64	51	59,8		diag.08 ciroza child C	simptomatska terapija	2,99	2,58	0,63	134	4,19	26	61	0,59	1,35
B15	77	65,4	178,12		diag.07 etilična ciroza child A	simptomatska terapija	0,29	0,37	0,46	110	3,6	43			



	STAROST	VELIKOST TUMORJA (cm <sup>3</sup> )	AFP (kU/L)	METASTAZE	ANAMNEZA	ZDRAVLJENJE	AST (μkat/L)	ALT (μkat/L)	γ-GT (μkat/L)	Hb(g/L)	ERIT	ALB (g/L)	TROMB	PC	INR
B16	65	65,4	1754,8		diag.03, odstranjen operativno, ponovitev 06, ciroza child A	resekcija, TACE, sorafenib	0,52	0,71	1,19	156	4,84	43	184	nad1	pod1
B17	59	65,4	2,5		diag.07 ciroza child B	TACE, sorafenib	0,5	0,41	8,1	101	2,98	41	85	0,79	1,03
B18	57	65,4	259,2		diag.07 etilična ciroza child B	TACE	0,97	0,85	1,9	105	3,27	34	115	0,86	1,12
B19	58	102,2	100,2	paraortalne in parakavalne bezgavke	diag.07 ciroza	TACE, sorafenib	1,03	0,52	2,86	143	4,64	34	108	0,94	1,03
B20	84	113,1	3,9		diag.07	simptomatska terapija	0,81	0,37	1,72	148	4,85		304		
B21	59	113,1	49349		diag.06, etilična ciroza	TACE	0,9	0,94	4,99	149	4,28	45	175		
B22	69	179,6	10,6		diag.06 etilična ciroza child C	TACE	0,74	0,6	3,64	143	4,31	40	166	0,87	1,08
B23	57	179,6	1733		diag.06, etilična ciroza child C	TACE	0,52	0,4	1,63	144	4,36	43	150		
B24	56	248,5	851,8	v jetrih	diag.07 etilična ciroza child A	TACE, sorafenib	1,12	0,76	5,31	130	3,69	41	166		
B25	68	268,1	10000		diag.07 etilična ciroza child A	TACE, sorafenib	0,75	0,32	1,63	131	3,89	43	82	1	0,89
B26	59	268,1	6,7		diag.07 etilična ciroza child B	simptomatska terapija	1,24	1,18	9,25	124	4,13	41	152	0,9	1,07
B27	63	268,1	30,01		diag.07 ciroza child C	simptomatska terapija	0,49	0,29	5,47	85	2,7		67	0,007	1,29
B28	71	381,7	15519,2	okostje, pljuča	diag.07	sorafenib	0,95	0,3	3,75	157	5,12	40	274		

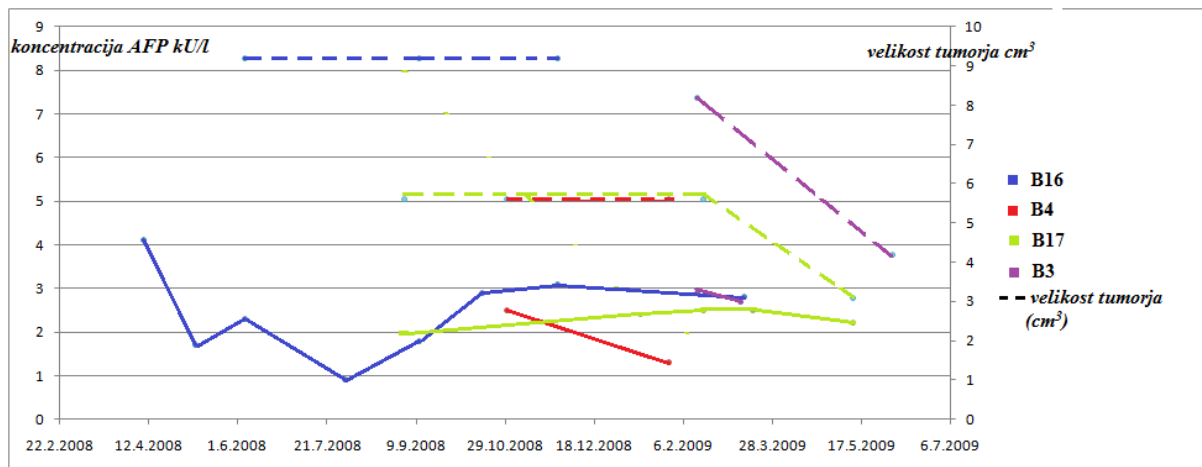
	STAROST	VELIKOST TUMORJA (cm <sup>3</sup> )	AFP (kU/L)	METASTAZE	ANAMNEZA	ZDRAVLJENJE	AST (μkat/L)	ALT (μkat/L)	γ-GT (μkat/L)	Hb(g/L)	ERIT	ALB (g/L)	TROMB	PC	INR
B29	85	492,8	2,6		diag.07 ciroza	simptomatska terapija	1,47	1,06	17,69	108	3,78	31	323		
B30	74	523,6	506,7		diag.06, ciroza child B	resekcija, sorafenib	0,56	0,34	1,2	141	4,53	45	162	0,86	1,09
B31	69	523,6	10		ciroza child B	simptomatska terapija	1,34	0,48	1,62	144	4,28	27	191	0,55	1,48
B32	62	775,7	20,2		diag.08 etilična ciroza child A	ultrazvok	0,73	0,44	1,01	143	4,3	36	106	0,64	1,3
B33	61	904,8	540,6	okostje	diag.08	sorafenib	1,46	1,59	0,95	146	4,87	37	208	0,8	1,13
B34	59	1436,7	467,5		diag.06	TACE, sorafenib	0,69	0,45	2,32	144	4,49	40	266	nad1	pod1
B35	75	1436,8	1,4		diag.07	simptomatska terapija	1,61	2,65	1,04	108	3,57	36	454	nad1	pod1
B36	62	1697,4	35,5		diag.07, etilična ciroza child B	TACE	4,18	0,65	4,2	97	3,08		261	0,96	1,03
B37	56	1912,3	4940,9		diag.08 etilična ciroza child B	simptomatska terapija	2,9	1,32	5,43	109	2,99	31	84	0,65	1,27
B38	76	2144,7	35,4		HBV, ciroza child A	TACE	0,76	0,56	1,25	160	4,79	51	180	0,99	0,99
B39	70	2572,4	33,5	v jetrih	diag.08 etilična ciroza child A	sorafenib	1,01	0,62	4,07	140	4,6	39	388	1	1,01
B40	76	2572,4	141,6		diag.08	simptomatska terapija	2,2	0,33	6,18	155	4,87	43	261		
B41	79	multifokalni HCC	4048		diag.07	simptomatska terapija	1,58	0,69	8,4	125	3,6	34	200		

	STAROST	VELIKOST TUMORJA (cm <sup>3</sup> )	AFP (kU/L)	METASTAZE	ANAMNEZA	ZDRAVLJENJE	AST (μkat/L)	ALT (μkat/L)	γ-GT (μkat/L)	Hb(g/L)	ERIT	ALB (g/L)	TROMB	PC	INR
B42	72	multifokalni HCC	4224	nadledvičnice	etilična ciroza child B	simptomatska terapija									
B43	66	številne nekroze	918,5		diag.07 ciroza child B-C	simptomatska terapija	2,35	1,07	6,41	137	4,47	29	295		
B44	74	številne okrogle formacije	120,2		diag.07	kemoterapija po shemi GEMOKS	0,49	0,38		115	4,13	35	409	nad1	pod1
B45	73	velika heterogena formacija	128,3		diag.07 dekompenzirana etilična ciroza	simptomatska terapija	0,59	0,25	5,28	100	3,25	32	86	0,8	1,15
B46	56	velika heterogena formacija	5424		najprej karcinom laringsa T1 N1, sočasno HCC, ciroza child C	simptomatska terapija	3,71	1,15	7,46	139	4,3	26	90	0,65	1,27
B47	86	velika tumurozna formacija z nekrotičnim razpadom	1000		diag.08 zlatenica	simptomatska terapija									
B48	85	zelo velik tumor	219,3		diag.07	simptomatska terapija	2,02	0,91	2,77	128	4,53	42	253	0,81	1,16
B49	50	zelo velik tumor	21	hilus jeter	diag.07, HCV, ciroza child B	simptomatska terapija									

V podrobnejšo obravnavo smo vzeli bolnike s HCC, ki so bili zdravljeni s sorafenibom. Določeni bolniki so bili predhodno zdravljeni tudi z drugimi oblikami zdravljenja. Sorafenib so bolniki prejeli v običajnem odmerku, 800 mg dnevno, in sicer dvakrat na dan po dve 200 mg tableti. Odmerek se je, glede na prisotnost neželenih učinkov in stanja bolnikov, prilagajal. Poleg velikosti tumorja, smo spremljali tudi koncentracijo AFP, ki je pri obravnavanih bolnikih obsegala območje vse od referenčnih vrednosti (do 5,5 kU/L) pa do vrednosti nad 10 tisoč. Zaradi večje preglednosti pri risanju grafov, smo zato bolnike razdelili v 5 skupin, glede na koncentracijo AFP.

**Preglednica X: Prva skupina bolnikov z vrednostjo AFP v območju referenčnih vrednosti do 5,5 kU/L**

BOLNIKI	ČAS TERAPIJE S SORAFENIBOM								
		9.4.08	8.5.08	5.6.08	31.7.08	11.9.08	16.10.08	27.11.08	12.3.09
B16	koncentracija AFP (kU/L)	4,1	1,7	2,3	0,9	1,8	2,9	3,1	2,8
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	/	/	9,2	/	9,2	/	9,2	/
B4		30.10.08	29.1.09	/	/	/	/	/	/
	koncentracija AFP (kU/L)	2,5	1,3	/	/	/	/	/	/
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	5,6	5,6	/	/	/	/	/	/
B17		2.9.08	13.1.09	17.2.09	17.3.09	12.5.09	/	/	/
	koncentracija AFP (kU/L)	2,0	2,4	2,5	2,5	2,2	/	/	/
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	5,6	/	5,6	/	3,1	/	/	/
B3		14.2.09	10.3.09	3.6.09	/	/	/	/	/
	koncentracija AFP (kU/L)	2,9	2,7	/	/	/	/	/	/
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	8,2	/	4,2	/	/	/	/	/

**Graf 2: Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa**

Bolnik 16 je bil dvakrat kirurško zdravljen, poleg tega je bil zdravljen tudi z eno kemoembolizacijo. Po tretjem vzniku HCC je bolnik prejel terapijo s sorafenibom v odmerku 800 mg, ki pa ga je bilo potrebno znižati zaradi prebavnih motenj.

Pri bolniku 4 je bila narejena RFA, odstranili pa so mu tudi metastaze. Po ponovnem vzniku HCC je bolnik prejel terapijo s sorafenibom v odmerku 600 mg. Koncentracija AFP je bila pri obeh bolnikih v območju referenčnih vrednosti, velikost tumorja pa se v času terapije ni spremenila. Prvi bolnik je sorafenib prejemal 11 mesecev, terapija pa v času zbiranja podatkov še ni bila zaključena. Pri drugemu je bila terapija prekinjena po treh mesecih, zaradi neželenih učinkov.

Bolnik 17 je bil zdravljen s štirimi kemoembolizacijami. Slednje je bilo prekinjeno zaradi slabosti po aplikaciji mitomicina. Bolnik je nato 5 mesecev prejemal terapijo s sorafenibom v odmerku 800 mg.

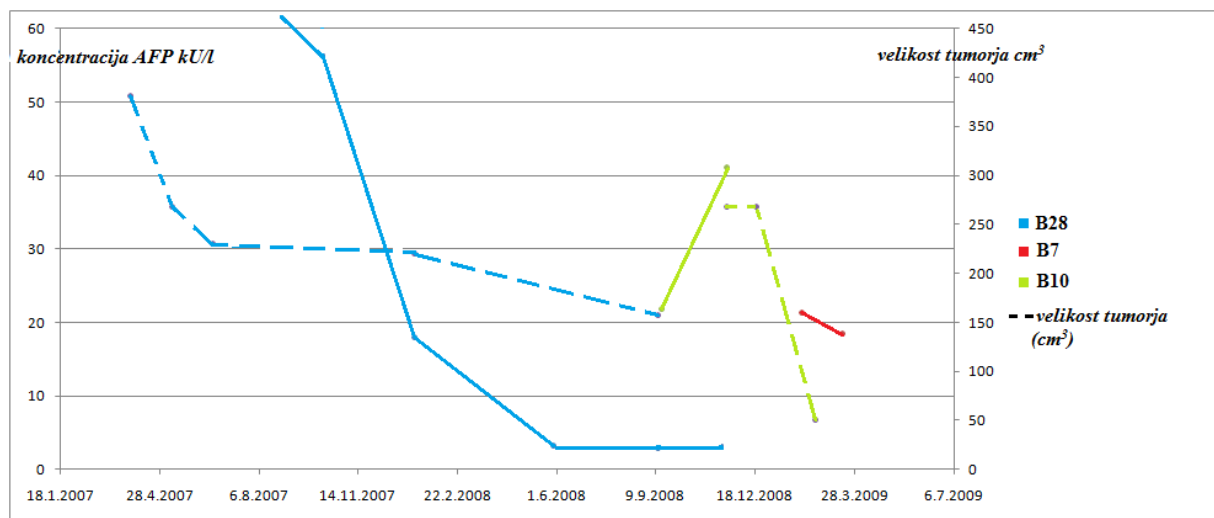
Pri bolniku 3 je bila narejena segmentektomija, po ponovitvi bolezni pa je 2 meseca prav tako prejemal terapijo s sorafenibom v odmerku 800 mg. Koncentracija AFP je bila pri obeh bolnikih v območju referenčnih vrednosti, velikost tumorja pa se je v času terapije pri njima zmanjšala. Vendar je v zvezi z navedenima bolnikoma (3 in 17) treba poudariti, da terapija s sorafenibom v času zbiranja podatkov še ni bila zaključena.

Pri vseh bolnikih s koncentracijo AFP v območju referenčnih vrednosti, se v času terapije s sorafenibom velikost tumorja ne spreminja oziroma se celo zmanjšuje. Torej gre za mirovanje in regres bolezni. Povprečna velikost tumorja pri teh bolnikih je 7,2 cm<sup>3</sup> (2,4 cm v premeru), stopnja jetrne ciroze po Child-Pughovi klasifikaciji pa je A in B. Pri nobenem od teh bolnikov nismo ugotovili progressa bolezni.

**Preglednica XI: Druga skupina bolnikov**

BOLNIKI	ČAS TERAPIJE S SORAFENIBOM								
		29.3.07	10.5.07	21.6.07	9.10.07	10.1.08	29.5.08	11.9.08	13.11.08
<b>B28</b> (metastaze)	koncentracija AFP (kU/L)	15519,2	15598,3	16189,9	56,3	18	3,2	2,9	3,2
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	381,7	268,1	229,8		220,9		157,5	
<b>B7</b> (metastaze)		<b>3.2.09</b>	<b>16.3.09</b>	/	/	/	/	/	/
	koncentracija AFP (kU/L)	21,4	18,4	/	/	/	/	/	/
<b>B10</b>		<b>15.9.08</b>	<b>19.11.08</b>	<b>19.12.08</b>	<b>16.2.09</b>	<b>26.5.09</b>	/	/	/
	koncentracija AFP (kU/L)	21,9	41,1	/	/	/	/	/	/
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	/	268,1	268,1	51,0	/	/	/	/

**Graf 3: Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa**



Bolnik 28 s HCC ter z zasevki v pljučih in okostju je prejemal sorafenib v odmerku 800 mg dnevno. Zdravilo si je bolnik sam priskrbel, ker pri nas takrat še ni bilo dostopno. V času terapije je koncentracija AFP močno padla, in sicer iz vrednosti nad 10 tisoč v območje referenčnih vrednosti. Velikost tumorja se je prav tako zmanjšala. Terapija je bila po 22 mesecih prekinjena zaradi neželenih učinkov (alopecija, prebavne motnje, razjeda na nogi).

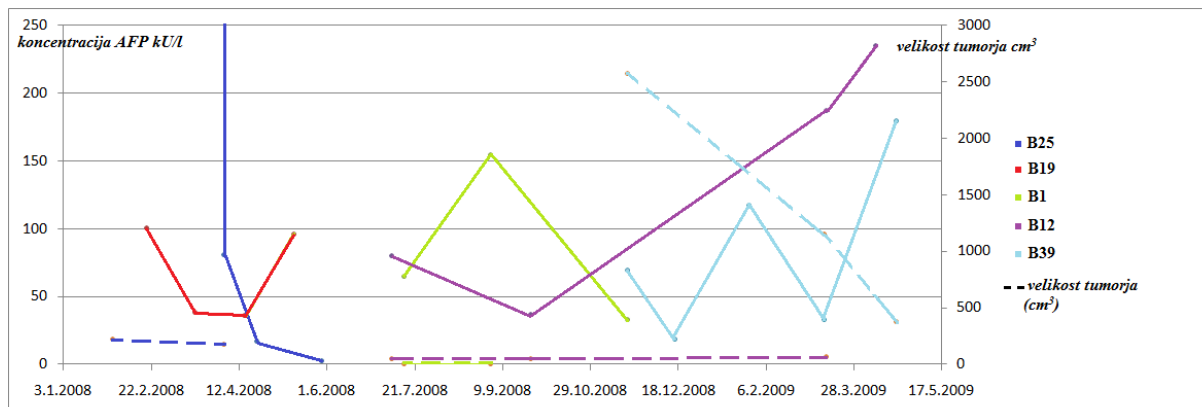
Bolnik 7 s HCC razsojenim v skelet, prav tako prejema 800 mg dnevno in sicer 4 mesece, terapija pa v času zbiranja podatkov še ni bila zaključena. Podatki o velikosti tumorja med terapijo niso bili podani.

Bolnik 10 z enakim odmerkom sorafeniba in približno enako velikim tumorjem, kot bolnik 28, je imel občutno nižjo koncentracijo AFP, tumor se je tudi pri tem bolniku zmanjševal. Terapija je trajala 7 mesecev, vendar tudi pri tem bolniku še ni bila zaključena. Stopnja jetrne ciroze po Child-Pughovi klasifikaciji je bila določena le pri bolniku 10, in sicer stopnje A.

Pomembno je izpostaviti, da pri nobenem bolniku v tej skupini ne ocenjujemo progressa bolezni v času terapije.

### Preglednica XII: Tretja skupina bolnikov

BOLNIKI	ČAS TERAPIJE S SORAFENIBOM					
		31.1.08	3.4.08	22.4.08	29.5.08	/
B25		nad 10.000	80,6	17,4	2,3	/
	koncentracija AFP (kU/L)					
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	220,9	179,6	/	/	/
B19 (metastaze)		19.2.08	18.3.08	15.4.08	13.5.08	/
	koncentracija AFP (kU/L)	100,2	38,1	36,2	96,2	/
B1		15.7.08	2.9.08	19.11.08	/	/
	koncentracija AFP (kU/L)	65	154,1	32,9	/	/
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	1,8	1,8	/	/	/
B12		8.7.08	25.9.08	12.3.09	9.4.09	/
	koncentracija AFP (kU/L)	79,8	36,8	187	234,5	/
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	47,7	47,7	65,4	/	/
B39 (metastaze)		19.11.08	16.12.08	27.1.09	11.3.09	21.4.09
	koncentracija AFP (kU/L)	69,4	18,4	117,1	33,3	179,6
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	2572,4	/	/	1150,3	381,7

**Graf 4: Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa**

Bolnik 1 je bil zdravljen z eno kemoembolizacijo. Zaradi prisotnosti več lezij je prejel terapijo s sorafenibom v odmerku 800 mg dnevno. Koncentracija AFP se je med terapijo povišala, verjetno zato, ker je bolnik samoiniciativno prekinil zdravljenje. Ko je z zdravljenjem nadaljeval, je koncentracija AFP padla. Velikost tumorja se ni spremenila. Bolniku so po štirih mesecih, zaradi njegove oslabelosti, terapijo prekinili.

Bolnik 19 je bil prav tako zdravljen z eno kemoembolizacijo. Zaradi razširjenosti bolezni in povečanih bezgavk je prejel terapijo s sorafenibom v odmerku 800 mg. Koncentracija AFP se je med 3-mesečno terapijo, ki v času zbiranja podatkov še ni bila zaključena, najprej znižala, nato pa povečala. Na zadnji CT preiskavi tumor v jetrih ni bil več viden.

Bolniku 12 je bilo potrebno med zdravljenjem odmerek večkrat znižati zaradi izraženih neželenih učinkov (alopecija, izpuščaj na lasišču, prebavne motnje, palmoplantarni eritem (posebna oblika kožnega vnetja, kar pomeni pekočo in pordelo kožo dlani ter stopal, ki jo občasno spremljajo otiščancem podobne spremembe ali izjemoma celo mehurji), bolečine v trebuhu). Koncentracija AFP je med jemanjem sorafeniba padla za polovico, tumor se med tem ni spreminjal. Čez čas je koncentracija AFP narastla, povečala se je tudi velikost tumorja. Terapija je bila po osmih mesecih prekinjena zaradi progressa bolezni.

Bolnik 39 ima ogromen tumor, ki obsega skoraj celoten desni režanj, poleg tega so prisotne metastaze. Zaradi velikosti tumorja kemoembolizacija ni prišla v poštev, zato je prejel terapijo s sorafenibom. Koncentracija AFP je bila v primerjavi z velikostjo tumorja nizka. Med zdravljenjem se je le-ta povečala, predvidoma zato, ker je bolnik nehal jemati

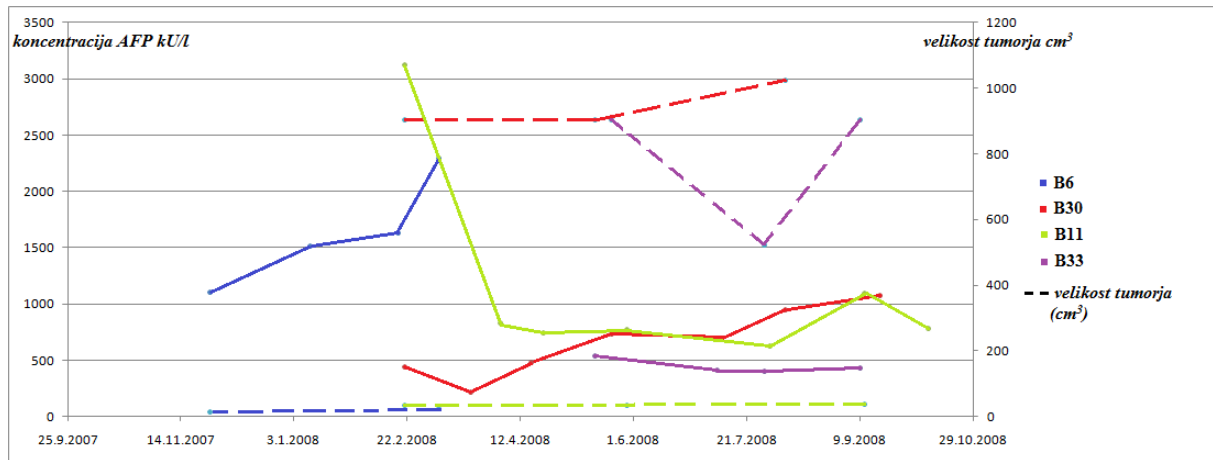


sorafenib zaradi neželenih učinkov (težko dihanje, bolečine v rami in prsnem košu). Ko je z zdravljenjem nadaljeval, se je vrednost AFP znižala. Zaradi prisotnosti palmoplantarnega eritema je bilo potrebno znižati odmerek, v tem času pa je tudi koncentracija AFP porastla. Tumor se je v času 4-mesečne terapije zmanjšal, terapija pa še ni bila zaključena.

Bolnik 25 pa je bil zdravljen s štirimi kemoembolizacijami, nato je prejel sorafenib. Koncentracija AFP je padla iz vrednosti nad 10 tisoč v območje referenčnih vrednosti. V času 3-mesečne terapije se je tumor zmanjšal, zdravljenje pa je bilo prekinjeno zaradi oslabelosti bolnika.

**Preglednica XIII: Četrta skupina bolnikov**

BOLNIKI	ČAS TERAPIJE S SORAFENIBOM							
		27.11.07	10.1.08	18.2.08	7.3.08	/	/	/
B6		1108	1517,1	1626,9	2298,5	/	/	/
	koncentracija AFP (kU/L)	1108	1517,1	1626,9	2298,5	/	/	/
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	14,1	/	/	22,4	/	/	/
B30		21.2.08	21.3.08	17.4.08	22.5.08	10.7.08	7.8.08	18.9.08
	koncentracija AFP (kU/L)	442,5	213,3	477,1	734,2	690,6	944,3	1070,7
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	904,8	/	904,8	904,8	/	1022,7	/
B11		21.2.08	3.4.08	22.4.08	29.5.08	31.7.08	11.9.08	9.10.08
	koncentracija AFP (kU/L)	3118,6	827,8	740,4	770,8	627,3	1089,7	779,7
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	33,5	/	/	33,5	/	38,8	/
B33 (metastaze)		15.5.08	8.7.08	29.7.08	9.9.08	/	/	/
	koncentracija AFP (kU/L)	540,6	413,3	405,4	428,7	/	/	/
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	904,8	/	523,6	904,8	/	/	/

**Graf 5: Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa**

Bolnik 6 je bil zdravljeno z metodo PEI, ki so jo desetkrat ponovili, nato pa je prejel terapijo s sorafenibom v odmerku 800 mg. Ker je koncentracija AFP med terapijo naraščala in ker se je povečala tudi velikost tumorja, so terapijo po treh mesecih prekinili zaradi progressa bolezni.

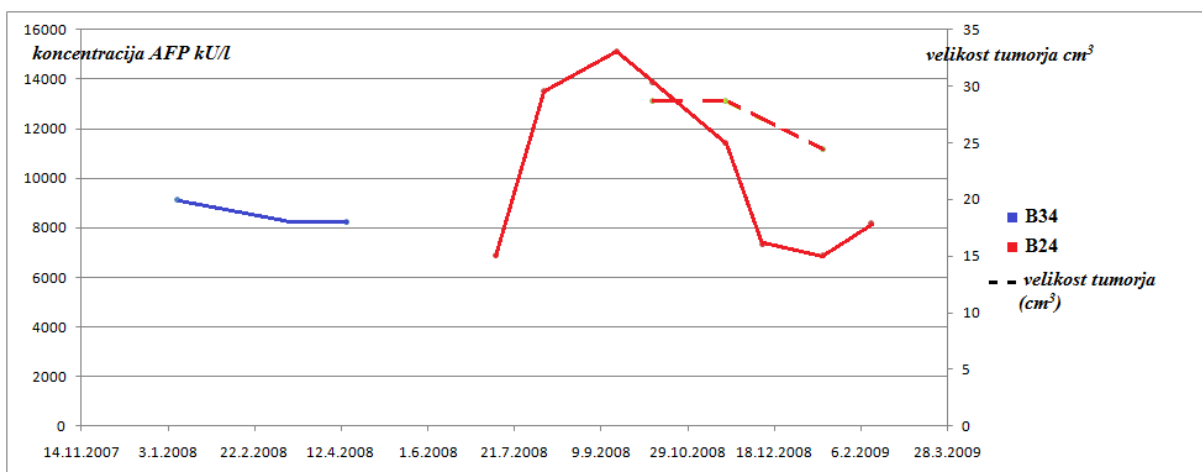
Pri bolniku 30 je bila narejena resekcija dveh jetrnih segmentov. Po ponovnem vzniku HCC je prejel terapijo s sorafenibom v odmerku 800 mg. Koncentracija AFP je v začetku terapije padla, nato pa je začela postopoma naraščati. Velikost tumorja je v začetku mirovala, nato pa se je povečala. Zdravljenje je bilo po sedmih mesecih prekinjeno zaradi progressa bolezni. Tudi bolniku 11 se po sedmih mesecih prekine terapija zaradi progressa bolezni.

Bolnik 33 je bil na terapiji s sorafenibom v odmerku 800 mg dnevno. Koncentracija AFP je v času zdravljenja padala, velikost tumorja se je najprej zmanjšala, nato pa povečala. Pri bolniku so ugotovili tudi metastaze HCC v prsnici. Zaradi progressa bolezni so zdravljenje po treh mesecih prekinili. Bolnik je kasneje, ob razširjenem HCC, umrl.

**Preglednica XIV: Peta skupina bolnikov**

BOLNIKI	ČAS TERAPIJE S SORAFENIBOM								
	B34		8.1.08	14.3.08	15.4.08	/	/	/	/
koncentracija AFP (kU/L)		9124,2	8371,4	8243,8	/	/	/	/	/
B24		10.7.08	7.8.08	18.9.08	9.10.08	20.11.08	11.12.08	15.1.09	12.2.09
	koncentracija AFP (kU/L)	6902,8	13526,7	15109,5	13878,5	11443,7	7347,6	6897,1	8173,2
	velikost tumorja (cm <sup>3</sup> )	/	/	/	28,7	28,7	/	24,4	/

**Graf 6: Koncentracija AFP in velikost tumorja v odvisnosti od časa**



Bolnika sta bila pred terapijo s sorafenibom v odmerku 800 mg zdravljena s tremi kemoembolizacijami. Obe terapiji sta bili prekinjeni zaradi progressa bolezni. Prva po 2,5 mesecih zaradi pojava novih tumorskih formacij, druga pa po 8 mesecih.

Pričakovali smo, da bo koncentracija AFP višja ob prisotnosti večjega tumorja in prisotnosti metastaz. Iz podatkov o koncentraciji AFP in velikosti tumorja pa lahko razberemo, da nista v pozitivni korelaciji. Koncentracija AFP torej ni povezana z velikostjo tumorja. To pomeni, da visoka koncentracija AFP ne nakazuje na velik tumor in obratno, nizka koncentracija AFP ne pomeni, da je tumor majhen. Prav tako koncentracija AFP v

območju referenčnih vrednosti ne pomeni, da tumor ni prisoten. Določanje koncentracije AFP nam ne kaže le prisotnosti tumorja, ampak nakazuje odzivnost bolnika na zdravljenje s sorafenibom. Znižanje koncentracije AFP ocenjujemo kot dober učinek zdravljenja, povišane vrednosti pa lahko kažejo na napredovanje bolezni. Ne moremo pa koncentracije AFP uporabljati kot edini pokazatelj učinka zdravljenja. Pomembno je tudi spremljanje velikosti tumorja. Večja velikost tumorja in prisotnost večjega števila tumorjev, pomeni slabšo prognozo. V skupini bolnikov zdravljenih s sorafenibom, je bil pri 38,9 % bolnikov ocenjen progres bolezni in s tem prekinitev zdravljenja. Pri 22,2 % bolnikov je bilo zdravljenje začasno prekinjeno zaradi izraženih neželenih učinkov, pri ostalih bolnikih pa terapija ob zbiranju podatkov še ni bila zaključena. Velikost tumorja se v času zdravljenja s sorafenibom pri 16,7 % bolnikov ni spreminjala, pri 38,9 % bolnikov se je velikost tumorja celo zmanjšala v povprečju za 56,5 %, pri 22,2 % bolnikov pa se je velikost tumorja povečala v povprečju za 31,2 %. Pri enem samem bolniku se je velikost najprej zmanjšala za 42,1 %, nato pa povečala nazaj na prvotno vrednost. Pri ostalih bolnikih velikost tumorja med terapijo ni bila določena. V povprečju je zdravljenje trajalo 5,9 mesecev, pri tem je najkrajša terapija trajala 2 meseca, najdaljša terapija pa 22 mesecev. Na začetku zdravljenja s sorafenibom v odmerku 800 mg dnevno, se je koncentracija AFP v 77,8 % znižala, pri 22,2 % pa zvišala. Ugotovili smo, da je pri 11,1 % bolnikov, ki so samoiniciativno prekinili zdravljenje, koncentracija AFP narasla, ko pa so z zdravljenjem nadaljevali, je le-ta padla.

Pri bolnikih s HCC je pomembno tudi spremljanje aktivnosti jetrnega parenhima in splošnega stanja. Zato smo pri teh bolnikih spremljali tudi aktivnost aminotransferaz (transaminaz) AST in ALT, GGT, koncentracijo albuminov, bilirubina, protrombinski čas in INR (International normalised ratio), mednarodno umerjeno razmerje. Podatki so zbrani v preglednici XV.

	AST(μkat/L)	ALT(μkat/L)	γ-GT(μkat/L)	ALB (g/L)	BLR - cel (μmol/L)	BLR - dir (μmol/L)	PČ	INR
B1 HCV, child A	2,0 5,7 5,06 4,59 6,38 5,15	1,42 6,08 4,96 4,14 5,42 5,01	1,02 2,65 2,25 1,65 1,52 1,64	/ 33 31 / / /	29 57,1 53 29,7 44,7 40	15 24,9 30 12,1 16,9 28	/ 0,83 / / / /	/ 1,10 / / / /
B3 HCV, child B	1,51 1,62	1,2 1,36	1,35 1,30	/ 28	23 34	9 13	/ 0,5	/ 1,51
B4* et.ciroza, child A	0,52 0,77	0,13 0,34	1,95 1,47	35 34	23 17	10 7	/	/
B6 et.ciroza, child A	0,69 0,87 1,03 1,15	0,51 0,52 0,43 0,40	1,85 2,21 2,63 3,10	43 / 42 42	26 28 31 28	10 11 14 10	0,59 / / /	1,40 / / /
B7* HCV	1,26	0,84	2,26	37	7	3	nad 1	pod 1
B10 et.ciroza, child A	0,84 0,65 1,06 0,54 0,71	0,71 0,35 0,81 0,47 0,59	4,05 2,36 3,33 2,68 2,67	31 27 / / /	14 15 12 13,2 9	6 9 6 3,2 4	/	/ / / / 1,37 /
B11 et.ciroza, child C	0,95 0,96 0,97 0,88 1,96 0,80 0,94	0,70 0,56 0,62 0,60 1,48 0,64 0,63	2,97 3,0 2,39 2,11 5,15 3,22 3,78	40 / 40 40 39 36 /	15 17 24 21 21 28 27	6 7 9 9 10 12 11	/	/

	AST(μkat/L)	ALT(μkat/L)	γ-GT(μkat/L)	ALB (g/L)	BLR - cel (μmol/L)	BLR - dir (μmol/L)	PČ	INR
B12 ciroza, child B	1,12 1,45 1,13 2,4	0,60 0,93 0,74 1,38	5,0 4,34 4,90 5,07	35 31 8 30	34 51 26 54	19 26 15 35	/	/
B16 ciroza, child A	1,14 0,72 0,48 0,57 0,50 0,56 0,65 0,66	0,86 0,65 0,34 0,44 0,41 0,42 0,61 0,55	3,74 1,20 0,92 1,05 1,08 1,07 1,45 1,40	47 46 46 46 44 46 / 43	26 25 19 18 24 21 28 14	8 7 6 6 7 6 9 6	/	/
B17 ciroza, child B	0,57 0,50 0,62	0,54 0,54 0,72	5,27 3,46 7,25	46 47	10 13 13	3 4 4	nad 1	pod 1
B19* ciroza	0,85 0,97 0,86 0,68	0,17 0,19 0,19 0,11	1,64 2,10 2,22 1,90	/ / 33 34	17 38 33 30	7 13 13 13	/	/
B24* et.ciroza, child A	1,12 1,57 2,18 2,27 1,96	0,76 0,86 0,97 1,14 1,34	5,31 7,36 7,34 8,04 7,95	41 40 37 36 36	38 41 37 24 35	13 17 19 12 15	/	/
B25 et.ciroza, child A	0,75 0,70 0,78 0,76	0,41 0,58 0,65 0,61	1,63 1,05 1,38 0,85	43 / 41 35	15 10 20 17	5 4 6 6	1,0 / / /	0,98 / / /
B28*	0,95 1,75 0,84 0,64 0,53 0,59 0,60 0,65 0,37	0,30 0,52 0,50 0,45 0,32 0,42 0,41 0,43 0,21	3,75 2,9 3,21 2,90 2,04 1,75 2,24 2,04 1,67	40 / 42 43 45 45 43 45	16 24 18 15 10 10 15 9 11	8 10 7 4 3 3 5 4 5	/	/

	AST(μkat/L)	ALT(μkat/L)	γ-GT(μkat/L)	ALB (g/L)	BLR - cel (μmol/L)	BLR - dir (μmol/L)	PČ	INR
B30 et.ciroza, child B	0,64 0,70 0,61 0,64 0,70 0,75 0,74	0,41 0,45 0,44 0,45 0,49 0,53 0,54	1,09 1,03 1,14 1,10 1,29 1,14 1,30	41 41 43 40 44 42 44	15 14 11 12 14 16 13	6 5 4 4 5 5 4	/	/
B33*	1,46 2,04 1,97	1,59 2,02 1,59	0,95 3,15 3,0	/ 45 42	12 32 29	3 13 13	0,8	1,13
B34	9,66 10,94 6,42	2,09 5,54 1,13	3,49 5,46 3,09	/ 40 33	18 35 34	8 21 20	/	/
B39* et.ciroza, child A	1,16 2,45	0,65 1,38	4,65 7,91	41 / /	11 20	8 12	/	/

\* prisotnost metastaz

Bolniki 1, 3 in 7 so okuženi z virusom hepatitisa C, zaradi katerega imajo tudi cirozo jeter. Stopnja jetrne ciroze je po Child-Pughovi klasifikaciji pri prvem bolniku stopnje A, pri drugem stopnje B, pri zadnjem pa stopnja ni bila opredeljena. Vrednosti AST in ALT so pri vseh treh bolnikih med terapijo s sorafenibom povišane. Pri večini akutnih in kroničnih virusnih hepatitisih prevladuje zvečanje aktivnosti ALT, v našem primeru pa je AST večji od ALT. Aktivnost AST je povečana zaradi ciroze, ne glede na njen vzrok. Razmerje AST/ALT, ki je pri vseh bolnikih manjše od 2, pa nakazuje na virusni hepatitis. Pri vseh bolnikih smo opazili tudi povišane vrednosti GGT, kar je značilno pri bolnikih s HCC. Zvišane vrednosti tega encima imajo tudi bolniki, ki zmerno ali čezmerno pijejo alkohol. Pri bolnikih 1 in 3 je prisotna tudi konjugirana hiperbilirubinemija – zvišana koncentracija direktnega bilirubina (BLRdir), ki je lahko znak prizadetosti jeter s tumorjem ali pa posledica vraščanja tumorja v žolčna izvodila. Pri majhnih tumorjih je BLR običajno normalen, prisotna hiperbilirubinemija pa je značilna za virusni hepatitis, jetrno cirozo. Pri bolniku 7 koncentracija BLR sicer ni povečana, imamo pa podano le eno vrednost. Pri bolniku 1 in 3 smo opazili tudi znižano koncentracijo albumina, ki je znak kroničnega hepatitisa, označuje pa tudi zmanjšano sintezno sposobnost jeter.

Vsi bolniki s stopnjo A jetrne ciroze, po Child-Pughovi klasifikaciji, imajo cirozo jeter etilne etiologije, razen bolnik 16. Pri vseh bolnikih je aktivnost AST večja od ALT, kar je značilno za alkoholno jetrno bolezen. Alkoholna okvara namreč povzroči pomanjkanje piridoksin-5-fosfata, kofaktorja ALT, ki ga pogosto primanjkuje v prehrani kroničnih alkoholikov. Tako pri vseh bolnikih, razen pri bolnikih 24 in 39, najdemo normalne vrednosti ALT. Za jetrno cirozo je drugače značilen dvig vseh jetrnih encimov. Pri vseh bolnikih smo, v skladu s pričakovanji, zaznali tudi povišane vrednosti GGT. Pri bolnikih 24 in 39 je povišanje GGT nekoliko večje, zaradi prisotnosti metastaz v jetrih. Koncentracija BLRdir je bila pri vseh bolnikih povečana, torej je prisotna konjugirana hiperbilirubinemija, ki je lahko znak prizadetosti jeter s tumorjem ali pa posledica vraščanja tumorja v žolčna izvodila. Pri nobenem bolniku pa koncentracija bilirubina ni presegla 50  $\mu\text{mol/L}$ , ko zlatenica postane vidna.

Pri bolnikih 12, 17 in 30 s stopnjo B jetrne ciroze, po Child-Pughovi klasifikaciji, pa ciroza ni alkoholna. Prav tako pri bolniku 19, kjer ciroza po Child-Pughovi klasifikaciji ni bila opredeljena. Vrednosti ALT so tako kot pri bolnikih s stopnjo ciroze A, v nasprotju s



pričakovanji, in sicer normalne oziroma malo povišane. Prav tako so vrednosti AST normalne oziroma zmerno povišane. Do enakega spoznanja pridemo tudi pri bolnikih s C stopnjo jetrne ciroze. Glede na prisotnost jetrne ciroze bi pričakovali zvišano aktivnost aminotransferaz.

Pri bolnikih 28, 33 in 34, ki imajo zelo velik tumor, podatkov o cirozi nimamo. Pri vseh treh bolnikih smo opazili zmerno do močno zvišane vrednosti AST in normalne do zmerno zvišane vrednosti ALT. Bilirubin je pri majhnih tumorjih običajno normalen, ker pa je pri teh bolnikih tumor velik, je bila hiperbilirubinemija pričakovana. Po pričakovanjih je tudi aktivnost GGT zvišana.

Ker se HCC največkrat razvije v cirotičnih jetrih, so biokemični izvidi pri bolnikih s HCC značilni za jetrno cirozo. Za jetrno cirozo značilne, vendar nespecifične posebnosti biokemičnih parametrov obsegajo dvig vseh jetrnih encimov, znižanje koncentracije albumina in podaljšanje PČ. Dvig encimov je odvisen od vrste ciroze ter stopnje jetrne celične nekroze in holestaze. Pri bolnikih s HCV smo opazili, da so bile vrednosti ALT in AST višje, kot pri bolnikih z alkoholno jetrno boleznijo. Aminotransferaze so bile povišane tudi pri bolnikih z večjim tumorjem. Pri vseh bolnikih pa je bila povišana tudi aktivnost GGT. Znižana koncentracija albuminov pri celotni skupini bolnikov, ki so bili zdravljeni s sorafenibom, je bila prisotna le pri 16,7 % bolnikov, PČ pa pri večini bolnikov ni bil določen oziroma je bila podana le ena vrednost, na osnovi katere ne moremo sklepati. Pri 44,4 % bolnikov je bila prisotna zmerna anemija, ki je posledica skrajšane življenjske dobe eritrocitov. Le-ta je značilna pri bolnikih z jetrno cirozo. Pri polovici bolnikov smo opazili tudi trombocitopenijo. Motnje v funkciji in številu trombocitov so pri jetrnih boleznih dobro poznane in pomembno prispevajo k motnjam v hemostazi, še posebno pri alkoholni bolezni jeter, kjer gre za dodatni toksični učinek alkohola na tvorbo in funkcijo trombocitov.

## **5. SKLEP**

HCC je najpogostejši primarni rak jeter, je peti najpogostejši rak na svetu in globalno tretji vodilni vzrok smrti zaradi raka. Najpogostejši vzrok za nastanek HCC pri nas je alkoholna toksična okvara jeter (40,8 %), sledijo ji kronični virusni hepatitis C (10,2 %) in okužba z virusom hepatitisa B (2,0 %). V bodoče v Sloveniji pričakujemo pomemben porast pojavljanja HCC, zaradi širjenja hepatitisa C. Ker HCC največkrat zraste v cirotično spremenjenih jetrih, sestavljajo skupino bolnikov z večjim tveganjem za razvoj tega raka vsi bolniki z jetrno cirozo. Večje tveganje je prisotno predvsem pri moških bolnikih, starejših od 50 let.

Kot je razvidno iz poglavja o namenu te diplomske naloge, smo v sklopu priprave le-te iz skupine 49-ih bolnikov s potrjeno diagnozo HCC izločili in podrobneje preučili skupino 18-ih bolnikov, ki so med drugim prejeli tudi terapijo s sorafenibom. Med preučevanjem omenjene skupine bolnikov, smo poskušali odgovoriti na nekatera vprašanja v povezavi s pomenom določanja koncentracije AFP, ter raziskati korelacijo med koncentracijo AFP in velikostjo tumorja ter prisotnostjo metastaz.

Spremljanje koncentracije določenega tumorskega označevalca nam je v pomoč pri diagnozi bolezni, napredovanju njenega poteka, pri določanju stadija bolezni, izbiri načina zdravljenja ter pri zgodnjem odkrivanju ponovitve in razširitve bolezni. Pri bolnikih s HCC ima poseben pomen določanje koncentracije tumorskega označevalca AFP. V okviru diplomske naloge smo koncentracijo AFP spremljali pri zgoraj navedeni skupini 18-ih bolnikov s HCC (36,7 %), ki so bili zdravljeni s sorafenibom. Ugotovili smo, da se je koncentracija AFP pri 77,8 % bolnikov na začetku zdravljenja znižala, pri 22,2 % pa se je koncentracija AFP zvišala. Znižanje koncentracije AFP ocenjujemo kot uspešno izbiro terapije, povišanje vrednosti pa lahko kaže na napredovanje bolezni. Ker pa spremljanje koncentracije AFP ne moremo uporabljati, kot edini pokazatelj uspešnosti terapije, smo spremljali tudi velikost tumorja. Velikost tumorja se v času zdravljenja s sorafenibom, v skladu s pričakovanji, pri 16,7 % bolnikov ni spremenila, pri 38,9 % bolnikov pa se je velikost celo zmanjšala, v povprečju za 56,6 %. Pri 22,2 % bolnikov se je velikost tumorja, v nasprotju s pričakovanji, povečala, v povprečju za 31,2 %. Do povečanja ni prišlo pri

bolnikih s koncentracijo AFP v območju referenčnih vrednosti. Pričakovali smo tudi, da se bo koncentracija AFP spreminjala z velikostjo tumorja in da bo višja ob prisotnosti večjega tumorja ter prisotnosti metastaz. Ugotovili pa smo, da temu ni tako. Visoka koncentracija AFP ne nakazuje na prisotnost velikega tumorja in obratno, nizka koncentracija AFP ne pomeni, da je tumor majhen. Prav tako koncentracija AFP v območju referenčnih vrednosti ne pomeni, da tumor ni prisoten. Iz navedenega je razvidno, da je pri bolnikih pred postavitvijo diagnoze HCC, pomen določanja koncentracije AFP v povezavi z dejstvom, da povišana koncentracija AFP vzbudi sum na HCC, medtem ko se pomen določanja koncentracije AFP pri bolnikih s potrjeno diagnozo HCC, kaže v dejstvu, da je koncentracija AFP pokazatelj uspešnosti terapije. Višja koncentracija AFP, večja velikost tumorja in prisotnost večjega števila tumorjev v jetrih, pomeni slabšo prognozo. V času 5,9-mesečne terapije, kolikor je terapija trajala v povprečju, smo pri 38,9 % bolnikov ocenili progres bolezni in zato zdravljenje prekinili, pri 22,2 % bolnikov pa je bilo zdravljenje začasno prekinjeno zaradi izraženih neželenih učinkov. Vsi ti bolniki so nato prejeli simptomatsko terapijo. Zdravljenje običajno traja tako dolgo, dokler je opaziti njegovo klinično koristnost oziroma dokler neželeni učinki niso prekomerno izraženi. Pri 11,1 % bolnikov, ki so samoiniciativno prekinili zdravljenje, se je koncentracija AFP povišala, ko pa so z zdravljenjem nadaljevali, je koncentracija padla. Pri bolnikih smo spremljali še aktivnost jetrnega parenhima in splošno stanje bolnikov. Ugotovili smo povišanje jetrnih encimov, in sicer povišano vrednost GGT, ki je še nekoliko bolj povečana ob prisotnosti metastaz v jetrih ter povišani vrednosti AST in ALT. Aktivnost ALT je pri določenih bolnikih tudi normalna, kajti alkoholna okvara povzroči pomanjkanje piridoksin-5-fosfata, kofaktorja ALT, ki ga pogosto primanjkuje v prehrani kroničnih alkoholikov. Znižanje koncentracije albuminov pa je prisotno le pri 16,7 % bolnikov in je znak kroničnega hepatitisa ter jetrne ciroze. To znižanje je manj izrazito, ker imajo jetra rezervo v sintetski sposobnosti albumina. Pri večini bolnikov smo opazili povišano koncentracijo konjugiranega bilirubina, ki je lahko znak prizadetosti jeter s tumorjem ali pa posledica vraščanja tumorja v žolčna izvodila. Pri 44,4 % bolnikov smo zaznali zmerno anemijo, pri polovici bolnikov pa trombocitopenijo, ki je značilna pri jetrnih boleznih in pomembno prispeva k motnjam v hemostazi.

Na podlagi navedenega ugotavljamo, da je skladno z našimi pričakovanji, spremljanje koncentracije tumorskega označevalca AFP pri bolnikih s HCC zelo pomembno, in sicer tako pred določitvijo diagnoze, kot tudi po potrditvi le-te. Hkrati pa smo primorani ovreči naša pričakovanja v zvezi s pozitivno korelacijo med koncentracijo AFP in velikostjo tumorja ter prisotnostjo metastaz.

Zavedamo se, da bi morali za trdnejšo argumentacijo naših ugotovitev raziskavo opraviti na večjem številu bolnikov. Potrebno pa je poudariti, da je HCC pri nas dokaj redka bolezen, posledično je manjše tudi število obolelih. Poleg tega smo preučevali samo tiste bolnike s HCC, ki so bili zdravljeni s sorafenibom. Prav tako moramo upoštevati tudi dejstvo, da je zdravilo Nexavar na slovenskem tržišču šele od oktobra 2007. Zato menimo, da smo kljub manjšemu številu bolnikov, prišli do pomembnih spoznanj.

## 6. VIRI IN LITERATURA

1. Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D: Interna medicina, tretja izdaja 2005: 24-27, 565-573, 582-585, 589-595, 630-634.
2. Guyton AC: Medicinska fiziologija, šesto hrvatskosrpsko izdajanje, Beograd – Zagreb 1978: 952-954.
3. Bajrović F, Bresjanac M, Grubič Z, Marš T, Ribarič S, Sketelj J, Šuput D, Živin M: Seminarji iz patološke fiziologije, prva izdaja, Ljubljana 2008: 175-181.
4. El-Serag HB, Mason AC: Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999; 340:745-750.
5. Detailed Guide: Liver cancer - What are the key statistic about liver cancer; (<http://www.cancer.org>).
6. Bosch FX, Ribes J, Borrás J: The epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liv Dis* 1999; 19: 271-285.
7. Luk JM, Lee PY, Poon TP, Fan ST: Liver cancer biomarkers. University of Hong Kong Medical Center, 2008.
8. Parkin D, Bray F, Ferlay J, Pisani P: Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108.
9. Register raka za Slovenijo, incidenca raka v Sloveniji 2006, Ljubljana, Onkološki inštitut.
10. Ikeda K, Saitoh S, Koida I, et al.: A multivariate analysis of risk factors for hepatocellular carcinogenesis: a prospective observation of 795 patients with viral and alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 1993; 18 (1): 47-53.
11. Mrevlje Ž, Štabuc B: Primarni jetrni rak, *Gastroenterolog letnik* 7, št. 3, november 2003: 6-12.
12. Detailed Guide: Liver cancer - What are the risk factors for liver cancer; (<http://www.cancer.org>).
13. Diehl AM, Tetre B: Nonalcoholic steatohepatitis; NIH Publication No. 07-4921, november 2006.
14. Real-time ultrasound In: Abeloff: Clinical oncology, 2nd ed., Pa: Churchill Livingstone, Inc 2000, p 1691.
15. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R: Transection of the

oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.* 1973 Aug; 60(8): 646-9.

16. Eberhardt SC, Choi PH, Bach AM, Funt SA, Felderman HE, Hann LE: Utility of sonography for small hepatic lesions found on computed tomography in patients with cancer. *J Ultrasound Med* 2003; 22: 335-43.

17. Tobkes AI, Nord HJ: Liver biopsy: review of methodology and complications. *Dig Dis* 1995; 13 (5): 267-274.

18. Stone MJ, Klimmalm GBG, Polter D et al.: Neoadjuvant chemotherapy and liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a pilot study in 20 patients. *Gastroenterology* 1993; 104 (1): 196-202.

19. Chan KM, Lee WC, Hung CF, Yu MC, Jan YY, Chen MF: Aggressive multimodality treatment for intra-hepatic recurrence of hepatocellular carcinoma following hepatic resection. *Chang Gung Med J.* 2005; 28: 543–50

20. Ebara M, Okabe S, Kita K, Sugiura N, Fukuda H, Yoshikawa M, et al: Percutaneous ethanol injection for small hepatocellular carcinoma: therapeutic efficacy based on 20-year observation. *J Hepatol.* 2005; 43(3): 458–64.

21. Livraghi T, Giorgio A, Marin G: Hepatocellular carcinoma and cirrhosis in 746 patients: long-term results of percutaneous ethanol injection. *Radiology* 1995; 197: 101-8.

22. Lencioni R, Della Pina C, Bartolozzi C: Percutaneous image-guided radiofrequency ablation in the therapeutic management of hepatocellular carcinoma. *Abdom Imaging.* 2005; 30: 401–8.

23. Stage Hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: Long - term results of percutaneous image – guided Radiofrequency ablation. *Radiology* 2005; 234: 961-967.

24. Sung Wook Shin: The current practice of transarterial chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Korean journal of Radiology*, 2009 Sep-Oct; 10(5): 425-34.

25. *Chemotherapy In Abeloff: Clinical oncology*, 2nd ed., Pa: Churchill Livingstone, Inc 2000, pp. 1711-1714.

26. Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, Chen C, Zhang X, Vincent P, McHugh M, Cao Y, Shujath J, Gawlak S, Eveleigh D, Rowley B, Liu L, Adnane L, Lynch M, Auclair D, Taylor I, Gedrich R, Voznesensky A, Riedl B, Post LE, Bollag G, Trail PA: BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor

progression and angiogenesis. *Cancer Res.* 2004; 64: 7099–7109.

27. Liu L, Cao Y, Chen C, Zhang X, McNabola A, Wilkie D, Wilhelm S, Lynch M, Carter C: Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5. *Cancer Res.* 2006; 66: 11851–11858.

28. Roberts PJ, Der CJ: Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene.* 2007; 26: 3291–3310.

29. <http://www.nexavar.com>

30. Llovet J, Ricci S, Mazzaferro V, et al; for the SHARP Investigators Study Group. Sorafenib improves survival in advanced hepatocellular carcinoma (HCC): results of a phase III randomized placebo-controlled trial (SHARP trial). *J Clin Oncol.* 2007; 25(185).

31. Llovet JM, Bru C, Bruix J.: Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification.

32. Osredkar J: Izbrana poglavja iz klinične kemije, učno gradivo za študente farmacije, maj 2008.

33. Novaković S: Tumorski označevalci v klinični onkologiji, Onkološki inštitut, 2000: 8-14.

34. Lopez JB, Thambyrajah V, Balasegaram, et al: Appropriate cut-off levels for serum alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. *Diagnostic Oncology.* 1994-1995; 4: 287-291.

35. Nanashima A, Sumida Y, Tobinaga S, Shibata K, Shindo H, Obatake M, Shibasaki S, Ide N, Nagayasu T: Postoperative changes in protein-induced vitamin K absence or antagonist II levels after hepatectomy in patients with hepatocellular carcinoma: relationship to prognosis, *HPB (Oxford).* 2006 April 1; 8(2): 137–141.

36. Oka H, Tamori A, Kuroki T, Kobayashi K, Yamamoto S: Prospective study of alpha-fetoprotein in cirrhotic patients monitored for development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994; 19: 61-66.