

**UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO**

OLIVIA FIJAN

**RAK TREBUŠNE SLINAVKE –
PREŽIVETJE V ODVISNOSTI
OD USPEŠNOSTI TERAPIJE**

DIPLOMSKA NALOGA
Univerzitetni študij farmacije

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

OLIVIA FIJAN

**RAK TREBUŠNE SLINAVKE – PREŽIVETJE V
ODVISNOSTI OD USPEŠNOSTI TERAPIJE**

**PANCREATIC CANCER – SURVIVAL DEPENDING
ON SUCCESSFULNESS OF THERAPY**

DIPLOMSKA NALOGA

Univerzitetni študij farmacije

Ljubljana, 2010

Diplomsko nalogo sem opravljala na Gastroenterološki interni kliniki v Ljubljani (naslov: UKC – SPS Interne klinike Ljubljana, KO za gastroenterologijo, Japljeva 2, 1525 Ljubljana – Klinični center, Gastro – onko ambulanta) pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. Somentor pri izdelavi naloge je bil asist. dr. Rado Janša, dr. med.

Posebej se zahvaljujem prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., spec. med. biokem. in asist. dr. Radu Janši, dr. med, za strokovne nasvete pri izdelavi diplomske naloge. Zahvaljujem se vsem zaposlenim v laboratoriju na Infekcijski kliniki v Ljubljani za pomoč pri meritvah.

Zahvaljujem se tudi svojim staršem in sestram za potrpljenje in moralno podporo pri izdelavi diplomske naloge. Pravtako se zahvaljujem vsem ostalim, ki so kakorkoli pripomogli k nastanku predloženega diplomskega dela in mi bili v oporo v času študija.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. in somentorja asist. dr. Rado Janša, dr. med.

KAZALO VSEBINE

1. UVOD	1
1.2 TREBUŠNA SLINAVKA	1
1.1.1 HISTOLOGIJA.....	1
1.1.2 FUNKCIJA	2
1.2 RAK TREBUŠNE SLINAVKE	3
1.2.1 INCIDENCA.....	3
1.2.2 OPREDELITEV.....	3
1.2.3 RAZDELITEV.....	4
1.2.4 DEJAVNIKI TVEGANJA.....	5
1.2.5 KANCEROGENEZA SPLOŠNO.....	6
1.2.6 SPREMEMBE GENOV, KI SO POVEZANE Z NASTANKOM DUKTALNEGA ADENOKARCINOMA TREBUŠNE SLINAVKE	7
1.2.7 PATOLOGIJA	9
1.2.8 KLINIČNA SLIKA.....	10
1.2.9 DIAGNOSTIKA.....	11
1.2.10 ZDRAVLJENJE.....	13
1.2.11 MEHANIZEM DELOVANJA 5-FU, GEMCITABINA, KAPECITABINA IN ERLOTINIBA	17
1.3 TUMORSKI OZNAČEVALCI	20
1.3.1 LASTNOSTI TUMORSKIH OZNAČEVALCEV	20
1.3.2 UPORABA TUMORSKIH OZNAČEVALCEV.....	23
1.3.3 DELITEV TUMORSKIH OZNAČEVALCEV	23
1.3.4 KARCINOMSKI ANTIGEN 19-9 (CA 19-9).....	24
1.3.5 DOLOČANJE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV.....	28
2. NAMEN DELA	29
3. MATERIALI IN METODE	30
3.1 OPIS ZBIRANJA PREISKOVANCEV	30
3.2 OPIS ZBIRANJA VZORCEV	30
3.3 KEMILUMINESCENČNA IMUNOLOŠKA METODA	30
3.3.1 PRINCIP METODE.....	30
3.3.2 MATERIALI	32
3.3.3 PRIPRAVA REAGENTOV IN VZORCEV.....	33
3.3.4 KALIBRACIJA ANALIZATORJA	34
3.3.5 POTEK ANALIZE.....	34
3.3.6 SPECIFIČNE KARAKTERISTIKE ANALIZNE METODE.....	35
4. REZULTATI IN RAZPRAVA	37
4.1 OVREDNOTENJE CELOTNE SKUPINE	37

4.2 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	46
4.2.1 PREDSTAVITEV SKUPINE, KI JE PREJEMALA GEMCITABIN	47
4.2.2 IZARČUN RAZLIKE POVPREČIJ MED SKUPINAMA ZA ČAS PREŽIVETJA, ZA ČAS TERAPIJE, T1, T2, VREDNOSTI OZNAČEVALCA CA 19-9 V RAZLIČNIH TOČKAH, F1, F2, F3 IN F4	49
4.2.3 KORELACIJE MED CA 19-9 V RAZLIČNIH TOČKAH, T1, T2, F1, F2, F3 IN F4 S ČASOM PREŽIVETJA.....	55
4.3 PRIKAZ GIBANJA TUMORSKEGA OZNAČEVALCA CA 19-9 V ČASU TRAJANJA TERAPIJE .	59
5. ZAKLJUČEK.....	76
6. LITERATURA	79

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: TNM klasifikacija (9)	10
Preglednica II: Stadij adenokarcinoma trebušne slinavke (9)	10
Preglednica III: Stadij raka trebušne slinavke in njegovi opisi (8)	17
Preglednica IV: Prikaz specifičnosti in občutljivosti (50)	22
Preglednica V: Uporaba tumorskih označevalcev (50).....	23
Preglednica VI: Rezultati meritev za ocenitev ponovljivosti in obnovljivosti analiznega postopka.....	35
Preglednica VII: Izmerjene vrednosti CA 19-9 TM v serumu pacientov po različnih redčitvah, osnovna koncentracija CA 19-9 = 592 U/mL.....	36
Preglednica VIII: Rezultati meritev za ocenitev pridobitve dodatka analiznega postopka.	36
Preglednica IX: Dobljeni podatki za zbrane bolnike	38
Preglednica X: Prikaz povprečnih vrednosti za A, B, C, t in čas preživetja	48
Preglednica XI: Prikaz Skewness in Kurtosis vrednosti za čas preživetja celotne skupine	49
Preglednica XII: Prikaz povprečja in standardne deviacije za obe skupini	51
Preglednica XIII: Rezultati t-testa za čas preživetja	51
Preglednica XIV: Prikaz povprečja in vsote ranga obeh skupin.....	52
Preglednica XV: Mann-Whitney test za CA 19-9 v različnih točkah, t, t1, t2, f1, f2, f3 in f4.....	53
Preglednica XVI: Prikaz Spearmanovega koeficienta za celotno skupino.....	55
Preglednica XVII: Prikaz Spearmanovega koeficienta za skupino brez metastaz	55
Preglednica XVIII: Prikaz Spearmanovega koeficienta za skupino z metastazami.....	56
Preglednica XIX: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primere 3, 4 in 9.....	59
Preglednica XX: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 6	61
Preglednica XXI: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 13	62
Preglednica XXII: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primere 20, 21, 25 in 26.....	64
Preglednica XXIII: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primere 23, 8 in 28.....	66
Preglednica XXIV: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 30	67
Preglednica XXV: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 31	69
Preglednica XXVI: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 32	70
Preglednica XXVII: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 33.....	72
Preglednica XXVIII: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 34.....	73

KAZALO SLIK

Slika 1: Histološki prikaz trebušne slinavke (3)	1
Slika 2: Kemijska formula gemcitabina (v obliki gemcitabinijevega klorida) (46)	18
Slika 3: Mehanizem delovanja gemcitabina (43).....	19
Slika 4: Mehanizem delovanja erlotiniba (47).....	19
Slika 5: Občutljivost in specifičnost	22
Slika 6: Kemiluminescenčna imunološka sendvič metoda.....	31
Slika 7: Izoluminol (70).....	32
Slika 8: Potek reakcije oksidacije luminola (69)	32
Slika 9: Avtomatski analizator LIAISON® (71)	35
Slika 10: Prikaz odstotka pacientov v posamezni skupini.....	47
Slika 11: Prikaz odstotka moških in žensk celotne skupine	47
Slika 12: Normalni Q-Q graf za čas preživetja.....	49
Slika 13: Histogram za skupino brez metastaz (vrednost označevalca CA 19-9 pred kemoterapijo).....	50
Slika 14: Histogram za skupino z metastazami (vrednost označevalca CA 19-9 pred kemoterapijo).....	50
Slika 15: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primere 3, 4 in 9.....	60
Slika 16: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 6.....	61
Slika 17: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 13.....	63
Slika 18: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primere 20, 21, 25 in 26.....	65
Slika 19: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primere 23, 8 in 28.....	66
Slika 20: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 30.....	68
Slika 21: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 31.....	69
Slika 22: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 32.....	71
Slika 23: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 33.....	72

POVZETEK

Rak trebušne slinavke je četrti najpogostejši vzrok smrti zaradi raka, saj ga navadno odkrijemo v napredovali fazi, ko radikalna operacija ni več mogoča. Vloga tumorskega označevalca CA 19-9 se pri bolnikih z rakom trebušne slinavke raziskuje že mnogo let. Do sedaj že obstajajo nekatera priporočila o vlogi označevalca CA 19-9, vendar je potrebno njegovo klinično pomembnost še raziskovati in potrjevati. Zato smo se odločili proučiti in potrditi vlogo označevalca CA 19-9 kot dejavnika prognoze in za ocenitev terapije.

V obdobju od leta 2004–2008 smo na Gastroenterološki interni kliniki v Ljubljani zbrali podatke o 34 pacientih z rakom trebušne slinavke. Diagnoza je bila potrjena s pomočjo UZ in/ali CT preiskave. Vrednosti označevalca CA 19-9 smo merili od postavitve diagnoze raka do zaključka terapije. Koncentracijo označevalca CA 19-9 smo v serumu določili s pomočjo kemiluminescenčne imunološke sendvič metode. S pomočjo statističnih metod smo iskali korelacije med vrednostmi označevalca CA 19-9 in časom preživetja. Skupino pacientov smo razdelili na skupino brez metastaz in skupino z metastazami. Iz dobljenih podatkov smo prišli do naslednjih sklepov:

Iz rezultatov je razvidno, da bi se velikost vrednosti označevalca CA 19-9 pred terapijo in v najnižji točki lahko uporabljala kot napovedni dejavnik bolezni, predvsem pri celotni skupini in skupini brez metastaz. Pravtako podatki kažejo, da je terapija pri teh skupinah dobro učinkovita, kjer je najnižja točka označevalca v statistično značilni povezavi s časom preživetja. Ugotovljamo tudi, da je ob zaključku terapije v obeh skupinah bolezen že toliko razširjena, da sama velikost vrednosti označevalca nima vpliva na čas preživetja. Nasprotno pa podatki kažejo, da je razlika med začetno in najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 v statistično značilni negativni povezavi s časom preživetja pri celotni skupini in skupini z metastazami. To kaže na slabšo učinkovitost terapije. Razlog manjše učinkovitosti terapije je lahko razširjena bolezen, slabo stanje bolnika, preveliki stranski učinki kemoterapevtika. Iz rezultatov je razvidno, da nam sama velikost vrednosti označevalca CA 19-9 v neki točki daje več informacij o povezavah s časom preživetja kot pa sprememba vrednosti označevalca.

Iz grafov, kjer smo pokazali gibanje tumorskega označevalca CA 19-9 v odvisnosti od trajanja terapije, smo ugotovili, da so vrednosti tumorskega označevalca v večini primerov pri skupini z metastazami precej višje od primerov iz skupine brez metastaz. Pri primerih iz skupine brez metastaz vrednosti označevalca padejo blizu ali pod referenčne meje tekom terapije, medtem ko se pri primerih iz skupine z metastazami to ne zgodi. Bolniki pri katerih se je kemoterapija prvega reda izkazala za neučinkovito in so bili v dobrem kliničnem stanju, so prejeli terapijo drugega reda, ki se je izkazala za učinkovito določen čas in tako podaljšala čas preživetja.

Za boljšo reprezentativnost zaključkov bi bilo smiselno razširiti študijo na večjem številu ljudi. Smiselno bi bilo preveriti vlogo tumorskega označevalca CA 19-9 kor faktorja prognoze in za ocenitev terapije v kombinaciji z drugimi klinično pomembnimi označevalci, kot so CEA, CA 125 in različni mucini, saj bi s tem dosegli še večjo občutljivost.

ABSTRACT

Pancreatic cancer is the fourth most common cause of death due to cancer as it is usually detected in an advanced form when a radical operation is no longer possible. The role of the CA 19-9 marker has been investigated on patients with pancreatic cancer for many years. There are some recommendations regarding the role of the CA 19-9 marker, however, its clinical relevance needs to be yet investigated and confirmed. Therefore, we decided to research and confirm the role of the CA 19-9 marker as a prognosis factor and as factor for evaluating therapy.

In the period of 2004–2008 we chose 34 patients with pancreatic cancer at the Gastro-enterological clinic in Ljubljana, Slovenia. The diagnosis was confirmed by ultra sound and/or CT scans. The values of the CA 19-9 marker were measured from the diagnosis of cancer to the end of therapy. The CA 19-9 marker concentration was determined in the serum by chemiluminescence immunological sandwich method. Correlations were investigated using statistical methods between the values of the CA 19-9 marker and survival rate. The patients were divided into a group without metastases and a group with metastases.

From the results it is obvious that the CA 19-9 marker size before therapy and at the lowest marker point can be used as the predictive factor for the disease, especially for the whole group and the group without metastases. The results also show that the therapy in these groups was very effective where the lowest marker point was in connection with survival rate. It was also found that after the therapy in both groups the disease was so advanced that the marker value did not influence the survival time. On the contrary our data shows a statistically significant negative correlation between survival rate and the difference between marker value before therapy and at the lowest marker value for the whole group and for the group with metastases. This correlation indicates that the therapy in these groups was less effective. The reasons for less effective therapy could be drug side effects, bad clinical condition of patients and spread disease. From these results it is obvious that the CA 19-9 marker size gives more information in connection to survival time than its change in size.

From the distribution of the CA 19-9 marker dependent on the therapy duration noted in the graphs it was found that the tumour marker values are mainly much higher in cases of the group with metastases than in cases of the group without metastases. In cases of the group without metastases it was found that the tumour marker values decrease close to or below the reference limit during therapy, whilst in the cases of the group with metastases this was not the case. The patients that received first order chemotherapy which proved inefficient and were in good clinical condition received second order chemotherapy which proved to be efficient and prolonged the survival rate.

For better representational conclusions it would make sense to expand the study to a higher number of patients. It would also make sense to examine the role of the CA 19-9 tumour marker as a prognosis factor and as a factor for evaluating therapy in combination with other clinically relevant markers such as CEA, CA 125 and other mucins, as a higher sensitivity would be achieved.

SEZNAM OKRAJŠAV IN KRATIC

ATP – adenzin-5'-trifosfat {**IUPAC**: [(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-5-(6-aminopurin-9-il)-3, 4-dihidroksioksolan-2-il]metil(hidroksifosfonooksifosforil) hidrogen fosfat)}

3-APA – 3-aminoftalat

CA 19-9 – karcinomski antigen 19-9

CEA – karcinoembrionalni antigen

CLIA – kemiluminescenčna imunološka metoda

CT – računalniška tomografija

CŽS – centralno živčni sistem

dCDA – deoksicitidin deaminaza

dCK – deoksicitidin kinaza

dCMPDA – deoksicitidin monofosfat deaminaza

dCTP – 2'-deoksicitidin-5'-trifosfat {**IUPAC**: [(2*R*, 3*S*, 5*R*)-5-(4-amino-2-oksopirimidin-1-1-il)-3-hidroksioksolan-2-il]metil[hidroksi(fosfonoksi)fosforil]hidrogen fosfat}

df – stopinje prostosti

dFdC (gemcitabin) – 2', 2' – difluoro deoksicitidin {**IUPAC**: 4-amino-[(2*R*, 4*R*, 5*R*)-3, 3-difluoro-4-hidroksi-5-(hidroksimetil)oksolan-2-il]pirimidin-2-on}

dFdCDP – 2', 2'-difluoro deoksicitidin-5'-difosfat (difosfatna oblika gemcitabina)

dFdCMP – 2', 2'-difluoro deoksicitidin-5'-monofosfat (monofosfatna oblika gemcitabina)

dFdCTP – 2', 2'-difluoro deoksicitidin-5'-trifosfat (trifosfatna oblika gemcitabina)

dFdU – 2', 2'-difluorodeoksiuridin {**IUPAC**: 1-[(2*R*, 4*S*, 5*R*)-3, 3-difluoro-4-dihidroksi-5-(hidroksimetil)oksolan-2-il]pirimidin-2,4-dion}

DNK – deoksiribonukleinska kislina

DPAC – duktalni adenokarcinom trebušne slinavke

dUMP – 2'-deoksiuridin-5'-monofosfat {**IUPAC**: [(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-5-(2, 4-dioksopirimidin-1-il)-4-hidroksioksolan-2-il]metil dihidrogen fosfat}

dUTP – 2'-deoksiuridin-5'-trifosfat {**IUPAC**: [(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-5-(2, 4-dioksopirimidin-1-il)-4-hidroksioksolan-2-il]metil(hidroksi-fosfonooksifosforil) hidrogen fosfat}

EGFR – receptor za epidermalni rastni faktor

EGTM – Evropska skupina za tumorske označevalce

ESMO – Evropsko združenje za medicinsko onkologijo

ERCP – endoskopska retrogradna holangiopankreatografija

EUS – endoskopski ultrazvok

FAMMS – družinski atipični melanom sindrom

FDA – Ameriška administracija za zdravila in hrano

FdUMP – fluorodeoksiuridin-5'-monofosfat (monofosfatna oblika spodaj opisane spojine)

FdUTP – 5-fluorodeoksiuridin-5'-trifosfat {**IUPAC**: [(2R, 3S, 4R, 5R)-5-(2, 4-diokso-5-fluoropirimidin-1-il)-4-dihidroksioksolan-2-il]metil[hidroksi(fosfonoski)fosforil] hidrogen fosfat}

FUTP – 5-fluorouridin-5'-trifosfat {**IUPAC**: [(2R, 3S, 4R, 5R)-5-(2, 4-diokso-5-fluoropirimidin-1-il)-3,4-dihidroksioksolan-2-il]metil[hidroksi(fosfonoski)fosforil] hidrogen fosfat}

GIP – gastrični inhibicijski polipeptid

GTP – gvanozin-5'-trifosfat {**IUPAC**: [(2R, 3S, 4R, 5R)-5-(2-amino-6-okso-3H-purin-9-il)-3, 4-dihidroksioksolan-2-il]metil[hidroksi(fosfonoksi)fosforil] hidrogen fosfat}

HNPCC – podedovan nepolipozni kolorektalni rak

NACB – Nacionalna akademija klinične biokemije

P – verjetnost

PET – pozitronska emisijska tomografija

5 FU – 5-fluorouracil {**IUPAC**: 5-fluoro-1H-pirimidin-2,4-dion}

PP – pankreatični polipeptid

RR – ribonukleotid reduktaza

ρ – Spearmanov koeficient

Sig. – signifikanca

TAP – tripsin aktivacijski protein

TGF- β – transformirajoči rastni faktor β

T β R – transmembranski receptor β

TK 2 – timidin kinaza 2

UZ – ultrazvok

VEGF – vaskularni endotelijski rastni faktor

VIP – vazoaktivni intestinalni polipeptid

1. UVOD

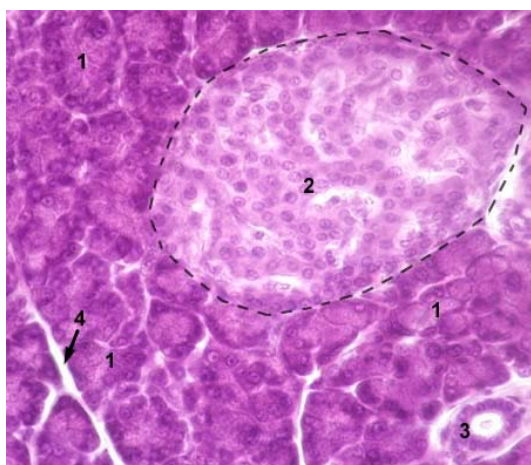
1.2 TREBUŠNA SLINAVKA

1.1.1 HISTOLOGIJA

Trebušna slinavka je lobularna prebavna žleza, ki leži retroperitonealno in je dolga 12 do 15 cm, tehta pa 50 do 120 g. Sestavljajo jo glava s procesusom uncinatusom, vrat, telo in rep. Glavo obdaja dvanajstnikova medialna stena, rep se končuje pri vranici. Trebušno slinavko sestavljata eksokrini in endokrini del. Eksokrini del obsega 85% žleze (1).

Eksokrini del: **Acinus** je osnovna morfološka gradbena enota pankreasa, ki jo sestavljata dva funkcionalna tipa celic: acinarne in duktularne celice. Acinarne celice sestavljajo acinuse, nekaj acinusov pa tvori lobus. Med acinusi leži vezivno tkivo s številnimi kapilarami in živčnimi končiči. Med acinarnimi celicami je odprtina, ki predstavlja začetke pankreatičnega izvodila, duktulusa. Duktulusi se zlivajo v večje interlobularne vode, ti pa v glavni pankreatični vod. Glavni pankreatični vod se zлива v dvanajstnik. Acinarne celice izločajo prebavne encime in vsebujejo številna zimogena zrnca, v katerih so uskladiščeni neaktivni proencimi. Na bazalni membrani acinarnih celic so receptorji za endokrine, parakrine in živčne transitorije. Duktularne celice izločajo velike količine tekočine z visoko koncentracijo natrijevega bikarbonata (1).

Endokrini del: Med acinusi se nahajajo **Langerhansovi otočki**. Sestavljajo jih endokrine celice A, ki izločajo glukagon; celice B, ki izločajo insulin; celice D, ki izločajo somatostatin in gastrin; celice PP, ki izločajo pankreatični polipeptid (PP); ter celice, ki izločajo vazoaktivni intestinalni polipeptid (VIP) (1,2).



Slika 1: Histološki prikaz trebušne slinavke (3)

- 1- acinus
- 2- Langerhansov otoček
- 3- Intralobularni vod
- 4- Interlobularni vezivni septum

1.1.2 FUNKCIJA

Eksokrina funkcija

Po zaužitju hrane nastopi gastrična faza, v kateri se zaradi raztezanja želodca preko živčnih poteh, ki vključuje CZS, stimulira eksokrina sekrecija trebušne slinavke. Prisotnost proteinov, maščob in želodčne kisline v dvanajstniku poveča sekrecijo pankreasnega soka preko hormonov in nevrotansmitorjev (4). **Prebavo hrane** opravijo hidrolitični encimi acinarnih celic. **Nevtralizacijo želodčne kisline** opravi z bikarbonatom bogat pankreatični sok. Bikarbonat iz pankreatičnega soka skupaj z bikarbonatom dvanajstnika in žolča vzdržuje v dvanajstniku vrednost pH 6 ali višjo. Tak pH vzpostavi primerne pogoje za delovanje prebavnih encimov in žolča ter varuje dvanajstnikovo sluznico pred peptično digestijo. Dnevno izloči pankreas v dvanajstnik 1,5–3 litre soka, v katerem je 22 različnih encimov: 15 proteaz, 3 do 6 amilaz, lipaza in fosfolipaze. Pankreatični sok vsebuje aktivirano lipazo in amilazo, drugi encimi so uskladiščeni v zimogenih zrcih acinarnih celic v neaktivni obliki in se aktivirajo šele v dvanajstniku. V fizioloških pogojih aktivira enterokinaza v dvanajstniku tripsinogen v aktivni tripsin, ki sproži verižno reakcijo vseh drugih pankreatičnih encimov. Pri aktivaciji tripsina se od molekule tripsinogena odcepi majhen konec imenovan TAP (tripsin aktivacijski protein), ki v pogojih fiziološke aktivacije tripsina ostaja v dvanajstniku in ga v krvi ne zasledimo. Pri prekomerni aktivaciji tripsina v acinarnih celicah pa se TAP pojavi v serumu in v urinu. Zaradi nevarnosti avtodigestije žleze je vzpostavljenih več fizioloških zaščitnih mehanizmov: npr. acinarne celice sintetizirajo tudi tripsinski inhibitor, imenovan serinski proteazni inhibitor Kazal tip1, ki inaktivira intracelularni tripsin (1).

Eksokrino izločanje trebušne slinavke nadzirajo avtonomno živčevje, peptidni hormoni in hrana, ki s spodbudo ali zavoro uravnavajo tako bazalno kot tudi spodbujeno sekrecijo žleze. Izločanje pankreatičnega soka spodbujajo hrana, nevralski in humoralni dejavniki, predvsem sekretin in holecistokinin, zavirajo pa jo somatostatin, substanca P, peptid YY, neuropeptid in drugi. Sekretin spodbuja predvsem sekrecijo bikarbonata, holecistokinin pa encimov (1).

Endokrina funkcija

Za endokrino funkcijo so odgovorni hormoni, ki se izločajo iz celic Langerhansovega otočka. Hormoni se sproščajo direktno v krvni obtok in nimajo dostopa do duktularnega sistema pankreasa (4). Celice B izločajo insulin, ki sodeluje pri uravnavanju glukoze v krvi. Celice A izločajo glukagon, ki deluje nasprotno insulinu. Celice D izločajo somatostatin, ki zmanjšuje izločanje glukagona in insulina, ter gastrin, ki spodbuja tvorbo solne kisline v želodcu. Celice F izločajo pankreatični polipeptid, ki spodbuja sekrecijo želodčnih encimov in zavira sekrecijo žolča in črevesno peristaltiko (2).

1.2 RAK TREBUŠNE SLINAVKE

1.2.1 INCIDENCA

Rak trebušne slinavke predstavlja približno 2 % vseh rakavih bolezni, ampak je četrti najpogostejši vzrok smrti zaradi raka, saj ga navadno odkrijemo v napredovali fazi, ko radikalna operacija ni več mogoča (5). Incidenca po vsem svetu narašča. Zaradi raka trebušne slinavke letno umre približno 200.000 ljudi ali več, od tega je večji delež umrlih v razvitih državah in manjši delež v državah v razvoju (6). Incidenca je visoka v Združenih državah Amerike, kjer jih letno zbolijo približno 37.000; v istem letu jih za to boleznijo umre 34.000. Razmerje med moškimi in ženskami je približno ena (7). V Evropi je incidenca še višja, namreč za rakom trebušne slinavke letno zbolijo približno 65.000 ljudi. Od tega zbolijo moških med 8,7 (na vzhodu Evrope) in 7,3 (na severu in zahodu Evrope) primerov na 100.000 prebivalcev ter žensk med 5,7 (na severu Evrope) in 4,5 (na vzhodu Evrope) primerov na 100.000 prebivalcev (8). V Sloveniji letno odkrijemo približno 200 ali več novo zbolelih bolnikov. Pretežno zbolevali moški (razmerje moški : ženske = 2,3 :1) po 45. letu starosti. Zbolevnost narašča s starostjo. Tako imajo 80-letniki 36-krat višje tveganje za bolezen kot 40 letniki. Prognoza bolezni je zelo slaba, le 20 % bolnikov preživi 1 leto po postavitvi diagnoze. Petletno preživetje je manj kot 5 % (1).

1.2.2 OPREDELITEV

Rak na trebušni slinavki lahko zraste v eksokrinem ali endokrinem delu žleze. Delež eksokrinega, zvečine duktalnega adenokarcinoma, je 95 % vseh malignih pankreasnih tumorjev. Karcinomi acinarnih celic so redki. Endokrini tumorji pankreasa predstavljajo 17 % vseh pankreasnih tumorjev. (1)

1.2.3 RAZDELITEV

Endokrini tumorji

Insulinom: Je redek tumor in sestoji iz celic, ki sicer spominjajo na celice B pankreasa, vendar nastane iz pluripotentne matične celice. Gre za hormonsko aktiven tumor trebušne slinavke, ki je pretežno benigne narave, redkeje je malignen. Povzroča spontane endogene hipoglikemije. **Glukagonom:** Gre za zelo redek tumor, katerega prevladujoči hormon je glukagon, poleg njega lahko izloča še druge polipeptide. Sestoji se iz celic A2, ki so bolj ali manj podobne celicam A Langerhansovih otočkov. V 70 % je maligne narave, vendar s sorazmerno počasno rastjo in majhno stopnjo malignosti. **Vipom:** Gre za zelo redek tumor, ki izloča vazoaktivni intestinalni peptid (VIP), zato torej vipom. Bolezensko sliko po avtorjih imenujejo Verner-Morrisonov sindrom. Njena glavna značilnost so hude driske, zato jo imenujejo še pankreatična kolera, diarejogeni tumor. Tumor lahko izloča tudi gastrični inhibicijski polipeptid (GIP), pankreatične polipeptide (PP), prostaglandine (E2), serotonin, glukagon, gastrin in sekretin. **Somatostatinom:** To je izjemno redek tumor. Sestavljajo ga celice podobne celicam D Langerhansovih otočkov, ki izločajo naravni somatostatin. Biološki učinki somatostatina so predvsem zaviralni. **Pankreatični polipeptidomi:** To so zelo redki tumorji. Pankreatične polipeptide (PP) izločajo posebne celice v obrobju Langerhansovih otočkov. Fiziološka vloga o teh polipeptidih še ni znana (1).

Eksokrini tumorji

Manj pogosti eksokrini tumorji trebušne slinavke:

Cistadenokarcinom: Pri tem ločimo vodene cistične neoplazme in cistične neoplazme, ki vsebujejo mucin. Cistične neoplazme so predstopnje cistadenokarcinoma in jih ne smemo zamenjati s psevdocistami. Moramo jih kirurško odstraniti, če je le možno. **Papilarne in trdne epiteljske neoplazme:** Frekvenca teh neoplazem se povišuje. Najpogosteje se pojavljajo pri deklicah v adolescenci in mladih ženskah. Te neoplazme imajo značilno sliko pri UZ preiskavi. Pri večini pacientov tumor odstranijo z operacijo. Prognoza je dobra. Ostalo: **tumorji acinarnih celic, tumorji velikih celic, intraduktalni papilarni tumorji, ki vsebujejo mucin** (9).

1.2.4 DEJAVNIKI TVEGANJA

Kajenje – Tveganje za nastanek raka trebušne slinavke je pri kadilcih 2- krat večje kot pri nekadilcih. Študije obdukcij kadilcev so pokazale hiperplastične spremembe pankreatičnih vodov, katere se proporcionalno povečujejo z večanjem porabe cigaret.

Pankreatitis – Kontrolirana študija je pokazala, da je pri ljudeh s kroničnim pankreatitisom tveganje za nastanek raka trebušne slinavke 2-krat večje kot pri ljudeh brez pankreatitisa. Ostale epidemiološke študije so pokazale, da je tveganje 15-krat večje. Pravtako je tveganje za nastanek raka pankreasa povečano pri ljudeh z dednim pankreatitisom.

Operacija – Razne študije so pokazale, da se pri ljudeh, ki so imeli gastrektomijo poveča tveganje za nastanek raka pankreasa od 3–7-krat. Domnevajo, da je to posledica spremenjenega metabolizma zaužitih kancerogenov v preostalem želodcu in dvanajstniku.

Etanol – Dosedanje študije niso pokazale, da je etanol dejavnik tveganja za nastanek raka na pankreasu.

Kava – Italijanska multicentrična študija je pokazala, da več kot tri kave na dan poveča tveganje za nastanek raka trebušne slinavke. Medtem pa kontrolirana Japonska študija in meta analiza podatkov od leta 1981–1993 nista pokazali, da bi kofeinska kava ali brezkofeinska kava ali pravi čaj bili dejavniki tveganja za nastanek raka pankreasa.

Dieta – Študija na poskusnih živalih je pokazala, da so proteini in maščobe promotorji karcinogeneze trebušne slinavke. Pravtako sta 2 klinični študiji na Japonskem pokazali povezavo med uživanjem mesa in rakom pankreasa.

Debelost – Prospektivna kohortna študija je pokazala, da debelost povečuje tveganje za nastanek raka trebušne slinavke. Domnevajo, da je vzrok temu, ker je debelost običajno povezana z nenormalnim metabolizmom glukoze, rezistenco na insulin in hiperinsulinemijo.

Genetski dejavniki – Pregled nacionalnega družinskega registra za tumorje pankreasa je pokazal, da se tveganje za nastanek raka 18-krat poveča pri ljudeh, ki so v prvi stopnji sorodni z ljudmi, ki so že oboleli za genetsko pogojenim rakom pankreasa (9).

1.2.5 KANCEROGENEZA SPLOŠNO

Rak je kompleksen patološki proces, ki ima svoj izvor v spremenjenem genomu. Na celični ravni gre za nebrzdano razmnoževanje celic zaradi okvarjenega nadzora celične delitve ali okvare odmiranja celic.

Celice morajo na svoji poti do malignosti in nesmrtnosti preiti številne prepreke:

Genomska: spremenjeno izražanje protoonkogenov; tumorje zavirajočih genov; genov, ki sodelujejo pri popravljanju napak v molekuli DNA; spremenjeno reaktivacijo encima telomeraz.

Imunska: imunski sistem lahko transformirane celice prepozna kot tuje in jih odstrani. Transformirane celice pa lahko tvorijo različne antigene, ki jih imunski sistem ne prepozna ali pa začnejo izražati molekule, ki uničujejo celice imuskega sistema.

Energijska: z rastjo in večanjem neoplazme prihaja v njenem središču do motenj v oskrbi rakavih celic s kisikom in hranili, zato te začnejo propadati. To prepreko rakave celice premagajo s tem, da izzovejo angiogenezo (10).

Genetske poškodbe somatskih celic prizadenejo dva tipa za kancerogenezo pomembnih genov:

- **Protoonkogene**: so normalni celični geni, ki nosijo zapise za beljakovine, katere sodelujejo pri celičnem razmnoževanju.

Onkogeni nosijo zapise za beljakovine, imenovane onkoproteini, katerih nastajanje v rakavih celicah ni odvisno od rastnih dejavnikov in drugih zunanjih dražljajev. Te beljakovine imajo dodatne ali pa povečane dejavnosti, kar povzroči nenadzorovano celično delitev in rakavo preobrazbo celic. Onkogeni delujejo dominantno, kar pomeni, da je čezmerna aktivnost enega samega alela dovolj, da pospeši delitev celic, čemur sledi klonalna ekspanzija celične linije. Produkti onkogenov so: **rastni faktorji in receptorji za rastne faktorje; beljakovine, ki prenašajo sporočila za celično delitev, transkripcijski dejavniki, regulatorji celičnega ciklusa (10).**

- **Tumorje zavirajoče gene (antionkogeni):** nosijo zapise za beljakovine, ki prekinajo celično razmnoževanje.

S tem posredno ali neposredno nadzirajo delovanje protoonkogenov in nas tako ščitijo pred nebrzdanim razmnoževanjem celic. Delujejo recesivno, kar pomeni, da morata biti mutirana oba alela gena, da izgubijo svojo vlogo v nadziranju celične rasti in da pride do razvoja bolezni. Ker se izguba ali mutacija antionkogenov pojavlja pogosteje kot aktivacija onkogenov, sklepajo, da imajo v kancerogenezi antionkogeni pomembnejšo vlogo kot protoonkogeni. Produkti antionkogenov so: **molekule na celični površini; beljakovine, ki zavirajo prenos signalov rasti in beljakovine, ki uravnavajo transkripcijo molekule DNK v jedru in celični ciklus (10).**

Vznik raka pri človeku je odvisen še od drugih dejavnikov:

- z mutacijami v genih, ki sodelujejo pri popravljanju neletalnih poškodb v molekuli DNA;
- z mutacijami v genih, ki uravnavajo apoptozo;
- s ponovno aktivacijo encima telomeraze (10).

Kancerogeneza je večstopenjski proces, potrebnih je več neodvisnih dogodkov. Sklepajo, da se maligni proces začne z aktivacijo enega onkogenov, za napredovanje tumorja pa se morajo aktivirati še drugi. Verjetnost, da se te večkratne genetske spremembe tudi res zgodijo, narašča s starostjo, odvisna pa je tudi od dednih dejavnikov, delovanja zunanjih kancerogenov in spola (10).

1.2.6 SPREMEMBE GENOV, KI SO POVEZANE Z NASTANKOM DUKTALNEGA ADENOKARCINOMA TREBUŠNE SLINAVKE

Med najpomembnejše genetske spremembe, ki so povezane z nastankom raka trebušne slinavke, spadajo aktivacija onkogenov *K-ras*, inaktivacija genov *p16*, *p53* in *DPC4*, ki spadajo med tumor zavirajoče gene (9). Pri razvoju DPAC gre za vsoto večih mutacij, ki vodijo v transformacijo normalne celice v rakasto (11).

Spremembe pomembnejših onkogenov in antionkogenov

Onkogen *K-RAS* je aktiviran pri 70–100 % primerov duktalnega adenokarcinoma pankreasa. Aktivacija gena *K-RAS* sproži nastanek proteina *K-ras*, ki je GTP-azno aktiven (11). *K-ras* protein sproži multiple efektorske poti, pomembnejše poti so RAF-mitogen aktivirana protein kinazna pot, fosfoinositid-3-kinazna pot in pot RalGDS. Mutiran *K-ras* protein je ves čas v aktivirani obliki, tudi ob odsotnosti signalov rastnih faktorjev. Posledica tega je proliferacija, supresija apoptoze in celičnega preživetja (12). **Tumor zavirajoči gen *p53*** je inaktiviran pri 50–70 % primerov raka trebušne slinavke (12). Protein *p53* je transkripcijski faktor in regulira gene, ki sodelujejo pri apoptozi in v fazi ustavitve celičnega ciklusa. Izguba funkcije proteina *p53* med kancerogenezo vodi v neprimerno celično rast, poveča preživetje celice, in gensko nestabilnost celice (13). Protein *p53* se med drugim veže na dele DNK, kar stimulira nastanek proteina *p21*, ki z negativno regulacijo ustreznih ciklinov preprečuje progresijo celice iz G1 faze v S fazo. Ta mehanizem omogoča, da se popravijo poškodbe, ki so nastale na DNK. Izguba te funkcije vodi v nenormalno rast celice (12). **Gen *p16INK4A/CDKN2A*** je eden najbolj pogosto inaktiviranih tumor zavirajočih genov pri raku pankreasa (12). Protein *p16* spada med inhibitorje od ciklinov odvisnih kinaz. Njegova funkcija je preprečiti fosforilacijo *pRb* (protein retinoblastoma) s inhibicijo od ciklinov odvisnimi kinazami in ciklin D-Cdk4 ter ciklin D-Cdk6 kompleksov. Tako protein *p16*, kot ciklini in od ciklinov odvisne kinaze delujejo kot regulatorji celičnega ciklusa (12, 14). Protein *pRb* se veže na transkripcijski faktor E2F, ki regulira gene nujne za replikacijo DNK. Tako *pRb* inhibira transkripcijo posredovano preko E2F. Kot odgovor na mitogenetsko stimulacijo se *pRb* fosforilira s ciklin odvisnimi kinazami in tako se ne more vezati na E2F. Tako se G1 faza celičnega ciklusa nadaljuje v S fazo (podvojevanje) (11). Kadar je pot *p16/Rb* inaktivirana to vodi v neprimerno progresijo celičnega ciklusa preko G1 faze (12). **Gen *DPC4 (Smad4)*** je pravtako eden najbolj pogosto inaktiviranih genov pri duktalnem adenokarcinomu pankreasa (12). Transkripcijski faktor *SMAD4* je pomemben regulator signalne poti transformirajočega rastnega faktorja- β (*TGF- β*) (15). *TGF- β* se nahaja v ekstracelularnem prostoru in se veže na transmembranski receptor *T β R*, kar omogoči fosforilacijo citoplazemskih proteinov *Smad2* in *Smad3*. Ta dva proteina se povežeta s *Smad4* in ta heterokompleks se prenese v jedro celice. Heterokompleks v jedru sodeluje pri regulaciji aktivnosti transkripcije (11). Izguba *SMAD4/DPC4* funkcije se kaže kot zmanjšana inhibicija rasti preko proapoptotične signalizacije ali neprimerne prehoda G1/S (12, 15).

Rastni faktorji so proteini, ki kontrolirajo celično diferenciacijo in proliferacijo. Motnje pri inhibiciji rasti in obilje promotorjev rastnih faktorjev daje rakasti celici izrazito prednost pri rasti, ki se klinično kaže kot hitra progresija tumorja. Pri raku pankreasa ima izrazito vlogo prekomerno izražen receptor za epidermalni rastni faktor (**EGFR**). V družino epidermalnega rastnega faktorja spadajo štirje receptorji, ki so z membrano povezani glikoproteini. Imenujejo se HER-1 (ErB-1), HER-2/NEU (ErB-2), HER-3 (ErB-3) in HER-4 (ErB-4) (16).

Angiogeneza je proces pri katerem nastajajo nove žile, ki omogočajo preživetje tumorski neoplazmi. V tem procesu se poveča aktivnost angiogenetskih dejavnikov in zmanjša nastajanje snovi, ki zavirajo angiogenezo (10). Pri raku trebušne slinavke se je pokazala povečana ekspresija vaskularnega endotelijskega faktorja (**VEGF**). Pokazano je bilo tudi, da onkogen *K-Ras* inducira ekspresijo *VEGF* in inaktivacija *p53* reducira ekspresijo trombosponina-1, antiangiogenetskega dejavnika (11).

Pri večini primerov raka trebušne slinavke gre za multifaktorsko bolezen, ki vključuje genske dejavnike in dejavnike okolja. V manj primerih je bolezen dedna. Do sedaj je bilo opisanih pet podedovanih motenj, ki znatno povečajo možnost nastanka raka trebušne slinavke. Med te spadajo: družinski dojka/jajčnik rak sindrom (posledica podedovane mutacije gena *BRCA2*), FAMM sindrom (posledica mutacije gena *p16*), Peutz-Jeghers sindrom (posledica podedovane mutacije genov *STK11/LKB1*), podedovan pankreatitis (posledica mutacije gena *PRSS19*) in podedovan HNCPP (posledica mutacije genov *hMLH1* ali *hMSH2*) (12).

1.2.7 PATOLOGIJA

Dve tretjini primerov duktalnega adenokarcinoma se pojavlja v glavi žleze, ostalo pa v telesu, repu ali razpršeno po celotnem pankreasu. Običajno postavimo diagnozo, ko je tumor glave velik najmanj 2 cm oziroma tumor repa ali telesa velik 5–7 cm (9).

Stadij adenokarcinoma trebušne slinavke določamo s pomočjo **TNM klasifikacije** (preglednica I in II).

Preglednica I: TNM klasifikacija (9)

TNM KLASIFIKACIJA	KARAKTERISTIKE
T1	tumor se nahaja le v pankreasu
T2	tumor je razširjen v dvanajstnik, žolčni vod ali peripankreasno tkivo
T3	tumor je razširjen v želodec, vranico, debelo črevo, sosednje velike žile
N0	ni metastaz v regionalnih limfnih vozlih
N1	so metastaze v regionalnih limfnih vozlih
M0	ni prisotnih oddaljenih metastaz
M1	prisotne oddaljene metastaze

Preglednica II: Stadij adenokarcinoma trebušne slinavke (9)

STADIJ	KARAKTERISTIKE
stadij I	T1-2, N0, M0
stadij II	T3, N0, M0
stadij III	T1-3, N1, M0
stadij IV	T1-3, N0-1, M1

1.2.8 KLINIČNA SLIKA

Najpogostejši klinični simptomi bolezni so bolečina, zlatenica in hujšanje. Bolečina je podobna kot pri kroničnem pankreatitisu. Hujšanje povzroča huda inapetenca. Zlatenica je zapornega tipa, pojavi se pri raku v glavi žleze, lahko tudi brez bolečin. Pogosto jo spremlja hud srbež kože. Rak v drugih predelih pankreasa je brez zlatenice. Kar pri 60 do 80 % bolnikov se pojavi tudi sladkorna bolezen. Pri nekaterih bolnikih se rak pokaže s sliko akutnega pankreatitisa. Rak na trebušni slinavki pogosto spremlja vnetje ven na spodnjih okončinah, ki se selijo in flebotromboza globokih ven medenice in okončin.

Pri kliničnem pregledu lahko pri četrtini bolnikov otipljemo v zgornjem delu trebuha tumor, številni pa imajo zaradi metastaz povečana, grčasta, trda jetra. Neredka je blastomska tromboza portalne ali vranične vene. Takrat otipamo povečano vranico. Pri bolnikih z zasevki po peritoneju se v trebušni votlini nabira prosta tekočina - ascites. Za karcinom glave trebušne slinavke, ki zajame spodnji del žolčevoda, je značilen Courvoisierjev znak (1)

1.2.9 DIAGNOSTIKA

Rak na trebušni slinavki ugotovimo s slikovnimi preiskavami in potrdimo s citološkim pregledom punktata pankreasa (1).

Prva slikovna preiskava je **ultrazvočni pregled (UZ)**, ki je široko dostopna neinvazivna metoda ter najcenejša izmed vseh radioloških tehnik. Slabosti UZ preiskave so slaba reproducibilnost, subjektivnost preiskave, morebitna omejenost kvalitete posnetkov zaradi bolnikove debelosti, mišic adbominalne stene in prisotnosti zraka v črevesju (9). Z UZ preiskavo ugotavljamo tumorje v žlezi (večje od 2 cm), razširitve in zožitve pankreatičnih in žolčnih vodov, žolčne kamne, jetrne metastaze in razširitve bolezni zunaj trebušne slinavke (1). Pri diagnosticiranju tumorja pankreasa je občutljivost UZ preiskave 70 % in specifičnost 90 % (9). Za določanje stadija bolezni raje uporabljamo **računalniško tomografijo (CT)** zaradi boljše ločljivosti od UZ preiskave (1). Za diagnostiko in ugotavljanje stadija bolezni pred operacijo pa je najboljša **spiralna računalniška tomografija**. Daje informacije o naravi in položaju lezije, njeni resektabilnosti in žilni anatomiji (9). Kadar nam CT priskava ne daje zadovoljivih odgovorov, predvsem glede resektabilnosti tumorja, je najbolj uporabna **endoskopska ultrazvočna preiskava (EUS)**. EUS daje pomembne informacije o stadiju tumorja in njegovi resektabilnosti (zanesljivost lokalne opredelitve) (9). Pokaže že zelo majhne tumorje (s premerom 2 cm) in morebitno infiltracijo portalne vene in arterij ter tako pomaga pri določanju stadija bolezni (1). Specifičnost in občutljivost te metode sta 100 % in 99 %. Omejitve te metode so naslednje: potrebni strokovnjaki za izvedbo metode, variabilnost v interpretaciji rezultatov, z metodo ne moremo določiti prisotnosti metastaz v oddaljenih organih, težave pri razlikovanju med žariščnim pankreatitisom in tumorjem (9). **Magnetna resonanca** trenutno ne pomeni bistvenega napredka v diagnostiki, čeprav je kontrastnost tkiva pankreasa pri magnetni resonanci nekoliko boljša kot pri računalniški tomografiji (1, 9).

Pravtako je v primeru, ko nam CT preiskava ne daje zadovoljivih odgovorov, zelo primerna **endoskopska retrogradna holangiopankreatografija (ERCP)** (9). Z ERCP pogosto potrdimo diagnozo (1). Občutljivost in specifičnost te metode sta 95 % in 85 % (9). Endoskop uvedemo v descendentni del dvanajstnika. Kadar tujerodno tkivo vrašča ali pritiska v dvanajstnik, najdemo že pri endoskopskem pregledu na tem delu zožitev. Ob preiskavi odvezamo vzorec za histološko preiskavo (1). Če je potrebno lahko med

preiskavo vstavimo opornico v zožen del žolčnega voda, vendar rutinsko vstavljanje opornic za znižanje pritiska v žolčnem vodu ni priporočljivo (9). Z rentgenskim slikanjem prikažemo spremembe na vodih trebušne slinavke. Spremembe so najpogostejše, ko je tumor večji od 3 cm. Za majhne tumorje je metoda nezanesljiva. Vrednotenje rezultatov preiskave lahko otežujejo razlikovanja sprememb na vodih, ki jih povzroči kronično vnetje žleze (1). Različne slikovne metode so v fazah raziskave z namenom boljšega in čimprejšnjega diagnosticiranja stadija raka trebušne slinavke. Med drugim sta v fazi raziskave **pozitronska emisijska tomografija (PET)** in **PET v kombinaciji z računalniško tomografijo (PET-CT)**. Raziskave kažejo, da ti metodi dajeta dodatne informacije v primerjavi z ostalimi slikovnimi metodami, glede stadija bolezni in to bi lahko vplivalo na boljšo izbiro terapije za bolnike z rakom trebušne slinavke (17, 18).

Kadar nobena od slikovnih preiskav ne daje zadovoljivih rezultatov za postavitev diagnoze, se zdravniki poslužujejo **eksploracijske laparotomije**, pri čemer gre za kirurško odprtje trebuha zaradi pregleda abdominalnih organov. Če obstaja sum, da so tam bolezenski procesi se odvzamejo patološko spremenjena tkiva za preiskave (9).

Za identifikacijo tumorja trebušne slinavke uporabljamo **predoperacijsko aspiracijo s tanko iglo**. Gre za invazivno preiskavo, ki jo izvajamo perkutano s fino tanko iglo s pomočjo ultrazvoka ali računalniške tomografije. Tako dobimo vzorec za citološko oziroma histopatološko preiskavo. Komplikacije, ki lahko nastanejo pri tej preiskavi, so krvavitve, pankreatitis, pankreasna fistula. Zelo uporabna je pri pacientih, ki niso primerni za operacijo zaradi neresektabilnosti tumorja ali drugih zdravstvenih težav, da potrdimo diagnozo in identificiramo tumor. Ta informacija nam olajša vodenje bolezni, predvsem izbiro terapije (kemoterapija, radioterapija). Moramo še poudariti, da negativen rezultat aspiracije še ne izključuje malignega procesa (9).

V diagnostiki raka trebušne slinavke so **laboratorijske preiskave** manj pomembne. Pogosto je pospešena sedimentacija, prisotna je slabokrvnost. Pri zlateničnih bolnikih so zvišani bilirubin, predvsem direktni, alkalna fosfataza, gama-GT in transaminaze, lahko tudi pankreasni encimi. Tumorski označevalci so pri iskanju tumorja v začetni fazi manj pomembni, toda ko ugotovimo diagnozo, ima 85 % bolnikov zvišano koncentracijo karcinoembrionalnega antigena (CEA). Občutljivost karbohidratnega antigena CA 19-9

(CA 19-9) je nekoliko višja. Bolj uporabni so za zasledovanje poteka bolezni med terapijo in za ugotavljanje recidivov (1).

Največji **diferencialno diagnostični** problem je kronični pankreatitis (1). Namreč obe bolezni imata lahko podobne simptome kot so: bolečina, izguba teže, endokrina in eksokrina disfunkcija trebušne slinavke. Pravtako so podobnosti pri slikovni diagnostiki kot npr. nenormalni vodi trebušne slinavke, cistične lezije (9).

1.2.10 ZDRAVLJENJE

Operativno zdravljenje raka trebušne slinavke predstavlja optimalno možnost ozdravitve. Ostali načini zdravljenja so paliativni, ki so lahko operativni ali neoperativni. Cilj **paliativnega zdravljenja** je odpraviti bolečino in izboljšati kvaliteto bolnikovega življenja (1).

Operativno zdravljenje

Le pri približno 15-20 % pacientov z rakom trebušne slinavke je tumor operabilen, saj je diagnoza večinoma postavljena v že napredovali fazi bolezni (19). Prisotnost jetrnih metastaz, karcinoza peritoneja in tumorska infiltracija v visceralne arterije pomenijo, da je proces neoperabilen (9). V primeru resektabilnosti je izbira **operativne metode** odvisna predvsem od lokalizacije tumorja trebušne slinavke. Glede na lokalizacijo tumorja izbiramo med štirimi glavnimi operacijami, katere so standardna **Whipplov-a pankreatikoduodenalna resekcija**, **pilorus-ohranjujoča pankreatikoduodenalna resekcija** (tumor glave trebušne slinavke), **distalna pankreatektomija** oziroma **leva subtotalna pankreatektomija s splenektomijo** (tumorji trupa in repa trebušne slinavke) ter **totalna pankreatektomija** (multilokularen rak trebušne slinavke) (20, 21). Standardna Whippleva operativna metoda zajema delno gastrektomijo, holecistektomijo, odstranitev glave trebušne slinavke, oddaljenega žolčnega voda, dvanajstnika, proksimalnega jejunuma in regionalnih limfnih vozlov. Rekonstrukcija zahteva pankreatikoenterične anastomoze, ki so glavni razlog smrti zaradi operacije, vendar se je smrtnost v visoko specializiranih centrih zmanjšala na manj kot 2 % (9). Posledice anastomoz oziroma same operacije so pankreasna fistula, sepsa, krvavitve, zapoznelo gastrično praznjenje, eksokrina insuficienca trebušne slinavke, sladkorna bolezen in drugo. Pravtako je pankreasna fistula posledica distalne pankreatektomije, vendar je obolevnost in smrtnost po tej operativni metodi manjša. Glavne posledice totalne pankreatektomije so povezane z hudimi

eksokrinimi in endokrinimi anomalijami trebušne slinavke, katere je težko nadzirati (9, 22). Zaradi teh zapletov po operaciji in izboljšanja preživetja se izvajajo razne raziskave o boljših tehnikah operacij. Z raziskavami je bilo do sedaj pokazano, da ni značilne razlike med standardno in pilorus-ohranjujočo Whipplov-o resekcijo glede umrljivosti, obolevnosti in dolgoletnega preživetja (23, 24). Glede kvalitete življenja bolnika po operaciji (izguba teže, pomanjkanje hranil in zapoznelo gastrično praznjenje), so si raziskovalci zaenkrat neenotni (25, 26). Do sedaj tudi randomizirane kontrolirane študije niso pokazale značilno pomembnih prednosti obsežnejše limfadenektomije v primerjavi s standardno limfadenektomijo pri pankreatikoduodenektomiji glede dolgoletnega preživetja (27, 28). Tumor trebušne slinavke pogosto infiltrira v portalne ali superiorne mezenterične vene, zato so bile narejene študije na področju mezenterične-portalne venske resekcije. Zaenkrat soglasje o vlogi te resekcije ne obstaja, saj študije niso pokazale značilnih prednosti te resekcije glede dolgoletnega preživetja v primerjavi s samo pankreatikoduodenektomijo (29, 30). Kljub radikalnosti operacij je petletno preživetje približno le 10–20 %. Kar nakazuje, da sama operacija ni dovolj za izboljšanje preživetja, ampak je potrebna adjuvantna terapija (31). Na samo preživetje po operaciji pa vplivajo predvsem velikost tumorja, prisotnost rezidualnega tumorja, prisotnost metastaz v bezgavkah, diferenciranost tumorja, prisotnost invazije v perinevralne in krvne žile ter nenazadnje splošno stanje bolnika (19).

Paliativni kirurški posegi se uporabljajo predvsem za lajšanje zlatenice in pri zapori dvanajstnika. Žolčni sistem skušamo razbremeniti s transendoskopsko oziroma perkutano vstavitvijo endoprotez ali z biliodigestivno anastomozo. Pri zapori dvanajstnika pa napravimo gastroenteroanastomozo. Pri pacientih brez teh simptomov in pri katerih je bilo dokazano, da je tumor neoperabilen, operativna terapija sploh ni smiselna (9, 21).

Neoperativno zdravljenje

V času diagnoze ima tretjina bolnikov že lokalno napredovalo bolezen, polovica bolnikov pa ima že razširjeno metastatsko bolezen. Srednje preživetje bolnikov z lokalno napredovalim rakom trebušne slinavke je od 8–12 mesecev, bolnikov s sistemsko razširjeno boleznijo pa od 3–6 mesecev (5).

Na podlagi randomiziranih kontroliranih kliničnih študij je **Evropsko združenje za medicinsko onkologijo (ESMO)** postavilo priporočila zdravljenja raka trebušne slinavke glede na stadij bolezni (preglednica III). Pri bolnikih s **stadijem I** je tumor operabilen, zato napravimo ustrezno radikalno pankreatično resekcijo. Po operaciji je priporočena naslednja adjuvantna terapija, in sicer kemoterapija 6-ih ciklov s **5FU ali gemcitabinom** glede na dve randomizirani študiji (8). Prva študija je pokazala, da adjuvantna kemoterapija značilno izboljša preživetje pri bolnikih z operabilnim tumorjem v primerjavi z bolniki, ki niso prejeli kemoterapije (32). Druga študija je pokazala, da postoperativna terapija z gemcitabinom značilno podaljša čas do ponovne pojave bolezni v primerjavi s kontrolno skupino (13,4 mesecev vs 6,9 mesecev; $P < 0,001$) (33). V posebno skupino spadajo bolniki z mikroskopskim rezidualnim tumorjem. Po priporočilih ESMO bi lahko bila primerna terapija s 5FU in obsevanjem glede na podatke iz nedavne meta-analize randomiziranih študij adjuvantne terapije pri raku trebušne slinavke. Meta-analiza je pokazala, da je kemoradioterapija bolj učinkovita od kemoterapije pri tej skupini bolnikov. Vendar so potrebne nadaljnje študije o vlogi kemoradioterapije pri tej skupini pacientov (34). Podobna priporočila veljajo za skupino bolnikov s **stadijem IIA**. Bolnike s **stadijem IIB in III** so dolgo časa zdravili s kemoradioterapijo (8). Pomemben predlog zdravljenja za bolnike z lokalno napredovalim rakom trebušne slinavke, je pokazala retrospektivna analiza pacientov vključenih v GERCOR študije. Namreč pacienti so najprej prejeli **gemcitabin** (začetna kemoterapija) 3 mesece. Če v tem času ni prišlo do napredovanja bolezni in če so bili bolniki v dobrem kliničnem stanju, so nato bili zdravljeni s **kemoradioterapijo** (osnovana na 5-FU) ali pa so nadaljevali s kemoterapijo. Srednje celotno preživetje je bilo pri skupini bolnikov, ki so bili zdravljeni s kemoradioterapijo značilno boljše od skupine bolnikov, ki so nadaljevali s kemoterapijo (15 vs 11,7 mesecev, $P = 0,0009$). Vendar so potrebne nadaljnje prospektivne študije za potrditev takšne strategije zdravljenja (35). Za zdravljenje bolnikov v **stadiju IV** se večinoma uporablja **gemcitabin**. Narejenih je bilo veliko kliničnih študij v katerih so gemcitabin kombinirali s drugimi citostatiki ali tarčnimi zdravili (5, 8). Leta 2007 je Evropska agencija za zdravila odobrila kombinirano terapijo gemcitabina z **erlotinibom** (5). V klinični raziskavi III. faze je bilo pokazano, da je srednje preživetje bolnikov, zdravljenih s kombinacijo, pomembno daljše (6,38 meseca vs. 5,95 meseca, $P = 0,02$) od srednjega preživetja bolnikov zdravljenih samo z gemcitabinom (36). Tudi David Cunningham s sodelavci je v raziskavi III. faze pokazal večjo učinkovitost kombinacije gemcitabina s **kapecitabinom**. S kombinacijo so dosegli

pomembno daljše celotno preživetje ($P=0,026$) in tudi daljše srednje preživetje (7,4 meseca) (37). Tudi kombinacija z **oksaliplatinom** se je v raziskavi III. faze izkazala za učinkovitejšo od monoterapije z gemcitabinom. Kombinacija sicer ni pomembno podaljšala celostnega preživetja (8,8 meseca vs. 6,9 meseca, $P=0,15$), čas do napredovanja bolezni pa je bil pomembno daljši pri kombinirani terapiji kakor pri monoterapiji z gemcitabinom (5,8 meseca vs. 3,7 meseca, $P=0,04$). Tudi odgovor na zdravljenje s kombinirano terapijo je bil boljši (26,8% vs. 17,3 %, $P=0,03$) (38). V randomizirani raziskavi III. faze se je izkazalo za učinkovito tudi zdravljenje z gemcitabinom v kombinaciji z **epidoksorubicinom, s cisplatinom in 5-FU**. Preživetje je bilo pomembno daljše pri kombiniranem zdravljenju (5,4 % vs. 3,3 %, $P=0,0033$), večji je bil delež odgovorov (38,5 % vs. 8,5 %, $P=0,008$) ter daljše je bilo enoletno preživetje (38,5 % vs. 21,3 %). Vendar je bilo pri bolnikih zdravljenih s kombinirano terapijo več neželenih učinkov (39). Obetajoče so bile raziskave II. faze, kjer so primerjali učinkovitost gemcitabina z biološkimi zdravili, kot so inhibitorji EGFR (**cetuksimab**) in inhibitorji VEGF (**bevacizumab**) (5). Vendar raziskavi III. faze nista pokazali izboljšanja preživetja pri kombinaciji gemcitabina z bevacizumabom ter s cetuksimabom (40, 41). Za prvi red systemskega zdravljenja pri napredovalem raku trebušne slinavke se uporablja gemcitabin ali gemcitabin v kombinaciji z erlotinibom. Ne obstajajo standardi glede drugega reda terapije. Priporočamo ga pri bolnikih, ki so še v dobrem stanju zmogljivosti, in pri tistih, pri katerih smo dosegli odgovor na zdravljenje. Lahko se uporabljajo naslednje kombinacije: gemcitabin plus erlotinib (če bolnik ni prejemal erlotiniba v prvem redu), gemcitabin plus kapecitabin, gemcitabin plus oksaliplatin ter gemcitabin plus cisplatin plus epidoksorubicin plus 5-FU (5).

Preglednica III: Stadij raka trebušne slinavke in njegovi opisi (8)

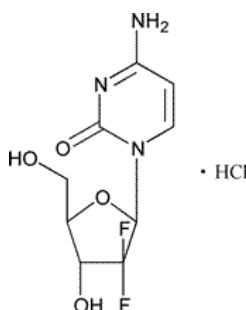
STADIJ	OPIS STADIJA
stadij 0 (Tis, N0, M0)	tumor je omejen le na zgornje plasti duktalnih celic trebušne slinavke, ni razširjen izven trebušne slinavke
stadij IA (T1, N0, M0)	tumor je omejen na trebušno slinavko, velikosti manj od 2 cm ter ni razširjen v bližnje limfne vozle oziroma oddaljene strukture
stadij IB (T2, N0, M0)	tumor je omejen na trebušno slinavko, velikosti večje od 2 cm ter ni razširjen v bližnje limfne vozle oziroma oddaljene strukture
stadij IIA (T3, N0, M0)	tumor raste izven trebušne slinavke, ampak ni razširjen v večje krvne žile ter bližnje limfne vozle oziroma oddaljene strukture
stadij IIB (T1-3, N1, M0)	tumor je ali omejen na trebušno slinavko ali raste izven trebušne slinavke, ampak ni razširjen v večje krvne žile; tumor je razširjen v bližnje limfne vozle, ampak ne v oddaljene strukture
stadij III (T4, katerikoli N, M0)	tumor raste izven trebušne slinavke v večje krvne žile, lahko je razširjen v bližnje limfne vozle, ni razširjen v oddaljene strukture
stadij IV (katerikoli T, katerikoli N, M1)	rak trebušne slinavke je razširjen v oddaljene strukture

Vloga radioterapije pri adjuvantnem zdravljenju raka trebušne slinavke ni jasno definirana. Raziskave potekajo na področju modernejših tehnik radioterapije (42). Poleg tega vse večje poznavanje intraceličnega mehanizma delovanja že uporabljenih kemoterapevtikov, predvsem gemcitabina vodi v poznavanje mehanizmov rezistence teh zdravil in s tem v razvoj boljših strategij zdravljenja (43, 44). Nenazadnje vse večje poznavanje patogeneze raka trebušne slinavke vodi v razvoj tarč za zdravila na molekularni ravni. Veliko obetajočih raziskav je bilo narejenih na področju genske terapije, inhibitorjev angiogeneze, onkolitičnih virusov, imunoterapije itn (45).

1.2.11 MEHANIZEM DELOVANJA 5-FU, GEMCITABINA, KAPECITABINA IN ERLLOTINIBA

5-FU (5-fluorouracil) je citostatik, in sicer fluoropirimidinski analog uracila. Inhibira encim timidilat sintazo preko 5-FU metabolita, fluorodeoksiuridilata (FdUMP). Posledica tega je akumulacija deoksiuridilata (dUMP), ki se napačno vgrajuje v DNK v obliki deoksiuridin trifosfata (dUTP). Napačno vgrajevanje vodi v inhibicijo sinteze DNK in njene funkcije. Vgrajevanje fluorouridin trifosfata (FUTP) povzroči spremembe v RNK procesiranju in translaciji ter vgrajevanje fluorodeoksiuridin trifosfata (FdUTP) v DNK vodi v inhibicijo sinteze in funkcije DNK (44).

Gemcitabin (2', 2'-difluoro deoksicitidin, dFdC) je analog deoksicitidina s fluorovim substituentom (slika 2) (44). Je predzdravilo, saj se v celici fosforilira do aktivnih metabolitov. V celico vstopa s pomočjo nukleozidnih transporterjev, ki se nahajajo v celični membrani. Večina gemcitabina vstopa v celico preko humanih natrij-neodvisnih nukleozidnih transporterjev (hENT), in sicer preko hENT1 in hENT2. V celici se gemcitabin fosforilira s pomočjo deoksicitidin kinaze (dCK) v monofosfat (dFCMP), nato se pretvori do aktivnih metabolitov gemcitabin di- in trifosfatov. Gemcitabin se lahko prav tako fosforilira s pomočjo timidin kinaze 2 (TK2), čeprav specifičnost gemcitabina za ta encim predstavlja le 5–10 % specifičnosti deoksicitidina. V celici se gemcitabin inaktivira na več načinov. V glavnem poteka inaktivacija gemcitabina preko deoksicitidin deaminaze (dCDA) v difluorodeoksiuridin (dFdU). Pravitako poteka deaminacija monofosfatne oblike s pomočjo deoksicitidin monofosfat deaminaze (dCMPDA). Monofosfatno obliko gemcitabina 5'-nukleotidaza pretvori nazaj v nukleozid. Gemcitabin in dFdU se več ne razgrajujeta, ampak se izločita iz celice. Aktivni metaboliti gemcitabina delujejo na več tarč v celici. dFdCTP je inhibitor DNK polimeraze in se inkorporira v DNK. Po vključitvi še enega nukleotida v DNK pride do terminacije podaljševanja verige. Dodaten nukleotid zakrije dFdCTP pred popravljivimi DNK encimi. To je glavni mehanizem gemcitabina, ki vodi v celično smrt. Pravitako se dFdCTP vključi v RNK, kar vodi v inhibicijo njene sinteze. Različni metaboliti gemcitabina inhibirajo različne encime. Inhibicija ribonukleotid reduktaze (RR) poteka preko dFdCDP, kar vodi v izpraznitev dCTP-ja in s tem v bolj učinkovito fosforilacijo gemcitabina. Pravitako metaboliti gemcitabina inhibirajo citidin trifosfat sintazo in deoksicitidilat deaminazo. Nedavno je bilo pokazano tudi, da gemcitabin zastruplja topoizomerozo I, kar prispeva k večji citotoksičnosti učinkovine (slika 3) (43).



Slika 2: Kemijska formula gemcitabina (v obliki gemcitabinijevega klorida) (46)

Kapecitabin je analog fluoropirimidina, in sicer je predzdravilo, saj se nahaja v obliki fluoropirimidin karbamata. V tumorskem tkivu se preko treh zaporednih encimskih reakcij pretvori v 5'-deoksi-5-fluorouridin. Zadnji encim timidin fosforilaza se nahaja v večjih količinah v tumorskem tkivu v primerjavi z normalnim, zato deluje selektivno. Mehanizem delovanja kapecitabina je enak kot pri 5-FU in v glavnem se uporablja pri metastaziranem raku kolona (44).

1.3 TUMORSKI OZNAČEVALCI

Ustaljena definicija tumorskih označevalcev v klinični onkologiji zajema predvsem snovi, ki so produkt 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, ko so v normalnem organizmu prisotne v veliko nižjih koncentracijah. Določanje tumorskih označevalcev nam pomaga pri diagnozi bolezni, napovedovanju njenega poteka, pri določanju stadija bolezni, izbiri načina zdravljenja ter pri zgodnjem odkrivanju ponovitve in razširitve bolezni. Doslej znani označevalci so manj primerni za odkrivanje primarnih malignih obolenj, zato jih le redko uporabljamo kot presejalno metodo. Poleg tega vseh označevalcev ne uporabljamo z istim namenom; nekateri so primernejši za spremljanje dinamike bolezni, drugi za zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni. Pravtako so lahko tumorski označevalci tudi napovedni dejavniki (48).

1.3.1 LASTNOSTI TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Lastnosti idealnega tumorskega označevalca:

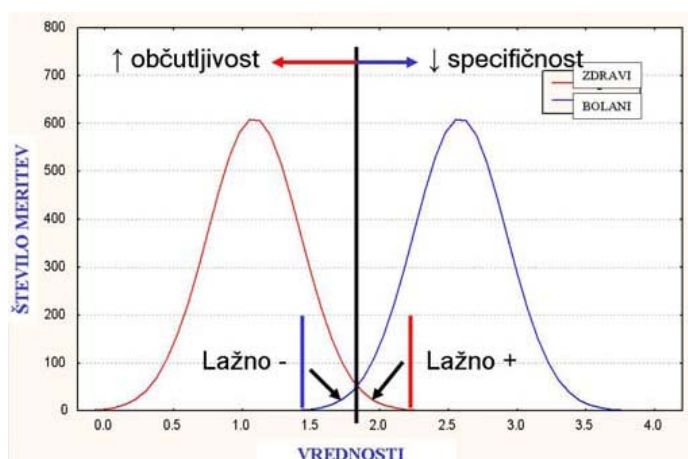
- naj bi bil prisoten le v tumorskih celicah,
- značilen naj bi bil za organ in vrsto tumorja,
- določljiv v serumu vseh bolnikov z istim tipom tumorja,
- tvoril naj bi se v zadostnih količinah in bil dokazljiv v serumu že na začetku razvoja tumorja,
- serumske koncentracije naj bi odražale velikost tumorske mase,
- serumske koncentracije naj bi bile uporabne kot napovedni dejavnik poteka bolezni pri bolnikih z neko vrsto tumorja,

- razpolovni čas označevalca bi naj bil dovolj kratek – v času remisije se njegova sinteza zmanjša, vrednosti v krvi morajo dovolj hitro padati tako, da jih več ne detektiramo ali pa v majhnih količinah,
- analiza tumorskih označevalcev mora biti analitično občutljiva, specifična, natančna, točna, enostavno izvedljiva, hitra in poceni (48, 49).

Vse do danes pa še ne poznamo antigenske strukture, ki bi obstajala samo v malignih tumorskih celicah, kar pomeni, da lahko protitelesa proti posameznim tumorskim označevalcem navzkrižno reagirajo tudi z drugimi antigenskimi strukturami. Zaradi tega ne moremo govoriti o povsem specifičnem označevalcu ali metodi za spremljanje prisotnosti malignih tumorskih celic. Pri vrednotenju rezultatov moramo vedno imeti v mislih, da maligna bolezen ni edini vzrok za povišane vrednosti tumorskih označevalcev, ampak da obstaja več faktorjev, ki vplivajo na njihovo koncentracijo. V večjih koncentracijah se lahko tvorijo pri nekaterih nerakavih procesih (vnetja, benigni tumorji, bolezni jeter in trebušne slinavke) ter različnih fizioloških stanjih (nosečnost, menstruacija, laktacija). Lahko pa se tvorijo tudi v povsem zdravih tkivih.

Vlogo in uporabno vrednost posameznega tumorskega označevalca in metode z določeno vrsto rakave bolezni natančno opredelimo s pojmom občutljivost in specifičnost. **Občutljivost** označevalca pove pri kolikšnem deležu bolnikov z določenim tumorjem je serumski (urinski, plazemski, likvorski) nivo označevalca povišan. Čim večji je delež bolnikov z istovrstnim tumorjem, pri katerih je nivo povišan, tem bolj senzitiven je označevalec, zato pričakujemo minimalno število lažno negativnih določitev. Lažno negativni rezultati pa so lahko posledica popolnega izostanka sinteze označevalca, slabo izražene antigenske determinante ali tvorbe le v nekaterih tumorskih celicah, slabe prekrvavitve tumorja, nastajanja imunskih kompleksov z organizmu lastnimi protitelesi ter hitrega razpada in izločanja antigenov. **Specifičnost** predstavlja delež preiskovancev, ki nimajo rakavega obolenja in imajo normalen nivo označevalca. To pomeni, da je označevalec tem bolj specifičen, čim manjkrat je prisoten pri ljudeh brez določene vrste tumorja oziroma čim manj je lažno pozitivnih določitev. Lažno pozitivni rezultati pa so posledica vnetnih procesov, benignih obolenj jeter, nekroze tumorja, motenj v delovanju ledvic, fizioloških stanj ter diagnostičnih in terapevtskih postopkov.

Idealen tumorski označevalec naj bi bil potemtakem 100% specifičen in občutljiv za vrsto maligne bolezni, njegova referenčna vrednost pa naj bi bila 0. Referenčna vrednost je tista arbitrarno določena koncentracija označevalca, nad katero govorimo o povišanih vrednostih. Ker kot tumorske označevalce zaenkrat 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. Torej referenčno vrednost moramo postaviti tako, da imamo čim manj lažno negativnih in čim manj lažno pozitivnih rezultatov (preglednica IV, slika 5). Če je pri isti vrsti rakave bolezni mogoče določati več označevalcev, lahko z uporabo njihove kombinacije povečamo občutljivost. Toda le ob pravilni izbiri označevalcev se specifičnost minimalno zmanjša, medtem ko se občutljivost pomembno poveča (48).



Slika 5: Občutljivost in specifičnost

Preglednica IV: Prikaz specifičnosti in občutljivosti (50)

	Označevalec povišan	označevalec normalen
Število bolnikov z določeno vrsto maligne bolezni	A	B
Število ljudi brez določene vrste maligne bolezni	C	D
občutljivost = $A/(A + B)$; specifičnost = $D/(C + D)$		

1.3.2 UPORABA TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Preglednica V: Uporaba tumorskih označevalcev (50)

ZA SPREMLJANJE BOLEZNI	ZA ZDRAVLJENJE
Določanje v telesnih tekočinah	Direktna citotoksičnost specifičnih monoklonskih protiteles (MoAb)
Spremljanje odgovora na zdravljenje	Vezava zdravil na specifična MoAb
Zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni	Vezava toksinov na specifična MoAb
Spremljanje razširjenosti bolezni	Vezava radioaktivnih izotopov na specifična MoAb
Razlikovanje med malignimi in benignimi bolezni	Inhibicija receptorjev za rastne faktorje
Presejalna metoda pri nekaterih vrstah raka	
Imunoscintigrafija in limfoscintigrafija	
Imunohistokemija	
Za diagnozo	
Za napoved poteka bolezni	
Za napoved odgovora na zdravljenje	

1.3.3 DELITEV TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Tumorske označevalce lahko razdelimo na več načinov: po kemični zgradbi, po mestu nastanka, po vrsti tumorskih bolezni, pri katerih naj bi jih določali, itn. Najpogosteje uporabljena razdelitev poskuša strniti njihove biokemične lastnosti, mesto nastanka in funkcionalnost.

Po tej razdelitvi ločimo naslednje tumorske označevalce:

- **Onkofetalne proteine:** CEA – karcinoembrionalni antigen, AFP – alfafetoprotein,
- **Hormone in/ali karcinoplacentarne antigene:** β HCG – beta horionski gonadotropin,
- **Encime:** PKF – prostatična kislina fosfataza, AF – alkalna fosfataza, NSE – nevronska specifična enolaza, LDH – laktatdehidrogenaza, γ GT – gamaglutamiltransferaza, TK – timidinkinaza,

- **Tumor spremljajoče antigene:** CA 15-3 – karcinomski antigen, MCA – mucinski karcinomski antigen, CA 125 – karcinomski antigen, CA 19-9 – karcinomski antigen, PSA – za prostato specifični antigen,
- **Posebne serumske proteine:** TG – tiroglobulin, beta-2-mikroglobulin, s-100 protein,
- **Skupino mešanih označevalcev:** TPA – tkivni polipeptidni antigen (48).

1.3.4 KARCINOMSKI ANTIGEN 19-9 (CA 19-9)

KARCINOEMBRIONALNI ANTIGEN (CEA)

Karcinoembrionalni antigen (CEA) je glikoprotein z molekulsko maso okrog 180 KD, ki so ga prvič izolirali iz ekstrakta črevesnega adenokarcinoma. Med embrionalnim razvojem nastaja v epitelijskih celicah gastrointestinalnega trakta, jeter in trebušne slinavke. Sprva so menili, da gre za idealen tumorski označevalec za rak širokega črevesa in danke, vendar se je izkazalo, da je CEA prisoten tudi v nekaterih tkivih normalnih odraslih, npr. v črevesni sluznici in plevri, v bolezensko spremenjenih tkivih nemalignega izvora in v tkivih drugih malignih tumorjev. CEA je kljub pomanjkljivostim pomemben označevalec za spremljanje bolnikov z rakom širokega črevesa in danke, saj ima 65 % vseh bolnikov s to boleznijo (vključno s tistimi z lokalizirano boleznijo in stadijem I) in celo 100 % bolnikov z metastatsko razširjeno boleznijo povišane koncentracije tega označevalca. Poleg tega je to označevalec, ki ga lahko uporabljamo za spremljanje različnih drugih vrst malignih bolezni, zlasti raka dojke, jajčnikov, trebušne slinavke, pljuč in jeter. V področju koncentracij od 4–10 ng/ml najdemo tako bolnike z malignimi kot tudi z benignimi boleznimi in celo nekatere hude kadičice, medtem ko so serumske koncentracije CEA nad 10 ng/ml bolj kazalec malignega priocesa (50).

KARCINOMSKI ANTIGEN 19-9 (CA 19-9)

CA 19-9 spada med tumor spremljajoče antigene, kjer gre za heterogeno skupino označevalcev, ki zajema različne membranske strukture tumorskih celic. Sodobna tehnologija izkorišča možnost tvorbe specifičnih monoklonskih protiteles proti določeni antigenski strukturi, ki je najbolj značilna za nekatere tumorske celice. Označevalci v tej skupini so zato bolj specifični za neko vrsto tumorja kot ostali (48). Karcinomski antigen 19-9 je glikolipid in je pravzaprav spremenjen Lewisov haptin iz sistema krvnih skupin.

CA 19-9 je pogosto povečan v serumu bolnikov z gastrointestinalnimi tumorji. Monoklonska protitelesa proti tej mucinski antigeni determinanti reagirajo navzkrižno z različnimi mucinskimi molekulami, vendar samo pri osebah, ki imajo aktiven Lewis (Le^a) gen. Pri približno 5% ljudi je ta gen neaktiven in so $Le^{(a-b)}$. Antigenska determinanta se pri teh osebah sploh ne tvori in označevalec za spremljanje bolezni ni uporaben. Označevalec je sicer nekoliko bolj specifičen za rak trebušne slinavke in jeter, pogosto pa so serumske koncentracije CA 19-9 povišane pri bolnikih z rakom širokega črevesa, danke, želodca in jajčnikov. V relativno visokih koncentracijah ga je moč dokazati pri zdravih odraslih ljudeh v semenski tekočini, želodčnem soku, amnijski tekočini ter izločkih trebušne slinavke in dvanajstnika. Zato ga je smiselno določati le v serumu ali plazmi, kjer so koncentracije povišane le ob bolezenskih spremembah (50). **Zgornja referenčna meja za označevalec CA 19-9 je 37 kU/l (48).**

Diagnostika: Diagnostična uporabnost označevalca CA 19-9 je bila na široko raziskana. V študiji, v kateri so bili vključeni pacienti z boleznimi trebušne slinavke, je bilo pokazano, da vrednosti označevalca CA 19-9 nad 37 U/ml omogočajo razlikovanje med rakom trebušne slinavke in benignimi boleznimi slinavke (občutljivost in specifičnost sta 77 % in 87 %) (51). Meta analiza drugih študij, v kateri so bili vključeni pacienti s simptomi sumljivimi za rak trebušne slinavke, je pokazala, da je diagnostična občutljivost med 69–93 % in specifičnost med 76–99 % pri vrednosti označevalca nad 37 kU/l. Študija je pokazala tudi, da višje vrednosti označevalca povečajo diagnostično specifičnost (52). Diagnostična uporabnost označevalca ima svoje omejitve, saj je ta povišan tudi pri drugih malignih obolenj gastrointestinalnega trakta in pri različnih benignih stanjih (52, 53). Druga pomembna omejitev je ta, da se občutljivost označevalca CA 19-9 pri majhnih tumorjih značilno zmanjša, je približno 55 % (52). Glede na te omejitve **Nacionalna akademija klinične biokemije (NACB)** ni priporočila uporabo markerja CA 19-9 v diagnostiki. Če pa se izvajajo meritve označevalca, naj se izvajajo v kombinaciji s slikovnimi testi. Pravilno interpretirane vrednosti označevalca CA 19-9 lahko vodijo v nadaljnje ustrezne invazivne preiskave (ERCP, EUS, FNA) (54). Omejitev označevalca predstavlja tudi diferenciranost raka trebušne slinavke, namreč pri slabo diferenciranih rakih trebušne slinavke je produkcija označevalca CA 19-9 manjša kot pri zmerno do dobro diferenciranih rakih. Nenazadnje pa je pomembna omejitev tudi ta, da določen procent ljudi, ki imajo $Le^{(a-b)}$ neaktiven gen, ne sintetizira označevalca CA 19-9. Glede na

vse te omejitve pregledni članek **Evropske skupine za tumorske markerje (EGTM)** nakazuje, da uporaba označevalca CA 19-9 ne more nadomestiti histoloških dokazov kljub uporabi slikovnih preiskav (55). Različne študije pa nakazujejo, da bi testiranje multiplih tumorskih označevalcev v serumu lahko povečalo občutljivost in specifičnost pri diagnozi raka trebušne slinavke (56, 57). Pravtako bi bilo pomembno poiskati nove označevalce, ki bi imeli boljšo diagnostično uporabnost. Raziskujejo se produkti prekomerno izraženih genov rakastih celic pankreasa, analizirajo se genski in epigenetski markerji v soku trebušne slinavke ter spremembe DNA metilacije v rakastih celicah pankreasa itn. (58)

Presejanje: Na splošno je pojavnost raka trebušne slinavke majhna. Zato presejanje asimptomatične populacije za rak trebušne slinavke kljub uporabi zelo natančnih serumskih tumorskih markerjev ni priporočljivo, saj lahko pride do velikega števila lažno pozitivnih rezultatov. Kadar presejamo visokorizično populacijo pri kateri s slikovnimi metodami odkrijemo prekancerogene mase, so vrednosti CA 19-9 običajno normalne. Leta 2005 **Nacionalna akademija klinične biokemije (NACB)** ni priporočila uporabe označevalca CA 19-9 za presejalni test (54). Pravtako leta 2006 **Ameriška zveza klinične onkologije** ni priporočila uporabe označevalca CA 19-9 za presejalni test pri raku trebušne slinavke (59). Vendar pomembnost serumskih tumorskih označevalcev za zgodnje odkrivanje primerov asimptomatičnih invazivnih rakov trebušne slinavke še ni dorečena. Trenutno uporaba biomarkerjev in slikovnih metod ni priporočljiva za presejanje asimptomatične populacije pri raku trebušne slinavke. Pri presejanju visokorizične populacije dobiva pomembno vlogo endoskopski ultrazvok, ampak njegovo učinkovitost bo potrebno še dokazovati z nadaljnjimi študijami (54, 60).

Prognoza: Označevalec CA 19-9 ima neodvisno napovedno vrednost pri določanju operabilnosti raka trebušne slinavke in pri celotnem preživetju bolnika (54). Namreč retrospektivna študija bolnikov z rakom trebušne slinavke, kateri so bili zdravljeni z radioterapijo, je pokazala, da je vrednost označevalca CA 19-9 ob diagnozi značilen kazalec prognoze, pri čemer je bila povprečna vrednost označevalca CA 19-9 680 U/ml. Študija je pokazala, da je bilo srednje preživetje bolnikov med 8 do 20 mesecev, pri katerih so bile vrednosti CA 19-9 nad ali pod povprečno vrednostjo (61). Druga kohortna študija, ki je zajemala bolnike z operabilnim rakom trebušne slinavke, je pokazala značilno daljše srednje preživetje bolnikov, katerim so se vrednosti označevalca CA 19-9 po operaciji

normalizirale v primerjavi z bolniki, katerim se vrednosti označevalca niso normalizirale (62). Pravtako je nedavna študija, ki je zajemala bolnike z operabilnim rakom trebušne slinavke pokazala, da so predoperativne vrednosti označevalca v povezavi s stadijem bolezni. Namreč tako padec vrednosti označevalca CA 19-9 po operaciji kot padec označevalca pod 200 U/ml po operaciji kažeta, da je CA 19-9 značilno pomemben faktor prognoze. Študija je pokazala, da bi vrednosti označevalca CA 19-9 morale biti vključene v prognostične nomograme (63). Nadalje so različne študije, ki so zajemale bolnike z napredovalim rakom trebušne slinavke, pokazale, da vrednosti označevalca CA 19-9 pred terapijo predstavljajo neodvisen in značilen napovedni dejavnik predvsem glede celostnega preživetja (64, 65). **Nacionalna akademija za klinično biokemijo** je leta 2005 priporočila uporabo serumskih vrednosti označevalca CA 19-9 kot enega izmed večih parametrov, ki vplivajo na prognozo in odločitve terapije (54).

Spremljanje terapije: Pri bolnikih z lokalno napredovalim rakom trebušne slinavke, ki se zdravijo sistemsko, je s slikovnimi metodami težko oceniti odgovor na terapijo zaradi razširjene dezmozoplazije in okoljskih vnetnih sprememb. Zaradi teh težav so se raziskovalci osredotočili na serijske meritve označevalca CA 19-9 za ocenitev odgovora na sistemsko terapijo in določitev prognoze pri opisanih bolnikih. Večina študij je pokazala, da upadanje označevalca CA 19-9 med kemoterapijo daje dobre rezultate (55). Ena izmed teh študij je pokazala značilno povezavo med procentom padca označevalca CA 19-9 in celotnim preživetjem ter časom do prenehanja učinkovitosti zdravljenja (66). Nedavna kontrolirana randomizirana študija pa ni pokazala povezave med vrednostmi označevalca CA 19-9 in odgovorom na sistemsko terapijo. Kljub temu pa je študija pokazala, da vrednosti označevalca CA 19-9 pred terapijo predstavljajo neodvisen napovedni dejavnik preživetja (67). Podobne študije so bile narejene tudi na področju radioterapije. Ker je radioterapija kratkotrajna glede na kemoterapijo in omejena z maksimalno tolerirano dozo, so serijske meritve označevalca CA 19-9 manj praktične za ocenitev odgovora na terapijo. **Nacionalna akademija klinične biokemije je leta 2005** priporočila uporabo serijskih meritev označevalca CA 19-9 v kombinaciji s slikovnimi metodami za spremljanje odgovora na terapijo, še posebej paliativno kemoterapijo (54). **Ameriška zveza klinične onkologije** pa leta 2006 glede na nezadostnost podatkov na tem področju ni priporočila rutinske uporabe samega označevalca CA 19-9 pri spremljanju odgovora na terapijo. **Kakorkoli pa naj bi se vrednosti označevalca CA 19-9 ocenjevale pred terapijo in**

vsakih 1-3 mesece med kemoterapijo. Če se serijske vrednosti označevalca povečujejo, to lahko nakazuje na progres bolezni, ampak je to potrebno potrditi še z dodatnimi testi. **Klinično pomembnost optimalne pogostnosti merjenja označevalca CA 19-9 in velikosti spremembe v koncentraciji bo potrebno še dokazati (59).**

Poleg označevalca CA 19-9 so pri raku trebušne slinavke klinično uporabni tudi slednji tkivni označevalci: citokeratini (CK 7, 8, 18, 19), CEA, CA 125 ter različni mucini (MUC 1, 3, 4, 6). Poleg tega se izvajajo raziskave o drugih markerjih, ki bi lahko imeli pomembno vlogo pri diagnozi, presejanju, prognozi in spremljanju terapije pri raku trebušne slinavke. Izvajajo se študije o tkivnih označevalcih (CK 7, 8, 18 in 19, MUC 2 in 6, CEA...), o serumskih proteinskih označevalcih (CA242, CAM 17.1, TPS, MIC-1, osteopontin...) ter o DNK označevalcih prisotnih v soku trebušne slinavke (mutanti p53, mutanti KRAS, metilacije DNK...), ki so v fazi odkrivanja oziroma vrednotenja (54).

1.3.5 DOLOČANJE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Tumorski označevalci imajo v telesnih tekočinah nizke koncentracije in za njihovo dokazovanje potrebujemo visoko občutljivo tehnologijo. Najbolj razširjene tehnike so radioimunološka, encimiimunološka in luminometrična. Naštete tehnike temeljijo na podobnem principu, to je na določanju kompleksov antigena in protiteles. Med seboj se razlikujejo po spojini, ki je vezana na detekcijska protitelesa, in po načinu detekcije nastalih kompleksov. Specifičnost metod je v veliki meri odvisna od kvalitete protiteles ter od specifičnosti protiteles za posamezen antigen oziroma tumorski označevalec.

Preskusi različnih proizvajalcev, čeprav uporabljajo enako metodo, ki vključuje enaka protitelesa, dajejo pri istem vzorcu različne rezultate. Zato mora biti pri vsakem rezultatu navedena še uporabljena metoda. Za lažjo interpretacijo rezultatov je potrebno narediti več določitev tumorskih označevalcev v različnih stadijih bolezni ter spremljati gibanje njihovih koncentracij. Poleg tega je potrebno upoštevati tudi biološko razpolovno dobo, ki je pri različnih tumorskih označevalcih različna in se giblje od nekaj ur do nekaj tednov (48).

2. NAMEN DELA

Do sedaj že obstajajo nekatera priporočila glede tumorskega označevalca CA 19-9 kot faktorja prognoze in za ocenitev terapije, vendar je potrebno njegovo klinično pomembnost še raziskovati in potrjevati.

V obdobju od leta 2004–2008 smo na Gastroenterološki interni kliniki v Ljubljani zbrali podatke o 34 pacientih z rakom trebušne slinavke. Diagnoza je bila potrjena s pomočjo UZ in/ali CT preiskave. Za identifikacijo tumorja je bila narejena biopsija novotvorbe. Vrednosti označevalca CA 19-9 smo merili od postavitve diagnoze do zaključka terapije, in sicer po standardnih rutinskih postopkih.

Namen naše študije je bil ovrednotiti uspešnost terapije s pomočjo iskanja povezav med tumorskim označevalcem CA 19-9 in časom preživetja ter ovrednotiti gibanje označevalca CA 19-9 v odvisnosti od trajanja terapije.

Naše delo bo vključevalo:

- 1) V serumih bolnikov bomo s kemiluminescenčno imunološko metodo izmerili koncentracijo tumorskega označevalca CA 19-9**
- 2) Skupino pacientov, ki je prejela kemoterapijo I. reda (gemcitabin) bomo razdelili v dve skupini, in sicer v skupino brez prisotnih oddaljenih metastaz in v skupino s prisotnimi oddaljenimi metastazami. Pri celotni skupini in posameznih skupinah bomo iskali korelacije med različnimi vrednostmi označevalca CA 19-9 (pred terapijo, med terapijo, po koncu terapije), njihovimi razlikami in spremembami s časom preživetja.**
- 3) Na koncu bomo na grafih prikazali in ovrednotili gibanje označevalca CA 19-9 v odvisnosti od trajanja terapije. Predstavili bomo primere, ki so prejeli kemoterapijo I. reda in primere, ki so prejeli terapijo I. in II. reda.**

3. MATERIALI IN METODE

3.1 OPIS ZBIRANJA PREISKOVANCEV

V obdobju od leta 2004–2008 smo zbrali 34 pacientov z rakom trebušne slinavke. Diagnoza je bila potrjena s pomočjo UZ in/ali CT preiskave. Kadar ni bilo zadovoljivih informacij predvsem glede oprailnosti tumorja smo izvedli še EUS preiskavo in/ali eksploracijsko laparotomijo. Za identifikacijo tumorja je bila narejena biopsija novotvorbe, pri čemer smo vzorec odvzeli ali pri ekploraciji ali s aspiracijo s tanko iglo. Bolezen smo spremljali od postavitve diagnoze do prenehanja terapije s pomočjo UZ/CT preiskav in meritev tumorskega označevalca CA 19-9. Zanimal nas je čas preživetja, ki smo ga določili od časa postavitve diagnoze do časa smrti. Pri zbiranju podatkov smo gledali še starost in spol pacientov.

3.2 OPIS ZBIRANJA VZORCEV

Ob postavitvi diagnoze in skozi celotno trajanje terapije so bolnikom jemali vzorce periferne venske krvi. Iz odvzetega vzorca so po standardnem postopku pripravili plazmo ali serum. Plazmo/serum lahko skozi daljše obdobje hranimo zamrznjeno pod -20°C. V tako pripravljenih vzorcih smo izmerili koncentracijo tumorskega označevalca CA 19-9.

3.3 KEMILUMINESCENČNA IMUNOLOŠKA METODA

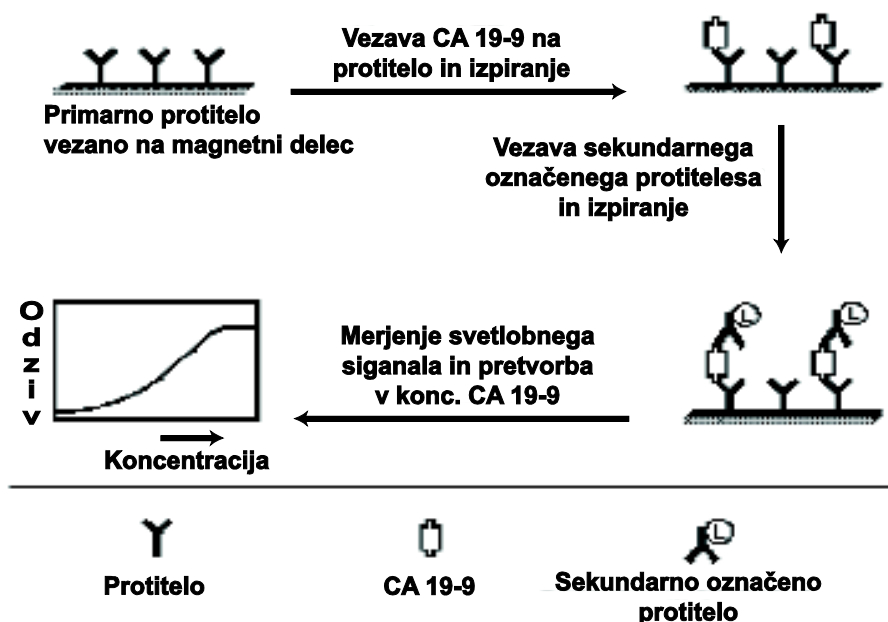
Kemiluminescenčna imunološka metoda (CLIA) se uporablja za določevanje nizkih koncentracij analitov v kompleksnih vzorcih. Z njo lahko kvantitativno določamo koncentracijo tumorskega označevalca CA 19-9 v serumu ali v plazmi. Pri tej metodi uporabljamo specifična mišja monoklonska protitelesa, ki prepoznajo epitop antigena CA 19-9 (sialil-lakto-N-fukopentoza II), ki je soroden Lewis^a antigenu. Metoda se izvaja na LIAISON[®] analizatorjih (68).

3.3.1 PRINCIP METODE

A) Imunokemijski del:

Specifična mišja monoklonska protitelesa so vezana na trden nosilec, ki ga predstavljajo magnetni delci, na sekundarno monoklonsko protitelo je vezan izoluminolni derivat (konjugat izoluminol protitelo). Med prvo inkubacijo se antigen CA 19-9, prisoten v

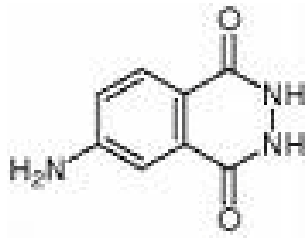
vzorcu, veže na specifično protitelo, fiksirano na trden nosilec. Sledi izpiranje in druga inkubacija, pri kateri sekundarno protitelo reagira s CA 19-9 vezanim na trden nosilec. Nevezan material se po inkubaciji odstrani z izpiranjem. Vezan material na trden nosilec se ne izpere, ker jih pritegne magnet (68). Imunološka metoda je prikazana na sliki 6.



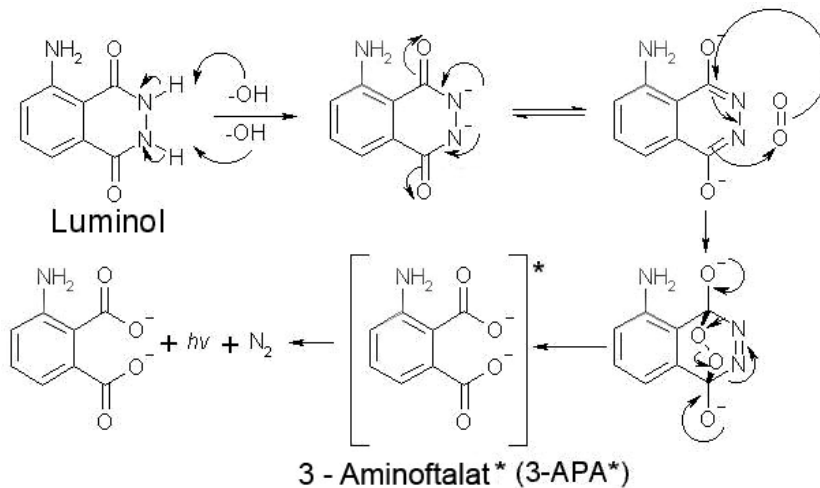
Slika 6: Kemiluminescenčna imunološka sendvič metoda

B) Kemiluminescenčni del

Imunokemični reakciji sledi dodatek reagentov aktivatorjev (**oksidant:** vodikov peroksid, **baza:** natrijev karbonat (Na_2CO_3), natrijev hidrogenkarbonat (NaHCO_3) in amonijev karbonat ($\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, **katalizator:** Cu^{2+} v obliki $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), ki sprožijo reakcijo kemiluminescence. Reakcija oksidacije poteče v bazičnem okolju s pomočjo katalizatorja (vodikov peroksid razpade na vodo in kisik v prisotnosti katalizatorja) in je predstavljena z luminolom, ker je potek enak kot pri izoluminolu (slika 7 in 8). Reakcija poteče tako, da najprej baza odtegne protone dušiku, nato pa pri oksidaciji s tripletnim kisikom dobimo 3-aminofthalat dianion v vzbujenem stanju, ki je po spinski naravi tripletno, ta prehaja v singletno stanje dianiona (še vedno vzbujeno) in nato v osnovno nevzbujeno stanje (tudi singletno). 3-APA ob prehodu v osnovno energetska stanje odda foton. Količina sproščene svetlobe je sorazmerna koncentraciji CA 19-9. Sproščeno energijo merimo pri 424 nm (69).



Slika 7: Izoluminol (70)



Slika 8: Potek reakcije oksidacije luminola (69)

3.3.2 MATERIALI

Uporabljali smo komplet reagentov znamke LIAISON[®], pripravljenih za direktno uporabo.

V enem kompletu so bile količine za 100 določitev:

- 2,3 ml suspenzije magnetnih delcev (magnetni delci prekriti s specifičnimi mišjimi monoklonskimi protitelesi 1116NS-19-9);
- 2,0 mL kalibratorja, za območje nizkih koncentracij;
- 2,0 mL kalibratorja, za območje visokih koncentracij;
- 3,3 mL raztopine sekundarnih protiteles (mišja monoklonska CA 19-9-protitelesa, označena z izoluminolom);
- 14 mL reakcijskega pufra I;
- 20 mL reakcijskega pufra II;
- 10 mL topila.

Ostali potreben material:

- modul LIAISON[®] (REF 319130);
- startna oprema LIAISON[®] (REF 319102);
- kontrola za oddano svetlobo LIAISON[®] (319101);

- tekočina za izpiranje LIAISON[®],(319100);
- vrečke za smeti LIAISON[®] (450003);
- multikontrola tumorskih označevalcev LIAISON[®] (319109);
- komplet za čiščenje LIAISON[®] (310990) (68).

3.3.3 PRIPRAVA REAGENTOV IN VZORCEV

A) Priprava reagentov:

Pri vsakem novem odpiranju kompleta reagentov smo sledili navodilom proizvajalca. Pred odstranitvijo varnostnega tesnila smo vsebino horizontalno rahlo pretresli. Izogibali smo se nastanku pene. Suspenzijo vsebnika z magnetnimi delci smo z vrtenjem zobatega kolesa na embalaži spremenili do rjave barve, kar je pomenilo, da so se magnetni delci suspendirali. Nato smo komplet reagentov postavili na ustrezno mesto v analizator in pred uporabo reagente pustili stati 30 minut. Analizator je nato avtomatsko premešal in suspendiral magnetne delce.

Reagente hranimo pri 2–8°C do izteka roka uporabe in zaščitene pred svetlobo.

B) Priprava vzorcev:

- Vzorčenje je potekalo po standardnih navodilih.
- Vzorčni material je bil serum ali plazma.
- Če test ni bil narejen na dan odvzema vzorca, je bil vzorec shranjen samostojno, ločeno od sedimenta. Za 24 h smo vzorec shranili pri 2–8°C, za daljše obdobje smo morali vzorec zamrzniti pod -20°C.
- Shranjene vzorce smo pred izvajanjem metode dobro premešali z Vortex mešalnikom.
- Hemolizirane ali lipemične vzorce in vzorce, ki so bili mikrobiološko kontaminirani, nismo uporabljali za določevanje CA 19-9.
- Minimalni volumen vzorca potreben za enkratno določitev je bil 250 µL (68).

3.3.4 KALIBRACIJA ANALIZATORJA

Kalibracija je primerjanje odziva instrumenta s standardom. Izvajamo jo z namenom zmanjševanja sistemske napake. V kompletu reagentov sta vključena oba kalibratorja in sicer za nizko merilno območje in za patološko območje. Celoten postopek poteka avtomatsko, potrebno je bilo samo izbrati ustrezen ukaz v programu. Kalibracijo smo izvajali v sledečih primerih:

- kadar je bil uporabljen nov komplet reagentov;
- vsakič pred začetkom merjenja;
- vsake 7 dni;
- kadar je bil analizator servisiran;
- kadar so bile izmerjene kontrolne koncentracije izven pričakovanih vrednosti (68).

3.3.5 POTEK ANALIZE

Meritve smo izvajali na avtomatskem analizatorju LIAISON[®] proizvajalca DiaSorin iz Italije (slika 9). Za primeren potek metode smo sledili navodilom, ki jih je napisal proizvajalec analizatorja. Vsak testni parameter je bil identificiran s pomočjo kode napisane na etiketi reagentov.

Postopek analize je bil sledeč:

1. 100 μ L vzorca, kalibratorja ali kontrole;
2. + 100 μ L reakcijskega pufra I;
3. + 20 μ L suspenzije magnetnih delcev prekritih z mišjimi monoklonskimi CA 19-9 protitelesi;
4. 10 minut inkubacije, ki ji sledi cikel izpiranja;
5. + 170 μ L reakcijskega pufra II;
6. + 30 μ L raztopine sekundarnega protitelesa;
7. 10 minut inkubacije, ki ji sledi cikel izpiranja;
8. 3 s meritev.

Vsi reagenti in vzorec so bili odmerjeni avtomatsko. Prav tako računalniški program samodejno izračuna rezultat v željenih enotah na podlagi umeritvene krivulje (68).



Slika 9: Avtomatski analizator LIAISON® (71)

3.3.6 SPECIFIČNE KARAKTERISTIKE ANALIZNE METODE

A) **Analizna specifičnost** je definirana kot sposobnost analizne metode, da odkrije specifičen analit v vzorcu s potencialno motečimi dejavniki.

Z izvedenimi kontrolnimi študijami o potencialnih snoveh, ki bi lahko vplivale na rezultat so dokazali, da ne vplivajo na rezultat pri sledečih koncentracijah: bilirubin < 0,2 mg/mL, hemoglobin < 1000 mg/dL ali trigliceridi < 30 mg/mL (68).

B) **Natančnost** pomeni ujemanje med rezultati neodvisnih meritev (72).

Različni vzorci z različnimi koncentracijami CA 19-9™ so bili analizirani za ocenitev ponovljivosti in obnovljivosti analiznega postopka. Dobljeni rezultati so zbrani v preglednici VI (68).

Preglednica VI: Rezultati meritev za ocenitev ponovljivosti in obnovljivosti analiznega postopka

intra-analizna variacija			inter-analizna variacija		
povprečna vrednost (U/mL)	CV (%)	n (število merenj)	povprečna vrednost (U/mL)	CV (%)	n (število merenj)
39,70	2,00	20	38,90	5,00	36
201,30	2,10	20	198,30	4,70	33
406,40	2,40	20	397,00	6,10	70
596,80	4,10	20	628,40	6,90	69

C) Pravilnost pomeni ujemanje povprečja merskih rezultatov s pravo oziroma dogovorjeno (referenčno) pravo vrednostjo (72).

Pravilnost je bila določena z redčitvenim testom in testom pridobitka dodatka. Redčitveni test: Vzorcem, ki so vsebovali visoke koncentracije CA 19-9TM in vzorcem, ki so jih različno redčili z vzorčnim topilom, so izmerili koncentracije CA 19-9TM. Pričakovane vrednosti meritev so bile določene z linearno regresijo. Rezultati so zbrani v preglednici VII (68).

Preglednica VII: Izmerjene vrednosti CA 19-9TM v serumu pacientov po različnih redčitvah, osnovna koncentracija CA 19-9 = 592 U/mL

redčenje	izmerjene vrednosti (U/mL)	pričakovana vrednost (U/mL)	pridobitek dodatka (%)
1 : 1,25	482,90	473,60	102,00
1 : 1,67	363,60	355,20	102,00
1 : 2,5	245,80	236,80	104,00
1 : 5	126,70	118,40	107,00
1 : 10	61,70	59,20	104,00

Test pridobitek dodatka: Vzorci z različnimi koncentracijami CA 19-9TM so bili testirani za ocenitev pridobitve dodatka LIAISON[®] CA 19-9TM analiznega postopka. Rezultati so zbrani v preglednici VIII (68).

Preglednica VIII: Rezultati meritev za ocenitev pridobitve dodatka analiznega postopka

izmerjena vrednost (U/mL)	pričakovana vrednost (U/mL)	pridobitek dodatka (%)
643,20	629,80	102,00
461,30	473,30	97,00
330,20	316,80	104,00
164,30	160,30	102,00
87,90	82,10	107,00

D) Analizna občutljivost je definirana kot minimalna količina oziroma koncentracija, ki jo lahko detektiramo. Meja detekcije je manjša od 0,3 U/mL (68).

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 OVREDNOTENJE CELOTNE SKUPINE

V obdobju od leta 2004–2008 smo zbrali podatke o 34 pacientih z rakom trebušne slinavke. Med pacienti je bilo 18 žensk in 16 moških, pri čemer je razmerje ženske : moški 1,125:1. Povprečna starost je 61,6 let, najmlajša je stara 42 in najstarejša 79 let. Pri 85,3 % zbranih pacientov govorimo o adenokarcinomu trebušne slinavke, pri čemer v 34,5 % primerov govorimo o adenokarcinomu duktalnega tipa. V 58,8 % zbranih primerov je tumor lokaliziran v glavi trebušne slinavke, od tega se v 5,9 % primerih tumor razteza v trup slinavke. V 23,5 % primerih je tumor lokaliziran v trupu trebušne slinavke, od tega se v 2,9 % tumor razteza proti repu slinavke. Ostalo: 17,6 % (vrat, rep, mešano, ni podatka). Metastaze so bile prisotne pri 50 % pacientov, od tega so se v večini primerov metastaze pojavile v jetrih (82,4 %). Skupino 29 pacientov, ki je prejela kemoterapijo I. reda (gemcitabin) smo razdelili na skupino brez metastaz in skupino s prisotnimi metastazami. Podatke teh dveh skupin smo statistično obdelali. Na koncu smo naredili grafe, ki prikazujejo gibanje tumorskega označevalca CA 19-9 skozi trajanje terapije. Tukaj smo prikazali tudi preostale primere naših bolnikov, ki so prejeli kemoterapijo II. reda. Kemoterapija II. reda je bila sledeča: kombinacija gemcitabin plus kapecitabin, kombinacija gemcitabin plus erlotinib (preglednica IX).

Preglednica IX: Dobljeni podatki za zbrane bolnike

VZOREC	STAROST (leta)	SPOL	DIAGNOZA	LOKACIJA TUMORJA/ METASTAZE	CA 19-9 PRED KEMOTERAPIJO (kU/L)	NAJNIŽJA VREDNOST CA 19-9 (kU/L)	VREDNOST CA 19-9 PO KEMOTERAPIJI (kU/L)	ČAS PREŽIVETJA (meseči)	ZDRAVILO
1	63	Ž	Duktalni adenokarcinom, zmerno do slabše diferenciran, deli nekroz (T3, N1, M0, R1).	rep, prehod glave v trup trebušne slinavke (cisti)	4227,00	/	4397,00	6,50	gemcitabin
2	66	Ž	Adenokarcinom, tumor raste lokalno infiltrativno. Proces je neoperabilen.	telo trebušne slinavke	/	23,40	105,00	11,00	gemcitabin
3	64	M	Adenokarcinom duktalnega tipa srednje do slabo diferenciran z invazivnim vraščanjem v vezivo in maščevje ob pankreasu, fibroza, kronično vnetje. Proces je neoperabilen.	/	51,60	36,70	83,00	12,00	gemcitabin
4	65	Ž	Adenokarcinom, invazivni z vraščanjem v posamezni živec in žilo v vezivu, kronično fibrozno spremenjen pankreas. Proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke	109,70	13,20	145,10	12,00	gemcitabin

VZOREC	STAROST (leta)	SPOL	DIAGNOZA	LOKACIJA TUMORJA/ METASTAZE	CA 19-9 PRED KEMOTERAPIJO (kU/L)	NAJNIŽJA VREDNOST CA 19-9 (kU/L)	VREDNOST CA 19-9 PO KEMOTERAPIJI (kU/L)	ČAS PREŽIVETJA (meseči)	ZDRAVILO
5	60	M	kronični fibrozni pankreatitis, določen čas po kemoterapiji: adenokarcinom duktalnega tipa, slabo diferenciran, T3 N0 M0, stadij II, narejena Whippleva resekcija-ni radikalna.	glava trebušne slinavke	3,80	1,00	1,50	22,00	gemcitabin
6	49	Ž	Duktalni adenokarcinom, zmerno diferenciran, jedrnega gradusa II. Proces je neoperabilen.	telo trebušne slinavke (cistične narave)	401,20	76,10	534,70	12,00	gemcitabin
7	68	Ž	Adenokarcinom pankreasna, Whipl operacija-ni radikalna.	predel papile Vateri, glava trebušne slinavke	30,70	16,40	61460,00	21,00	gemcitabin
8	42	Ž	Adenokarcinom, T3 N1 M0 R1. Proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke	901,90	525,80	13019,00	9,50	gemcitabin

VZOREC	STAROST (leta)	SPOL	DIAGNOZA	LOKACIJA TUMORJA/ METASTAZE	CA 19-9 PRED KEMOTERAPIJO (kU/L)	NAJNIŽJA VREDNOST CA 19-9 (kU/L)	VREDNOST CA 19-9 PO KEMOTERAPIJI (kU/L)	ČAS PREŽIVETJA (meseči)	ZDRAVILO
9	59	Ž	Difuzno in agresivno razraščujoč se adenokarcinom duktalnega tipa srednje do slabše stopnje diferenciranosti, kronično fibrozno spremenjen pankreas, T3 N0 M0. Proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke	13,10	15,10	146,00	10,75	gemcitabin
10	64	M	Duktalni adenokarcinom zmerno do slabše diferenciran, gradus II do III, T4 N2 Mx R2. Proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke	331,40	105,70	200,80	13,50	gemcitabin
11	69	M	Adenokarcinom, dobro diferenciran. Proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke	15,20	4,40	7149,00	20,00	gemcitabin
12	64	Ž	adenokarcinom, deloma z nekrozo. Proces je neoperabilen.	vrat trebušne slinavke	615,50	641,00	33693,00	9,00	gemcitabin

VZOREC	STAROST (leta)	SPOL	DIAGNOZA	LOKACIJA TUMORJA/ METASTAZE	CA 19-9 PRED KEMOTERAPIJO (kU/L)	NAJNIŽJA VREDNOST CA 19-9 (kU/L)	VREDNOST CA 19-9 PO KEMOTERAPIJI (kU/L)	ČAS PREŽIVETJA (meseči)	ZDRAVILO
13	63	M	Duktalni adenokarcinom, zmerno diferenciran, huda displazija duktalnega epitelija ob invazivnem karcinomu, na meji prehoda glave v trup tumor zajema mezenterialno žilje. Proces je neoperabilen.	telo trebušne slinavke	/	442,40	11606,00	12,75	gemcitabin
14	56	Ž	Adenokarcinom trebušne slinavke, proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke/jetra	7,90	/	17,10	5,25	gemcitabin
15	52	M	ascites - celice adenokarcinoma, proces je neoperabilen.	jetra/peritonej	10672,00	/	/	2,00	gemcitabin
16	65	Ž	Razširjen adenokarcinom, proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke/jetra	280,10	/	/	1,75	gemcitabin

VZOREC	STAROST (leta)	SPOL	DIAGNOZA	LOKACIJA TUMORJA/ METASTAZE	CA 19-9 PRED KEMOTERAPIJO (kU/L)	NAJNIŽJA VREDNOST CA 19-9 (kU/L)	VREDNOST CA 19-9 PO KEMOTERAPIJI (kU/L)	ČAS PREŽIVETJA (meseči)	ZDRAVILO
17	63	M	Slabo diferenciran karcinom, verjetno adenokarcinom trebušne slinavke (tako kažejo imunocitokemične rkc).	glava trebušne slinavke/jetra	4410,00	/	/	0,75	gemcitabin
18	79	Ž	Adenokarcinom, ki infiltrira žilje, prerašča veno, okolne bezgavke so povečane. Proces je neoperabilen.	telo trebušne slinavke/peritonej, ascites	584,20	/	76,20	4,50	gemcitabin
19	60	Ž	Adenokarcinom trebušne slinavke, proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke/jetra	62,60	/	/	3,50	gemcitabin
20	67	M	Adenokarcinom trebušne slinavke, proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke/jetra	96900,00	44498,00	66179,00	8,25	gemcitabin
21	46	M	Karcinom trebušne slinavke, proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke/jetra	26290,00	13906,00	24370,00	9,00	gemcitabin

VZOREC	STAROST (leta)	SPOL	DIAGNOZA	LOKACIJA TUMORJA/METASTAZE	CA 19-9 PRED KEMOTERAPIJO (kU/L)	NAJNIŽJA VREDNOST CA 19-9 (kU/L)	VREDNOST CA 19-9 PO KEMOTERAPIJI (kU/L)	ČAS PREŽIVETJA (meseči)	ZDRAVILO
22	68	M	Adenokarcinom, gradus II, zmerno diferenciran. Proces je neoperabilen.	v glavi proti trupu trebušne slinavke/peritonej	143,40	16,80	24,40	17,00	gemcitabin
23	73	M	1-vzorec iz D in L diafragme: adenokarcinom, zmerno do slabše diferenciran, zasevek: duktalni adenokarcinom katerega izvor je glede na klinično sliko v pankreasu; 2-ascites: redke celice adenokarcinoma.	začetni del trupa trebušne slinavke/peritonej	18586,00	2435,00	8890,00	7,00	gemcitabin
24	66	Ž	Karcinom trebušne slinavke, T4 N? M1 R2. Proces je neoperabilen.	med glavo in trupom trebušne slinavke/jetra	571,00	39,50	192,90	14,00	gemcitabin
25	64	M	Karcinom trebušne slinavke, neoperabilen proces.	rep trebušne slinavke/jetra, pljuča	354593,00	40441,00	46208,00	6,00	gemcitabin

VZOREC	STAROST (leta)	SPOL	DIAGNOZA	LOKACIJA TUMORJA/ METASTAZE	CA 19-9 PRED KEMOTERAPIJO (kU/L)	NAJNIŽJA VREDNOST CA 19-9 (kU/L)	VREDNOST CA 19-9 PO KEMOTERAPIJI (kU/L)	ČAS PREŽIVETJA (meseči)	ZDRAVILO
26	61	Ž	Adenokarcinom trebušne slinavke, ki prerašča v okolne strukture. Proces je neoperabilen.	rep trebušne slinavke/jetra	5414,00	6597,00	20631,00	9,00	gemcitabin
27	62	M	Adenokarcinom trebušne slinavke, ki vrašča v steno želodca. Proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke/jetra	21406,00	8764,00	/	3,50	gemcitabin
28	63	Ž	Adenokarcinom trebušne slinavke, proces je neoperabilen.	glava trebušne slinavke/jetra	48647,00	825,30	28148,00	8,00	gemcitabin
29	63	Ž	Adenokarcinom duktalnega tipa, slabo diferenciran; tumor infiltrira v retroperitonej. Neoperabilen proces.	trup trebušne slinavke/jetra	419,40	46,60	5494,00	19,00	gemcitabin
30	66	M	Razširjen karcinom trebušne slinavke.	glava trebušne slinavke/jetra	92294,00	18,20	928,50	19,00	gemcitabin, kapecitabin

VZOREC	STAROST (leta)	SPOL	DIAGNOZA	LOKACIJA TUMORJA/ METASTAZE	CA 19-9 PRED KEMOTERAPIJO (kU/L)	NAJNIŽJA VREDNOST CA 19-9 (kU/L)	VREDNOST CA 19-9 PO KEMOTERAPIJI (kU/L)	ČAS PREŽIVETJA (meseči)	ZDRAVILO
31	55	M	Z UZ ugotovili tumor pankreasa, patohistološke potrditve ni bilo.	področje trupa proti repu trebušne slinavke	212,00	32,20	194,40	12,50	gemcitabin, kapecitabin
32	64	Ž	Adenokarcinom, gradus III, vrašča v distalni del hloedohusa, T3 N1 M0 R1. Narejena operacija po Whipple-ni radikalna.	glava trebušne slinavke	12,80	6,90	377,20	18,00	gemcitabin, erlotinib
33	50	M	Karcinom trebušne slinavke, proces je neoperabilen.	trup trebušne slinavke	368,40	97,30	19661,00	13,00	gemcitabin, erlotinib
34	55	Ž	Zmerno do slabše diferenciran adenokarcinom duktalnega tipa, kronični fibroproliferativni pankreatitis. Proces je neoperabilen	glava trebušne slinavke	830,10	52,20	4865,00	32,00	gemcitabin, erlotinib, kapecitabin

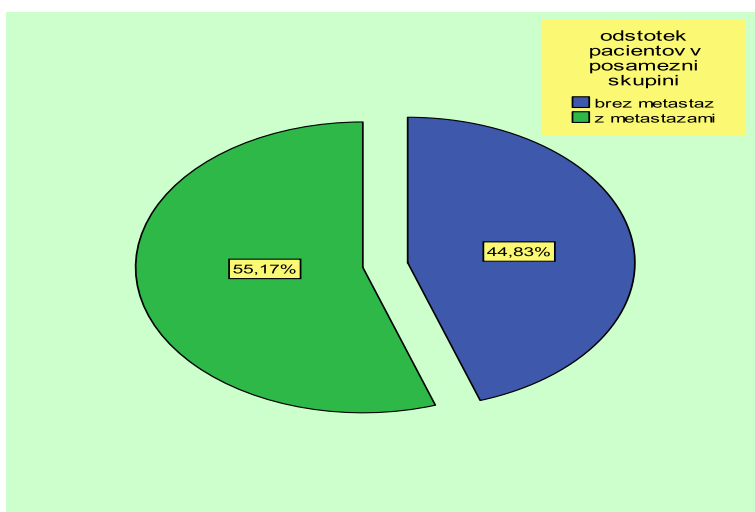
4.2 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Statistika je temeljila na uporabi programa SPSS. Naredili smo t-test dveh neodvisnih vzorcev, neparametričen test dveh neodvisnih vzorcev imenovan Mann-Whitney test ter korelacijo po Spearmanu. Naše spremenljivke so bile naslednje: **čas preživetja (mesece)**, **vrednost CA 19-9 pred kemoterapijo (kU/L) = A**, **najnižja vrednost CA 19-9 (kU/L) = B**, **končna vrednost CA 19-9 (kU/L) = C**, **D = A-B (kU/L)**, **E = C-B (kU/L)**, **t = čas celotne terapije (mesece)**, **t1 = čas terapije po začetni do najnižje vrednosti CA 19-9 (mesece)**, **t2 = čas terapije od najnižje do končne vrednosti CA 19-9 (mesece)**, **f1 = D/t1**, **f2 = E/t2**, **f3 = D/A**, **f4 = E/C**. S programom SPSS smo preverili normalnost porazdelitve naših spremenljivk in ugotovili, da temu pogoju ustreza le spremenljivka čas preživetja. Zato smo lahko naredili t-test za čas preživetja. S **t-testom** ugotavljamo, ali obstaja statistično značilna razlika med povprečjema dveh neodvisnih vzorcev. V našem primeru gre za majhne vzorce, zato t-test temelji na predpostavki o enakosti varianc. To predpostavko smo preverili z F testom oziroma imenovanim Levenovim testom. Ničelno domnevo t-testa, ki pravi, da ne obstaja razlika med povprečjema dveh neodvisnih vzorcev, smo zavrnili z največ 5 % tveganjem. Pri ostalih spremenljivkah smo naredili **MANN-WHITNEY test**. Gre za neparametrični analog testu-t, pri katerem podatke razdelimo v skupno ranžirno vrsto. Statistični spremenljivki tega testa sta vsota rangov in povprečje ranga. Ničelna domneva pravi, da ne obstaja razlika v vsoti rangov med eno in drugo skupino. Ničelno domnevo zavrnemo z največ 5 % tveganjem.

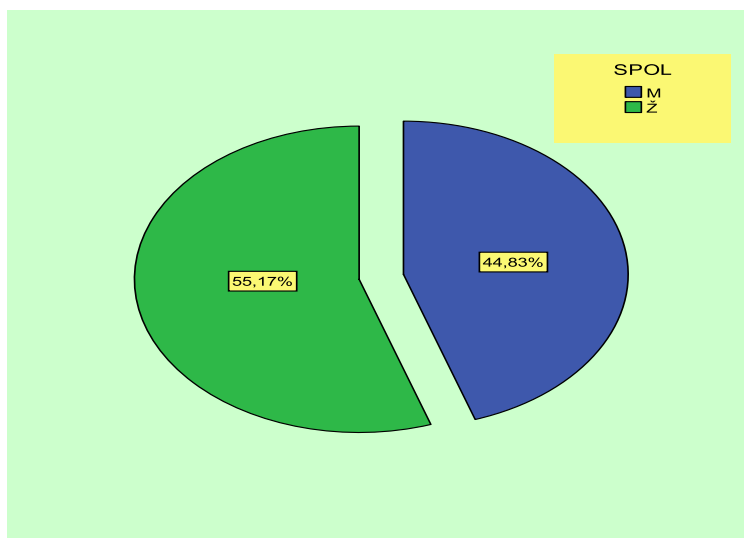
Na koncu smo poiskali korelacije med vsemi spremenljivkami s časom preživetja. Uporabili smo koeficient **korelacije ranga po Spearmanu**, ki je neparametrična alternativa Pearsonovemu korelacijskemu koeficientu. Vrednosti Spearmanovega koeficienta se gibljejo med -1 do +1. Korelacija se razlikuje glede na smer povezanosti, je lahko negativna ali pozitivna. Pozitivna je, kadar vrednost ene spremenljivke narašča z vrednostjo druge, negativna pa, kadar vrednost ene spremenljivke pada, če vrednost druge narašča. Če je korelacijski koeficient enak 0, to pomeni, da ni povezanosti med spremenljivkama v okviru te metode. Večja vrednost koeficienta pomeni močnejšo povezanost, manjša vrednost pomeni šibkejšo povezanost med spremenljivkama. Statistično značilnost korelacije smo preverili s testom-t (73).

4.2.1 PREDSTAVITEV SKUPINE, KI JE PREJEMALA GEMCITABIN

Skupino 29 pacientov, ki je prejela gemcitabin smo razdelili v dve skupini, in sicer v skupino brez metastaz (N = 13) in v skupino z metastazami (N = 16). Odstotek pacientov v posamezni skupini je prikazan v obliki pite (slika 10). Pravtako smo v obliki pite prikazali odstotek moških (N = 13) in žensk (N = 16) celotne skupine (slika 11). Povprečna starost celotne skupine je 62,2 let, najmlajša je stara 42 in najstarejša 79 let. V preglednici X smo prikazali povprečne vrednosti naših spremenljivk za celotno skupino in posamezni skupini.



Slika 10: Prikaz odstotka pacientov v posamezni skupini



Slika 11: Prikaz odstotka moških in žensk celotne skupine

Preglednica X: Prikaz povprečnih vrednosti za A, B, C, t in čas preživetja

		A (kU/L)	B (kU/L)	C (kU/L)	t (m)	Čas preživetja (m)
CELOTNA SKUPINA	N	26	22	24	29	29
	povprečje	22887,39	5430,47	13865,45	6,76	10,02
	standardna deviacija	70866,09	12512,83	19901,39	5,27	5,82
	varianca	5022000000,00	156600000,00	396100000,00	27,78	33,82
	minimum	3,80	1,00	1,50	0,03	0,75
	maksimum	354593,00	44498,00	66179,00	20,33	22,00
SKUPINA BREZ METASTAZ	N	10	12	13	13	13
	povprečje	608,56	158,43	10195,39	9,84	13,23
	standardna deviacija	1302,32	233,82	18111,40	5,44	4,80
	varianca	1696000,00	54672,79	328000000,00	29,62	23,02
	minimum	3,80	1,00	1,50	2,33	6,50
	maksimum	4227,00	641,00	61460,00	20,33	22,00
SKUPINA Z METASTAZAMI	N	16	10	11	16	16
	povprečje	36811,66	11756,92	18202,78	4,26	7,41
	standardna deviacija	88494,51	16844,43	21888,79	3,64	5,34
	varianca	7831000000,00	283700000,00	479100000,00	13,24	28,49
	minimum	7,90	16,80	17,10	0,03	0,75
	maksimum	354593,00	44498,00	66179,00	13,30	19,00

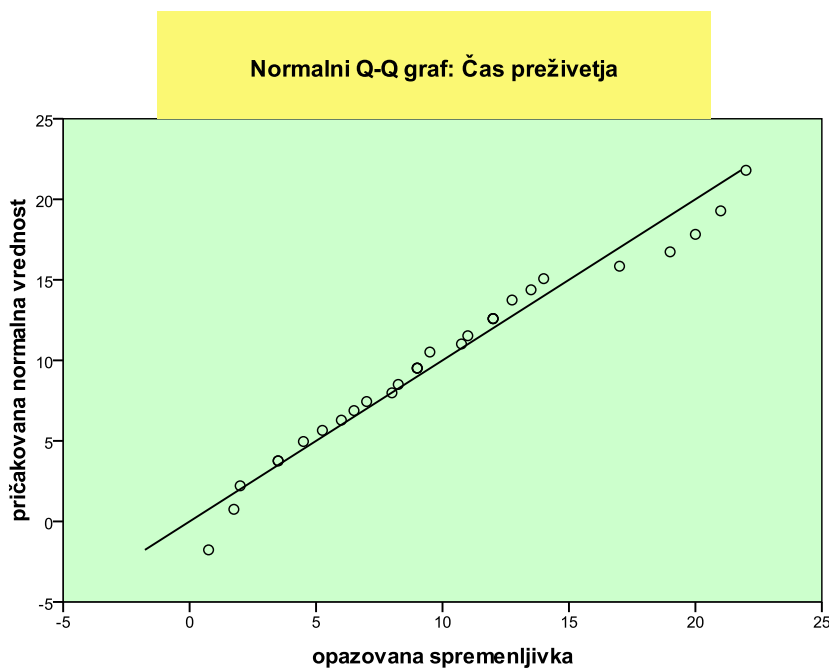
OPOMBE: A = vrednost CA 19-9 pred terapijo (kU/L), B = najnižja vrednost CA 19-9 med terapijo(kU/L) , C = končna vrednost CA 19-9 (kU/L), t = čas celotne terapije (m)

4.2.2 IZARČUN RAZLIKE POVPREČIJ MED SKUPINAMA ZA ČAS PREŽIVETJA, ZA ČAS TERAPIJE, T1, T2, VREDNOSTI OZNAČEVALCA CA 19-9 V RAZLIČNIH TOČKAH, F1, F2, F3 IN F4

Za čas preživetja smo izbrali t-test, ker se nam vrednosti približno normalno porazdeljujejo (za celotno skupino: Skewness = 0,468 Kurtosis = -0,399; za skupino brez metastaz: Skewness = 0,882 Kurtosis = -0,207; za skupino z metastazami: Skewness = 0,975, Kurtosis = -0,323) (preglednica X, slika 12). Ostale spremenljivke se ne porazdeljujejo normalno, pri čemer je eden izmed vzrokov majhnost vzorca. Pri teh spremenljivkah smo za izračun razlik povprečij izbrali neparametrično metodo.

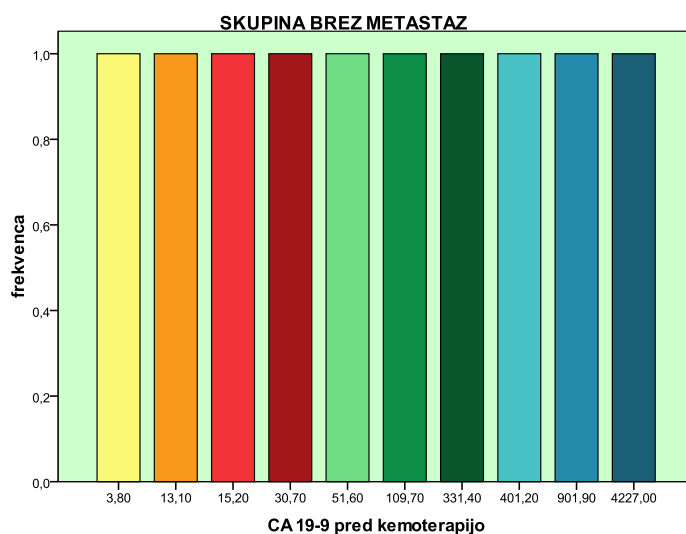
Prglednica XI: Prikaz Skewness in Kurtosis vrednosti za čas preživetja celotne skupine

	Skewness	Standardna napaka	Kurtosis	Standardna napaka
Čas preživetja	0,468	0,43	-0,399	0,85

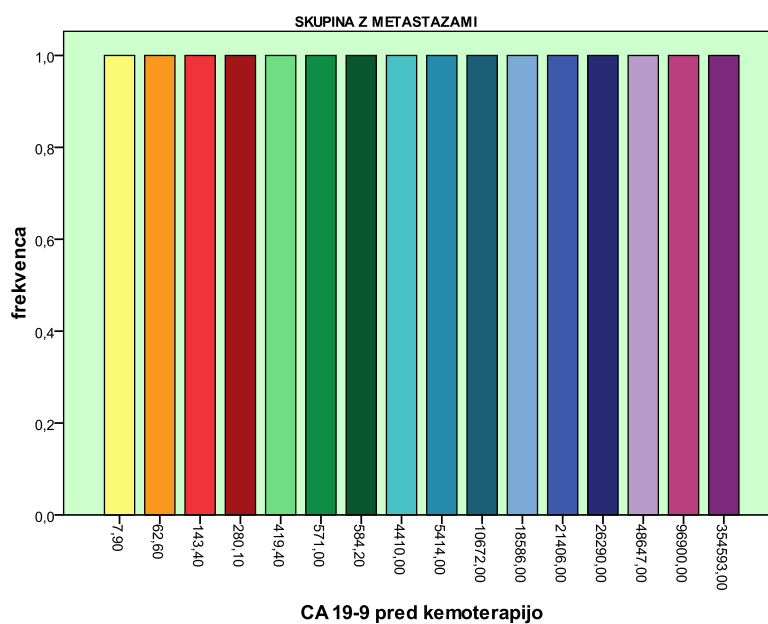


Slika 12: Normalni Q-Q graf za čas preživetja

Vrednosti tumorskega označevalca CA 19-9 pred kemoterapijo smo vzeli za prikaz na histogramu za posamezni skupini. Iz histogramov lahko vidimo kakšen razpon imajo naši podatki. Podobno velja za vrednosti označevalca CA 19-9 v ostalih točkah (slika 13 in 14).



Slika 13: Histogram za skupino brez metastaz (vrednost označevalca CA 19-9 pred kemoterapijo)



Slika 14: Histogram za skupino z metastazami (vrednost označevalca CA 19-9 pred kemoterapijo)

Naredili smo **t-test** za razliko med povprečjema časa preživetja za obe skupini (preglednici XII in XIII).

Preglednica XII: Prikaz povprečja in standardne deviacije za obe skupini

	skupina	N	povprečje	standardna deviacija	standardna napaka
Čas preživetja	brez metastaz	13	13,23	4,80	1,33
	z metastazami	16	7,41	5,34	1,33

Preglednica XIII: Rezultati t-testa za čas preživetja

	Levenov test enakosti varianc		T-TEST: ČAS PREŽIVETJA						
								95% interval zaupanja	
	F	Sig.	t	df	Sig. (dvostransko)	razlika med povprečjema	standardna napaka razlike	spodnji	zgornji
predpostavljena enakost varianc	0,129	0,723	3,056	27,00	0,005	5,82	1,91	1,91	9,74

T-test nam pokaže, da je razlika med povprečjema časa preživetja v obeh skupinah statistično značilna. Čas preživetja je pri skupini brez metastaz statistično značilno daljši v primerjavi s skupino z metastazami ($P = 0,005$) (preglednica XIII). Pri skupini pacientov z metastazami gre za razširjeno bolezen in je pričakovano, da bo čas preživetja pri tej skupini krajši.

Za ostale spremenljivke smo uporabili neparametričen **Mann-Whitney test** za izračun razlik vsote rangov med skupinama (preglednici XIV in XV).

Preglednica XIV: Prikaz povprečja in vsote ranga obeh skupin

	skupina	N	povprečje ranga	vsota ranga		skupina	N	povprečje ranga	vsota ranga
A	brez metastaz	10	8,30	83,00	t2	brez metastaz	12	14,63	175,50
	z metastazami	16	16,75	268,00		z metastazami	10	7,75	77,50
	celoten	26				celoten	22		
B	brez metastaz	12	7,92	95,00	t	brez metastaz	13	20,27	263,50
	z metastazami	10	15,80	158,00		z metastazami	16	10,72	171,50
	celoten	22				celoten	29		
C	brez metastaz	13	11,62	151,00	f1	brez metastaz	9	6,56	59,00
	z metastazami	11	13,55	149,00		z metastazami	10	13,10	131,00
	celoten	24				celoten	19		
D	brez metastaz	9	6,44	58,00	f2	brez metastaz	12	8,83	106,00
	z metastazami	10	13,20	132,00		z metastazami	9	13,89	125,00
	celoten	19				celoten	21		
E	brez metastaz	12	10,00	120,00	f3	brez metastaz	9	7,78	70,00
	z metastazami	9	12,33	111,00		z metastazami	10	12,00	120,00
	celoten	21				celoten	19		
t1	brez metastaz	12	11,38	136,50	f4	brez metastaz	12	13,00	156,00
	z metastazami	10	11,65	116,50		z metastazami	9	8,33	75,00
	celoten	22				celoten	21		

OPOMBE: **A** = vrednost CA 19-9 pred terapijo (kU/L), **B** = najnižja vrednost CA 19-9 med terapijo (kU/L), **C** = končna vrednost CA 19-9 (kU/L), **D** = A-B (kU/L), **E** = C-B (kU/L), **t** = čas celotne terapije (m), **t1** = čas terapije po začetni do najnižje vrednosti CA 19-9 (m), **t2** = čas terapije od najnižje do končne vrednosti CA 19-9 (m), **f1** = D/t1, **f2** = E/t2, **f3** = D/A, **f4** = E/C

Preglednica XV: Mann-Whitney test za CA 19-9 v različnih točkah, t, t1, t2, f1, f2, f3 in f4

	A	B	C	D	E	t1
Mann-Whitney U	28,00	17,00	60,00	13,00	42,00	58,50
Z	-2,741	-2,835	-0,666	-2,613	-0,853	-0,099
približna Sig. (dvostransko)	0,006	0,005	0,505	0,009	0,394	0,921

	t2	t	f1	f2	f3	f4
Mann-Whitney U	22,50	35,50	14,00	28,00	25,00	30,00
Z	-2,474	-3,006	-2,531	-1,848	-1,633	-1,706
približna Sig. (dvostransko)	0,013	0,003	0,011	0,065	0,102	0,088

OPOMBE: **A** = vrednost CA 19-9 pred terapijo (kU/L), **B** = najnižja vrednost CA 19-9 med terapijo (kU/L), **C** = končna vrednost CA 19-9 (kU/L), **D** = A-B (kU/L), **E** = C-B (kU/L), **t** = čas celotne terapije (m), **t1** = čas terapije po začetni do najnižje vrednosti CA 19-9 (m), **t2** = čas terapije od najnižje do končne vrednosti CA 19-9 (m), **f1** = D/t1, **f2** = E/t2, **f3** = D/A, **f4** = E/C

Mann-Whitney test nam pokaže, da pri vseh preučevanih spremenljivkah obstajajo razlike v vsoti rangov med skupinama. Vendar iz preglednice vidimo, da med skupinama obstajajo statistično značilne razlike pri CA 19-9 pred kemoterapijo ($P = 0,006$), pri najnižji vrednosti CA 19-9 ($P = 0,005$), pri razliki med začetno in najnižjo vrednostjo CA 19-9 ($P = 0,009$), pri celotnem času terapije ($P = 0,003$), pri t2 ($P = 0,013$), in f1 ($P = 0,011$) (preglednica XV). Iz testa vidimo, da sta vsoti rangov označevalca CA 19-9 pred kemoterapijo in označevalca CA 19-9 v najnižji točki statistično značilno nižji pri skupini brez metastaz v primerjavi s skupino z metastazami. **Tukaj vidimo, da je možna povezava med velikostjo vrednosti označevalca CA 19-9 v neki točki in razširjenostjo bolezni.** Pri končni vrednosti označevalca CA 19-9 ni statistično značilnih razlik med skupinama. **Razlog temu je najverjetneje, ker je ob zaključku terapije v obeh skupinah bolezen že toliko razširjena. Razširitev bolezni je pa eden glavnih razlogov za prekinitvev terapije.** Razlika med začetno in najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9

je statistično značilno nižja pri skupini brez metastaz v primerjavi s skupino z metastazami, vendar sta obe vrednosti statistično značilno nižji pri skupini brez metastaz ($P = 0,009$). Lahko rečemo, da je terapija dobro učinkovita pri skupini z metastazami glede na statistično značilno večjo razliko med začetno in najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 v primerjavi s skupino brez metastaz. Čas celotne terapije je statistično značilno daljši pri skupini brez metastaz v primerjavi s skupino z metastazami ($P = 0,003$). To tudi pričakujemo glede na razširjenost bolezni in statistično značilni krajši čas preživetja pri skupini z metastazami. **Med skupinama ni statistično značilnih razlik pri času t1, tako lahko rečemo, da se najnižja točka označevalca CA 19-9 pri obeh skupinah giblje v približno enakem času od začetka terapije.** So pa statistično značilne razlike med skupinama v času t2, namreč pri skupini brez metastaz je čas t2 značilno daljši v primerjavi s skupino z metastazami ($P = 0,013$). Kar lahko sklepamo že iz tega, da je celoten čas terapije statistično značilno daljši pri skupini brez metastaz v primerjavi s skupino z metastazami. Tudi f1 je statistično značilno nižji pri skupini brez metastaz v primerjavi s skupino z metastazami ($P = 0,011$). Pri tem smo iz tega testa že pokazali, da je razlika med začetno in najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 statistično značilno manjša pri skupini brez metastaz, pri času t1 pa ni statistično značilnih razlik med skupinama. Kot smo že prej omenili, lahko rečemo, da je terapija dobro učinkovita pri skupini z metastazami. Vendar moremo tukaj poudariti, da je pri skupini z metastazami večja razlika med začetno in najnižjo vrednostjo označevalca, medtem ko sta sami velikosti vrednosti označevalca pred terapijo in v najnižji točki nižji pri skupini brez metastaz. Pri f2 ni statistično značilnih razlik med skupinama, čeprav je t2 značilno daljši pri skupini brez metastaz. Med končno in najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 pa ni statistično značilne razlike med skupinama. Spremembi vrednosti označevalca CA 19-9 (f3 in f4) nista statistično značilno različni med skupinama. Glede na to bi lahko rekli, da je učinkovitost terapije v obeh skupinah približno enaka. Seveda pa moremo vedeti, da na velikost vrednosti označevalca CA 19-9 in njegovo spremembo vplivajo tudi drugi dejavniki, kot so npr. prisotnost drugih malignih obolenj gastrointestinalnega trakta, velikost in diferenciranost tumorja ter razširjenost bolezni. **Kot vidimo iz neparametričnega testa nam sama velikost vrednosti označevalca CA 19-9 v neki točki več pove o nekih razlikah med skupinama kot pa sprememba vrednosti označevalca.** S tem testom pa nikakor ne moremo delati definitivnih zaključkov, saj je naš vzorec zaradi majhnega števila slabo reprezentativen.

4.2.3 KORELACIJE MED CA 19-9 V RAZLIČNIH TOČKAH, T1, T2, F1, F2, F3 IN F4 S ČASOM PREŽIVETJA

Za izračun korelacije smo uporabili neparametrično **metodo po Spearmanu**. Izračunali smo koeficient korelacije po Spearmanu za celotno skupino in za posamezni skupini (preglednice XVI, XVII in XVIII).

CELOTNA SKUPINA

Prglednica XVI: Prikaz Spearmanovega koeficienta za celotno skupino

		A	B	C	D	E	t
Čas preživetja	Spearmanov koeficient	-0,472*	-0,813**	-0,192	-0,644**	-0,398	0,924**
	Sig. (dvostransko)	0,015	<0,0005	0,37	0,003	0,074	<0,0005
	N	26,00	22,00	24,00	19,00	21,00	29,00

		t1	t2	f1	f2	f3	f4
Čas preživetja	Spearmanov koeficient	0,225	0,785**	-0,614**	-0,661**	0,069	0,273
	Sig. (dvostransko)	0,314	<0,0005	0,005	0,001	0,778	0,23
	N	22,00	22,00	19,00	21,00	19,00	21,00

OPOMBE: **A** = vrednost CA 19-9 pred terapijo (kU/L), **B** = najnižja vrednost CA 19-9 med terapijo (kU/L), **C** = končna vrednost CA 19-9 (kU/L), **D** = A-B (kU/L), **E** = C-B (kU/L), **t** = čas celotne terapije (m), **t1** = čas terapije po začetni do najnižje vrednosti CA 19-9 (m), **t2** = čas terapije od najnižje do končne vrednosti CA 19-9 (m), **f1** = D/t1, **f2** = E/t2, **f3** = D/A, **f4** = E/C

SKUPINA BREZ METASTAZ

Prglednica XVII: Prikaz Spearmanovega koeficienta za skupino brez metastaz

		A	B	C	D	E	t
Čas preživetja	Spearmanov koeficient	-0,669*	-0,57	-0,155	-0,424	-0,19	0,718**
	Sig. (dvostransko)	0,034	0,053	0,614	0,256	0,554	0,006
	N	10,00	12,00	13,00	9,00	12,00	13,00

		t1	t2	f1	f2	f3	f4
Čas preživetja	Spearmanov koeficient	-0,106	0,655*	-0,288	-0,282	0,39	-0,092
	Sig. (dvostransko)	0,742	0,021	0,452	0,375	0,3	0,777
	N	12,00	12,00	9,00	12,00	9,00	12,00

OPOMBE: **A** = vrednost CA 19-9 pred terapijo (kU/L), **B** = najnižja vrednost CA 19-9 med terapijo (kU/L), **C** = končna vrednost CA 19-9 (kU/L), **D** = A-B (kU/L), **E** = C-B (kU/L), **t** = čas celotne terapije (m), **t1** = čas terapije po začetni do najnižje vrednosti CA 19-9 (m), **t2** = čas terapije od najnižje do končne vrednosti CA 19-9 (m), **f1** = D/t1, **f2** = E/t2, **f3** = D/A, **f4** = E/C

SKUPINA Z METASTAZAMI

Preglednica XVIII: Prikaz Spearmanovega koeficienta za skupino z metastazami

		A	B	C	D	E	t
Čas preživetja	Spearmanov koeficient	0,053	-0,614	-0,023	-0,723*	-0,527	0,922**
	Sig. (dvostransko)	0,845	0,059	0,947	0,018	0,145	<0,0005
	N	16,00	10,00	11,00	10,00	9,00	16,00

		t1	t2	f1	f2	f3	f4
Čas preživetja	Spearmanov koeficient	0,585	0,686*	-0,717*	-0,477	0,134	0,326
	Sig. (dvostransko)	0,075	0,029	0,02	0,194	0,713	0,391
	N	10,00	10,00	10,00	9,00	10,00	9,00

OPOMBE: **A** = vrednost CA 19-9 pred terapijo (kU/L), **B** = najnižja vrednost CA 19-9 med terapijo (kU/L), **C** = končna vrednost CA 19-9 (kU/L), **D** = A-B (kU/L), **E** = C-B (kU/L), **t** = čas celotne terapije (m), **t1** = čas terapije po začetni do najnižje vrednosti CA 19-9 (m), **t2** = čas terapije od najnižje do končne vrednosti CA 19-9 (m), **f1** = D/t1, **f2** = E/t2, **f3** = D/A, **f4** = E/C

Pri celotni skupini in pri skupini brez metastaz obstaja statistično značilna povezava med vrednostjo označevalca CA 19-9 pred terapijo in časom preživetja (celotna sk.: $P = 0,015$ ($\rho = -0,472$); sk. brez metastaz: $P = 0,034$ ($\rho = -0,669$)). Pri obeh skupinah je smer korelacije negativna, kar pomeni, da nižja kot je vrednost označevalca CA 19-9 pred terapijo, daljši je čas preživetja. Pri skupini z metastazami pa ne obstaja statistično značilna

povezava med vrednostjo označevalca CA 19-9 pred terapijo in časom preživetja. Pravtako pri celotni skupini in skupini brez metastaz obstaja statistično značilna povezava med najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 in časom preživetja (celotna sk.: $P < 0,0005$ ($\rho = -0,813$); sk. brez metastaz: $P = 0,053$ ($\rho = -0,570$)). Pri skupini z metastazi ne obstaja statistično značilna korelacija med najnižjo točko in časom preživetja. **Iz teh rezultatov je razvidno, da bi velikost vrednosti označevalca CA 19-9 pred terapijo in v najnižji točki lahko imela napovedno vrednost pri raku trebušne slinavke. Za bolj konkretne zaključke bi bilo potrebno razširiti študijo na večjem številu ljudi.** Končna vrednost označevalca CA 19-9 pri nobeni skupini ni v statistično značilni korelaciji s časom preživetja. **Razlog temu je najverjetneje, ker je ob zaključku terapije v obeh skupinah bolezen že toliko razširjena, da sama velikost vrednosti označevalca nima vpliva na čas preživetja.** Razlika med začetno in najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 je v statistično značilni povezavi s časom preživetja pri celotni skupini in skupini z metastazami (celotna sk.: $P = 0,003$ ($\rho = -0,644$); sk. z metastazami: $P = 0,018$ ($\rho = -0,723$)). Smer korelacije je negativna, kar pomeni, da krajši kot je čas preživetja, večja je razlika med začetno in najnižjo vrednostjo CA 19-9. Ta povezava pa ni pričakovana, namreč večja razlika v vrednosti bi naj pomenila boljšo učinkovitost terapije in s tem daljši čas preživetja. Pričakovali bi pozitivno korelacijo. **Iz teh rezultatov je razvidno, da je lahko razlog manjše učinkovitosti terapije razširjena bolezen, slabo stanje bolnika, preveliki stranski učinki kemoterapevtika.** Pri nobeni od skupin ni statistično značilnih povezav med razliko končne in najnižje vrednosti označevalca CA 19-9 ter časom preživetja. Kot vidimo iz preglednic XVI, XVII in XVIII je čas terapije v pozitivni korelaciji s časom preživetja pri celotni skupini, pri skupini brez metastaz in pri skupini z metastazami, kar je tudi pričakovano. Namreč daljši je čas terapije, daljši je čas preživetja (celotna sk.: $P < 0,0005$ ($\rho = 0,924$); sk. brez metastaz: $P = 0,006$ ($\rho = 0,718$), sk. z metastazami: $P < 0,0005$ ($\rho = 0,922$)). Pri celotni skupini in skupini z metastazami obstaja statistično značilna povezava med f1 in časom preživetja (celotna sk.: $P = 0,005$ ($\rho = -0,614$); sk. z metastazami: $P = 0,020$ ($\rho = -0,717$)). Smer korelacije je negativna, kar pomeni daljši je čas preživetja, krajši je f1. F1 predstavlja razmerje med razliko začetne in najnižje točke CA 19-9 ter časom terapije do najnižje točke CA 19-9. Mi pričakujemo, da bo pri večji razliki med začetno in najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 v čim krajšem času terapije terapija učinkovitejša. Posledica tega bi bil daljši čas preživetja. Torej večja kot bo vrednost f1, daljši bo čas preživetja. Ampak kot lahko vidimo iz testa je že sama

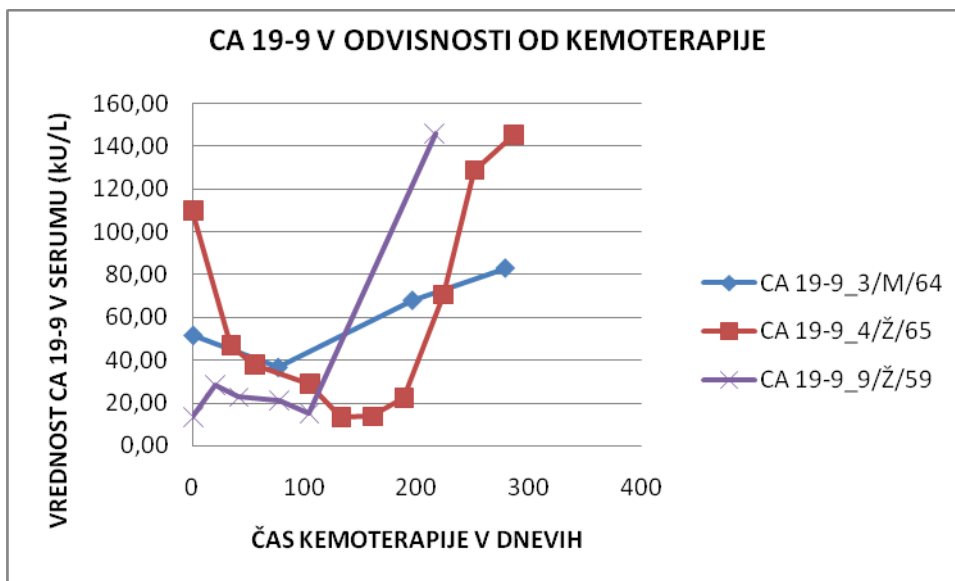
razlika med začetno in najnižjo točko v negativni korelaciji s časom preživetja, t1 pa je v pozitivni korelaciji s časom preživetja pri skupini z metastazami. **Iz teh rezultatov je razvidno, da je lahko razlog manjše učinkovitosti terapije razširjena bolezen, slabo stanje bolnika, preveliki stranski učinki kemoterapevtika.** F2 ni v statistično značilni korelaciji pri posameznih skupinah, je pa v negativni korelaciji s časom preživetja pri celotni skupini ($P = 0,001$, $\rho = -0,661$). Takšno korelacijo tudi pričakujemo, saj manjši f2 pomeni, da je razlika med končno in najnižjo vrednostjo CA 19-9 manjša in da je čas terapije od najnižje do končne točke daljši. To pomeni večjo učinkovitost terapije in daljši čas preživetja. Sama sprememba vrednosti označevalca CA 19-9, ki je predstavljena z f3 in f4, ni pri nobeni skupini v statistično značilni korelaciji s časom preživetja. **Iz dobljenih izračunov je razvidno, da nam velikost vrednosti označevalca CA 19-9 v neki točki več pove o povezavah s časom preživetja kot pa sprememba vrednosti označevalca CA 19-9.** Pri testu korelacije moremo še poudariti, da na sam čas preživetja vplivajo tudi drugi dejavniki kot so starost, življenjske navade (prehrana, gibanje, uživanje alkohola, cigaret itn), bolezensko stanje pacienta. Za naše podatke smo izbrali neparametrično metodo korelacije, ker se le ti ne porazdeljujejo normalno. Če bi izbrali katero drugo metodo bi lahko dobili drugačne rezultate, ampak mi smo prikazali podatke le v okviru metode po Spearmanu.

4.3 PRIKAZ GIBANJA TUMORSKEGA OZNAČEVALCA CA 19-9 V ČASU TRAJANJA TERAPIJE

A) PRIKAZ TUMORSKEGA OZNAČEVALCA CA 19-9 V ODVISNOSTI OD TRAJANJA KEMOTERAPIJE ZA SKUPINO PACIENTOV, KI JE PREJEMALA GEMCITABIN:

Preglednica XIX: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primere 3, 4 in 9

ČAS_3/M/64 (dnevi)	CA 19-9 _3/M/64 (kU/L)	ČAS_4/Ž/65 (dnevi)	CA 19-9 _4/Ž/65 (kU/L)	ČAS_9/Ž/59 (dnevi)	CA 19-9 _9/Ž/59 (kU/L)
0,00	51,60	0,00	109,70	0,00	13,10
76,00	36,70	34,00	46,80	20,00	28,30
196,00	68,00	55,00	37,90	41,00	22,50
279,00	83,00	104,00	28,70	77,00	20,90
		132,00	13,20	104,00	15,10
		160,00	13,70	216,00	146,00
		188,00	22,40		
		223,00	70,40		
		251,00	128,60		
		286,00	145,10		

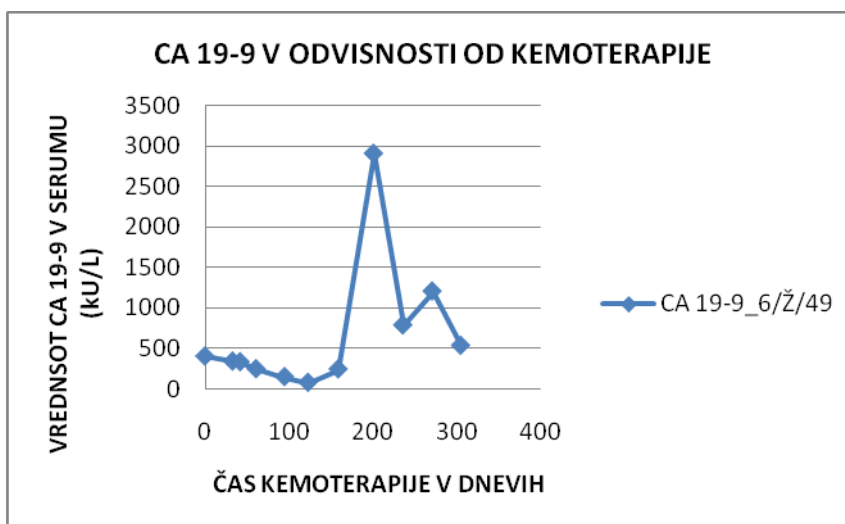


Slika 15: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primere 3, 4 in 9

Primeri pacientov iz tega grafa (slika 15) spadajo v skupino pacientov z lokalno napredovalim rakom trebušne slinavke, pri čemer je proces v vseh primerih neoperabilen. Vsi trije primeri pacientov so prejeli **priporočen odmerek gemcitabina, ki je 1000 mg/m²** površine telesa in se ta odmerek tekom terapije ni spreminjal. Iz grafov je razvidno, da je terapija na začetku zelo učinkovita, saj padejo vrednosti označevalca CA 19-9 pod zgornjo referenčno mejo. Po določenem času pa vrednosti označevalca narastejo in je končna točka višja od začetne. V vseh primerih pride do prekinitve terapije zaradi napredovale bolezni in poslabšanega stanja bolnikov, ki se kaže kot vse večje nabiranje tekočine v trebuhu, močnejših bolečin, hujšanja. V primeru 9 je bila pacientka ob zaključku terapije anemična in imela je nenormalno populacijo levkocitov. Pri primeru 4 nam UZ preiskava pokaže povečan tumor trebušne slinavke ob zaključku terapije.

Preglednica XX: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 6

ČAS_6/Ž/49 (dnevi)	CA 19-9 _6/Ž/49 (kU/L)
0,00	401,20
33,00	338,60
42,00	331,10
61,00	244,80
95,00	147,10
123,00	76,10
159,00	242,00
201,00	2908,00
236,00	785,90
271,00	1206,00
305,00	534,70



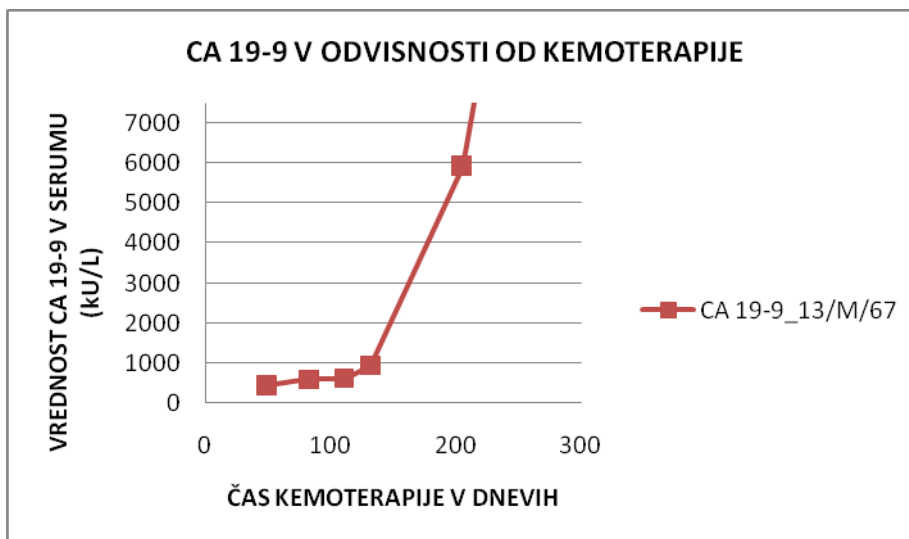
Slika 16: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 6

Pri primeru 6 (slika 16) gre za lokalno napredovali adenokarcinom trebušne slinavke, pri čemer je proces neoprabilen. Glede na UZ preiskavo je tumor prisoten v trupu trebušne slinavke. Pacientka je prejela priporočen odmerek gemcitabina, ki se tekom terapije ni spreminjal. Iz grafa je razvidno, da na začetku pride do upada vrednosti tumorskega označevalca CA 19-9 blizu referenčnim mejam, kar kaže na učinkovitost kemoterapije. Temu upadu pa sledi hiter dvig vrednosti označevalca, namreč v tem času je bila terapija prekinjena za tri tedne, in sicer gre za čas božično-novoletnih praznikov. Namreč UZ

preiskava po prekinjeni terapiji ni pokazala napredovale bolezni, in sicer je pokazala normalna jetra in tumor trebušne slinavke, katerega velikost se ni spremenila glede na prejšnjo preiskavo. Zato s terapijo nadaljujejo in znova pride do upada, kateremu pa spet sledi manjši dvig. Tudi v tem primeru je bila v času porasta prekinjena kemoterapija. Po pavzi znova nadaljujejo s terapijo za kratek čas, pri čemer pride do rahlega upada vrednosti označevalca CA 19-9. S kemoterapijo zaključijo zaradi napredovale bolezni, in sicer UZ preiskava pokaže prisotno tekočino v trebušni votlini. Pravtako je prisotna sekundarna maligna neoplazma retroperitoneja in peritoneja (serozna mrena, ki pokriva stene trebušne votline in večino organov v njej, tvori več duplikatur in obdaja peritonealno votlino). Poleg tega je pacientka ob koncu kemoterapije v zelo slabem stanju, ki se kaže z oslabelostjo, hujšanjem, težjo hojo, anemijo in močnimi bolečinami v trebuhu.

Preglednica XXI: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 13

ČAS_13/M/67 (dnevi)	CA 19-9 _13/M/67 (kU/L)
0,00	/
49,00	442,40
83,00	597,00
111,00	619,40
132,00	939,70
205,00	5939,00
237,00	11606,00



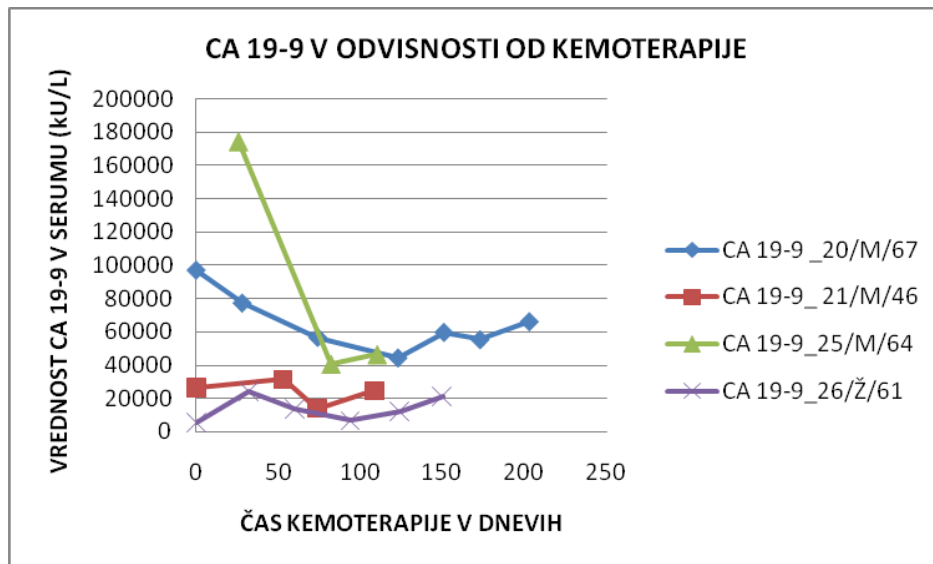
Slika 17: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 13

Primer 13 (slika 17) spada v skupino pacientov z lokalno napredovalim rakom trebušne slinavke. Tumor je lokaliziran v vratu trebušne slinavke glede na UZ preiskave. Čeprav terapija traja približno 7,7 mesecev, v tem času ne pride do upada vrednosti označevalca CA 19-9. Priporočen odmerek gemcitabina, ki ga je pacient prejemal se tekom terapije ni spreminjal. V tem času nam UZ preiskave ne pokažejo napredovale bolezni v smislu povečanega tumorja trebušne slinavke, nam pa krvna preiskave velikokrat pokažejo, da je pri bolniku prisotna levkopenija in/ali trombocitopenija. To nam pokaže, da je terapija slabo učinkovita v tem primeru, saj se pogosto pojavljajo neželeni učinki gemcitabina, kot sta levkopenija in trombocitopenija. Pred zadnjima dvema aplikacijama je prekinjena terapija za približno 2,5 meseca in v tem času pride do velikega porasta označevalca iz 5939 na 11606 kU/L. Po tem porastu zaključijo s kemoterapijo zaradi napredovale bolezni. V tem času nam UZ preiskava ne pokaže povečanega tumorja trebušne slinavke v primerjavi z prejšnjimi preiskavami, pokaže pa vraščanje tumorja v veno linealis in vse več proste tekočine. Pravtako pa v tem času ugotovijo, da je bolezen razširjena v peritonej. Krvna preiskava nam pokaže levkopenijo in trombocitopenijo ob zaključku terapije.

Preglednica XXII: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primere 20, 21, 25 in 26

ČAS_20/M/67 (dnevi)	CA 19-9_20/M/67 (kU/L)	ČAS_21/M/46 (dnevi)	CA 19-9_21/M/46 (kU/L)
0,00	96900,00	0,00	26290,00
28,00	77272,00	53,00	31210,00
74,00	56818,00	74,00	13906,00
123,00	44498,00	109,00	24370,00
151,00	59757,00		
173,00	55390,00		
203,00	66179,00		

ČAS_25/M/64 (dnevi)	CA 19-9_25/M/64 (kU/L)	ČAS_26/Ž/61 (dnevi)	CA 19-9_26/Ž/61 (kU/L)
0,00	354593,00	0,00	5414,00
26,00	174122,00	32,00	23894,00
82,00	40441,00	60,00	13599,00
110,00	46208,00	94,00	6597,00
		124,00	12263,00
		150,00	20631,00

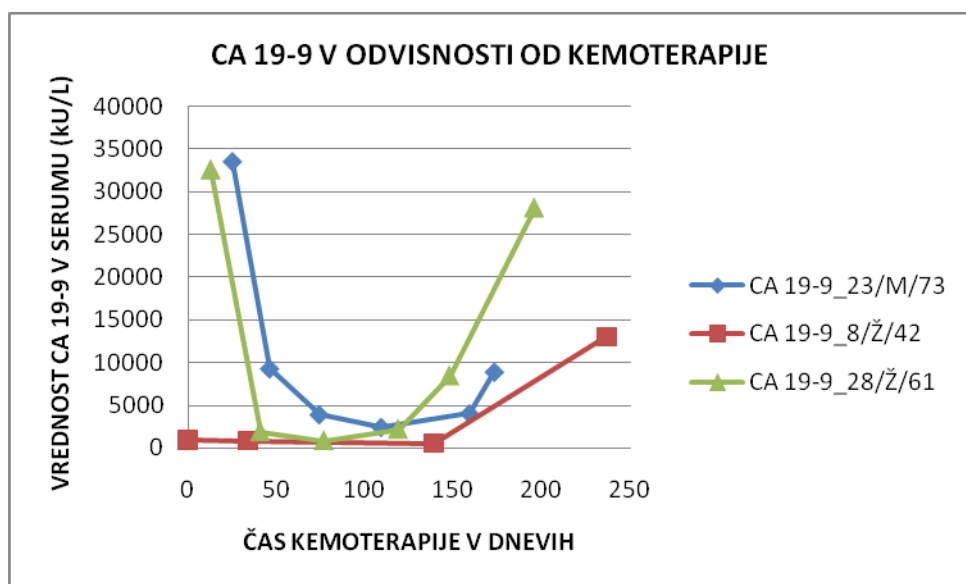


Slika 18: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primere 20, 21, 25 in 26

Primeri pacientov iz tega grafa (slika 18) spadajo v skupino pacientov s prisotnimi oddaljenimi metastazami. Pri primeru 20 in 21 gre za adenokarcinom glave trebušne slinavke, pri primeru 25 in 26 pa je tumor prisoten v repu trebušne slinavke. Vsi štirje pacienti so prejeli priporočen odmerek gemcitabina, ki se tekom terapije ni spreminjal. Na prvi pogled je videti, da je kemoterapija zelo učinkovita, saj vrednosti označevalca CA 19-9 med terapijo padajo in je končna točka manjša od začetne pri treh primerih. Vendar moramo biti pazljivi, saj se same vrednosti označevalca skozi celotno trajanje kemoterapije gibljejo v zelo visokih koncentracijah in nikoli ne padejo v referenčne meje (zgornja referenčna meja je 37 kU/L). S terapijo zaključijo zaradi napredovale bolezni. Meritvi ultrazvoka pri primerih 25 in 26 kažeta napredovalo bolezen v času prenehanja kemoterapije (končna točka), in sicer pokažeta večje metastatične spremembe na jetrih in povečana jetra glede na prejšnje izvide. V primeru 26 je pacientka ob koncu terapije v poslabšanem stanju, ki se kaže kot normocitna anemija, hujšanje, močne bolečine in splošna oslabelost. Tudi hematološke preiskave so bile pri tej pacientki ves čas terapije slabe, namreč kazale so levkocitozo, trombocitozo, majhne trombocite, nevtrofilijo in limfopenijo. V primeru 20 pride do vse večjega nabiranja serozne tekočine v trebuhu, v primeru 21 tudi prekinejo terapijo zaradi napredovale bolezni in poslabšanega stanja pacienta, ki se kaže z močnimi bolečinami, slabostjo.

Preglednica XXIII: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primere 23, 8 in 28

ČAS_23/M/73 (dnevi)	CA 19-9 _23/M/73 (kU/L)	ČAS_8/Ž/42 (dnevi)	CA 19-9 _8/Ž/42 (kU/L)	ČAS_28/Ž/61 (dnevi)	CA 19-9 _28/Ž/61 (kU/L)
0,00	18586,00	0,00	901,90	0,00	48647,00
25,00	33490,00	34,00	819,30	13,00	32615,00
46,00	9268,00	139,00	525,80	41,00	1868,00
74,00	3906,00	237,00	13019,00	77,00	825,30
109,00	2435,00			119,00	2167,00
159,00	4017,00			148,00	8424,00
173,00	8890,00			196,00	28148,00



Slika 19: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primere 23, 8 in 28

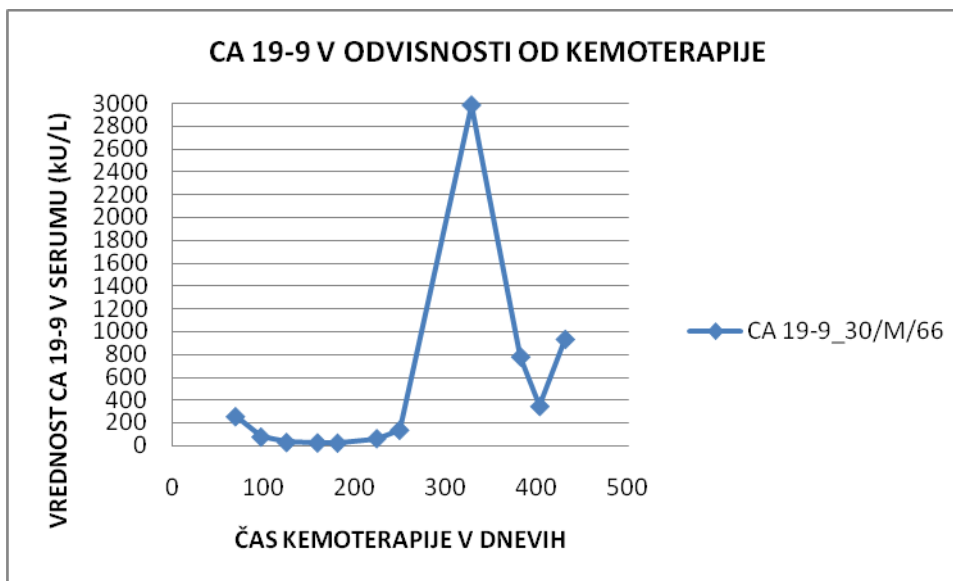
Primer 8 iz grafa (slika 19) spada v skupino pacientov z lokalno napredovalim rakom trebušne slinavke, vendar neoperabilnim procesom. Primera 23 in 28 (slika 19) spadata v skupino pacientov s prisotnimi oddaljenimi metastazami. V vseh primerih gre za adenokarcinom, pri čemer je v primeru 23 tumor prisoten v začetnem delu telesa trebušne slinavke, v primeru 8 in 28 pa v glavi trebušne slinavke. Pacienti so prejeli priporočen odmerek gemcitabina, ki se med terapijo ni spreminjal. V vseh primerih je viden padec označevalca CA 19-9, vendar vrednosti ne padejo pod zgornjo referenčno mejo. Po določenem času začnejo vrednosti označevalca naraščati do končne točke, ko pride do prekinitve kemoterapije. Do prekinitve terapije pride zaradi napredovale bolezni. Pri

primeru 8 nam UZ preiskava pokaže večji tumor trebušne slinavke in vse večje nabiranje tekočine v trebuhu, kar kaže na napredovalo bolezen. Pravtako nam UZ preiskava v primeru 28 pokaže večje spremembe, in sicer večji tumor trebušne slinavke in večje metastatične spremembe na jetrih (večje metastaze in večje število metastaz). Tudi pri primeru 23 zaključijo kemoterapijo zaradi napredovale bolezni, namreč bolezen je že od samega začetka razširjena v peritonej. Na koncu pride do vse večjega nabiranja tekočine v trebuhu, kar potrjuje tudi UZ preiskava.

B) PRIKAZ TUMORSKEGA OZNAČEVALCA CA 19-9 V ODVISNOSTI OD TRAJANJA KEMOTERAPIJE ZA PRIMERA PACIENTOV, KI STA PREJEMALA GEMCITABIN IN KAPECITABIN:

Preglednica XXIV: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 30

ČAS_30/M/66 (dnevi)	CA 19-9 _30/M/66 (kU/L)
0,00	92294,00
69,00	250,30
97,00	71,50
125,00	23,90
159,00	20,20
181,00	18,20
224,00	57,50
249,00	131,80
328,00	2985,00
382,00	774,20
403,00	340,30
431,00	928,50

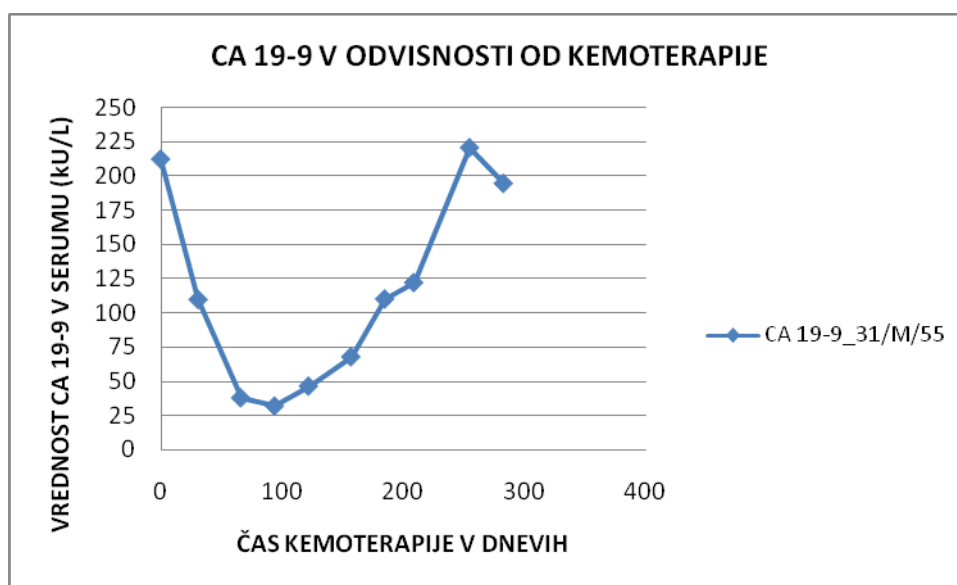


Slika 20: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 30

Primeru 30 (slika 20) so pred terapijo postavili diagnozo karcinom trebušne slinavke z metastazami v jetrih. Pacient je tekom terapije prejemal priporočen odmerek gemcitabina, ter manjši kot priporočen odmerek kapcitabina v fazi II. reda terapije (**priporočen odmerek je 1250 mg/m² 2-krat na dan**). Iz grafa vidimo, da vrednosti tumorskega označevalca CA 19-9 nekaj časa padajo in padejo v referenčne meje, kar kaže na učinkovitost kemoterapije I. reda. Po koncu upada pride do hitrega in velikega dviga vrednosti označevalca CA 19-9, ki je 2985 kU/L (328 dan). V tem času je bila namreč kemoterapija ukinjena. Nato se zaradi dobrega kliničnega stanja bolnika in ker UZ preiskava ne pokaže znakov napredovale bolezni, odločijo za zdravljenje z II. redom kemoterapije, kombinacija gemcitabin in kapecitabin. Vrednosti označevalca CA 19-9 nekaj časa padajo, kar kaže na učinkovitost kemoterapije II. reda, vendar pa vrednosti ne padejo v referenčne meje. Nato pride do rahlega porasta in zaključka kemoterapije. S kemoterapijo zaključijo zaradi napredovale bolezni, namreč citološka punkcija ascitesa pokaže sekundarno maligno neoplazmo peritoneja. Narejene so bile tudi UZ preiskave, vendar zaradi meteorizma (napihnenost trebuha zaradi plina v črevesju ali peritonealni votlini) pregled ni bil mogoče. Poleg tega je bil pacient v splošnem slabem stanju, prisotne so bile močne bolečine.

Preglednica XXV: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 31

ČAS_31/M/55 (dnevi)	CA 19-9 _31/M/55 (kU/L)
0,00	212,00
31,00	109,80
66,00	38,20
94,00	32,20
122,00	46,70
157,00	68,10
185,00	110,20
209,00	122,10
255,00	220,40
283,00	194,40



Slika 21: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 31

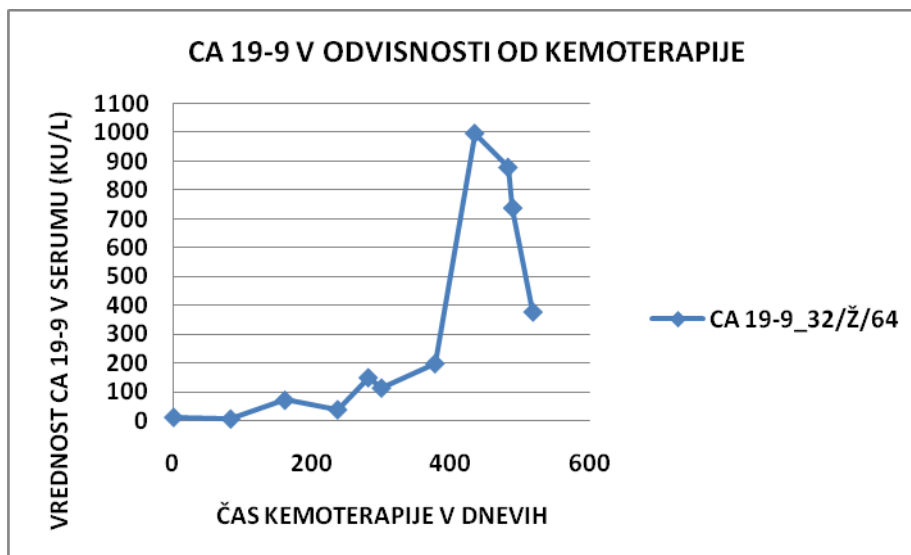
Primeru 31 (slika 21) so pred terapijo z UZ ugotovili tumor trebušne slinavke v področju telesa proti repu, z ekplorativno laparotomijo pa sumljive spremembe na jetrih in peritoneju. Patohistološke potrditve ni bilo. Pacient je tekom terapije prejemal priporočen odmerek gemcitabina, ter manjši kot priporočen odmerek kaptitabina v fazi II. reda terapije (priporočen odmerek je 1250 mg/m^2 2-krat na dan). Iz grafa vidimo, da vrednosti tumorskega označevalca CA 19-9 nekaj časa padajo in padejo v referenčne meje, kar kaže na učinkovitost kemoterapije I. reda. Po določenem času začne vrednost označevalca

počasi naraščati. Tako kemoterapija I. reda ni več učinkovita in se odločijo za kemoterapijo II. reda (od 209 dneva naprej), saj je pacient še vedno v dobrem kliničnem stanju in glede na UZ preiskavo ni znakov napredovale bolezni (velikost tumorja trebušne slinavke je enaka predhodnemu izvidu). Vendar vrednost označevalca CA 19-9 še naprej počasi narašča, nato rahlo upade, ampak pri tej točki se zaključi zdravljenje s kemoterapijo II. reda. S kemoterapijo zaključijo zaradi napredovale bolezni, namreč UZ preiskava je pokazala večji tumor trebušne slinavke glede na prejšnje izvide, pravtako je bila povečana tudi vranica. Poleg tega je bil pacient v splošnem slabem stanju, prisotna je bila anemija, močne bolečine, gastropareza (paraliza mišičja v želodčni steni) in hud sekundarni reflukсни ezofagitis (vnetje požiralnika).

C) PRIKAZ TUMORSKEGA OZNAČEVALCA CA 19-9 V ODVISNOSTI OD KEMOTERAPIJE ZA PRIMERA PACIENTOV, KI STA PREJEMALA GEMCITABIN IN ERLOTINIB:

Preglednica XXVI: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 32

ČAS_32/Ž/64 (dnevi)	CA 19-9 _32/Ž/64 (kU/L)
0,00	12,80
82,00	6,90
160,00	72,00
236,00	39,10
280,00	149,70
299,00	114,20
376,00	198,50
433,00	995,40
481,00	877,70
488,00	737,10
517,00	377,20

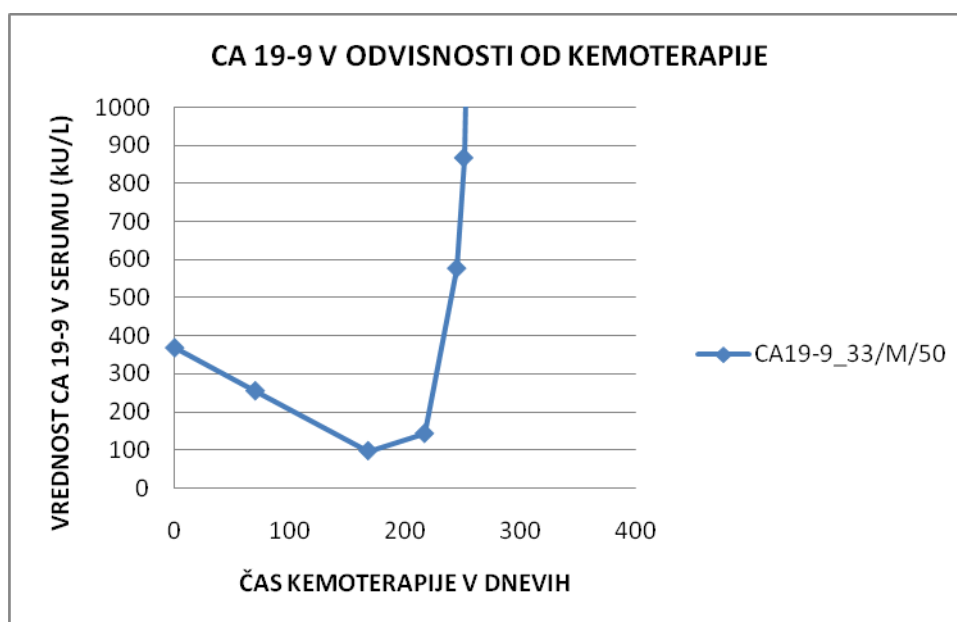


Slika 22: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 32

Pri primeru 32 (slika 22) gre za lokalno napredovali adenokarcinom glave trebušne slinavke. Pacientki so kirurško odstranili tumor, vendar operacija ni bila radikalna. Pacientka je do terapije II. reda prejela priporočen odmerek gemcitabina. V času terapije II. reda je sprva prejela 70 % priporočenega odmerka, kasneje pa le 50 % priporočenega odmerka gemcitabina. Erlotinib je bolnica prejela v priporočenih odmerkih (**priporočen odmerek je 100 mg na dan**). Vrednosti tumorskega označevalca so do 236 dneva trajanja kemoterapije v referenčnih mejah ali nekoliko višje. Po določenem času začnejo počasi naraščati, v tem obdobju je bila kemoterapija večkrat prestavljena zaradi levkopenije. Nato pride do hitrega porasta vrednosti označevalca CA 19-9. V času hitrega porasta je bila kemoterapija ukinjena. Do najvišje točke vrednosti označevalca je pacientka prejela kemoterapijo I. reda, ki je bila določen čas učinkovita. Ker pa je bila bolnica v dovolj dobrem kliničnem stanju, čeprav je CT preiskava pokazala ponovno prisoten manjši tumor trebušne slinavke, so se odločili za zdravljenje z gemcitabinom v kombinaciji z erlotinibom, II. red terapije. V času te terapije pride do upada vrednosti označevalca CA 19-9, kar kaže na učinkovitost terapije II. reda, vendar vrednosti ne padejo v referenčne meje in končna točka je višja od začetne ter od točke pred pavzo. Proti koncu terapije z erlotinibom, so se pri pacientki pokazali neželeni učinki na koži, in sicer kožni izpuščaji. S terapijo II. reda so zaključili zaradi napredovale bolezni, namreč UZ preiskava je ob koncu terapije pokazala povečan tumor trebušne slinavke, povečane paraortalne bezgavke in prosto tekočino v trebušni votlini. Pacientka je bila ob zaključku terapije anemična, njena populacija levkocitov je bila nenormalna.

Preglednica XXVII: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 33

ČAS_33/M/50 (dnevi)	CA19-9 _33/M/50 (kU/L)
0,00	368,40
70,00	255,10
168,00	97,30
217,00	142,80
245,00	577,60
251,00	868,60
370,00	19661,00



Slika 23: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 33

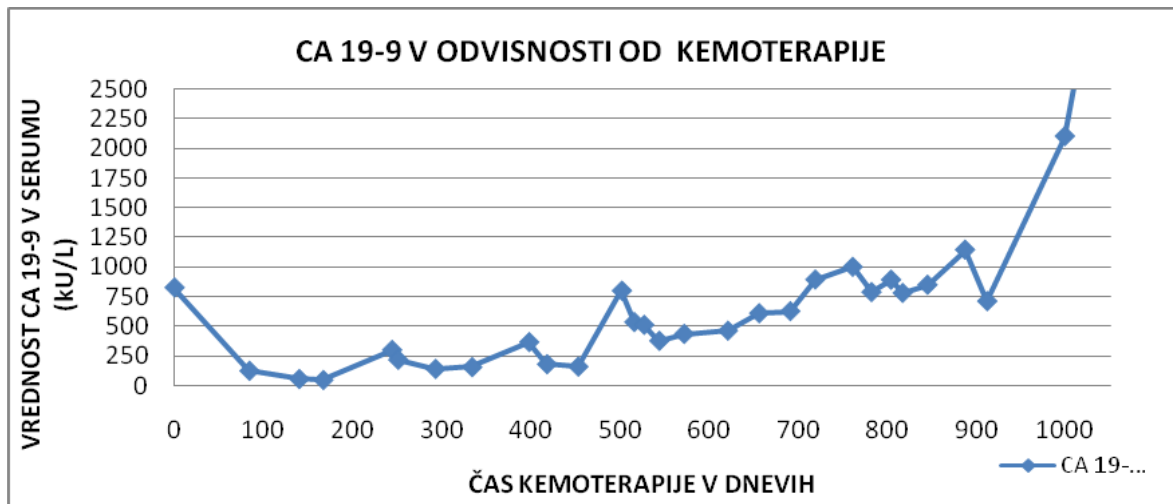
Pri primeru 33 (slika 23) gre za lokalno napredovali karcinom telesa trebušne slinavke, pri čemer je proces neoperabilen. Pacient je prejemal priporočen odmerek gemcitabina v času terapije I. reda, v času terapije II. reda pa 70 % priporočene doze. Erlotinib je bolnik prejemal v priporočenih odmerkih. V 70 dneh pride do upada vrednosti tumorskega označevalca CA 19-9, vendar vrednosti ne padejo v referenčne meje. V tem času je pacient prejemal kemoterapijo I. reda, ki se ja izkazala za učinkovito. Vendar se potem, ker je pacient v dobrem kliničnem stanju odločijo še za zdravljenje s terapijo II. reda, kombinacija gemcitabin in erlotinib. Na začetku pride do upada označevalca pod vrednostjo 100 kU/L, kar je najnižja točka v času terapije. To pokaže, da je terapija II. reda

učinkovita. Nato pa vrednost narašča vse do zaključka terapije II. reda. S terapijo zaključijo zaradi napredovale bolezni, namreč UZ preiskava ob koncu terapije pokaže metastaze v jetrih, povečan tumor trebušne slinavke in prosto tekočino v trebušni votlini.

D) PRIKAZ TUMORSKEGA OZNAČEVALCA CA 19-9 V ODVISNOSTI OD KEMOTERAPIJE ZA PRIMER PACIENTKE, KI JE PREJEMALA GEMCITABIN, ERLOTINIB IN KAPECITABIN:

Preglednica XXVIII: Prikaz vrednosti označevalca CA 19-9 in dnevov aplikacije terapije za primer 34

ČAS_34/Ž/55 (dnevi)	CA 19-9 _34/Ž/55 (kU/L)	ČAS_34/Ž/55 (dnevi)	CA 19-9 _34/Ž/55 (kU/L)
0,00	830,10	572,00	439,80
84,00	129,70	621,00	467,20
140,00	60,10	656,00	614,00
167,00	52,20	691,00	631,00
244,00	304,90	719,00	897,00
251,00	222,10	761,00	1004,00
293,00	145,30	782,00	791,90
334,00	160,20	804,00	895,70
398,00	371,50	817,00	784,40
418,00	185,00	845,00	852,90
453,00	164,90	887,00	1148,00
502,00	803,30	912,00	715,10
516,00	539,10	999,00	2103,00
527,00	515,80	1042,00	3872,00
544,00	381,50	1078,00	4865,00



Slika 24: Prikaz odvisnosti CA 19-9 od trajanja terapije za primer 34

Gre za primer pacientke z lokalno napredovalim rakom trebušne slinavke (slika 24). Glede na EUZ preiskavo se tumor nahaja v področju papile Vateri oziroma glave trebušne slinavke. S patohistološkim testom so diagnosticirali adenokarcinom duktalnega tipa. Pacientka je tekom terapije prejela priporočen odmerek gemcitabina. Prvotno je prejela priporočene odmerke kapecitabina in erlotiniba. Do 398 dneva trajanja terapije je pacientka prejela kemoterapijo prvega reda z vmenimi pavzami, kar je razvidno iz grafa v obliki manjših porastov vrednosti označevalca CA 19-9, ki nato upadejo. UZ preiskave v tem času ne kažejo na napredovalo bolezen, prvotno vrednosti označevalca CA 19-9 ne porastejo do visokih vrednosti. V tem času hematološke preiskave kažejo, da je pri pacientki bila večkrat prisotna levkopenija in slaba krvna slika (nevtropenija, hipokromija, populacije eritrocitov, trombocitov in levkocitov nenormalne), zaradi česar je bilo potrebno prestaviti kemoterapijo. Ker je pacientka v dobrem kliničnem stanju se odločijo za kemoterapijo II. reda, kombinacija gemcitabin in kapecitabin. II. red terapije je pacientka prejela vse do približno 656 dneva trajanja kemoterapije, in sicer z vmesnimi prekinitvami, ki se kažejo v obliki manjših porastov vrednosti označevalca CA 19-9 in nato ponovnih upadov. Vendar vsak ponovni upad vrednosti označevalca CA 19-9 se konča v višji točki kot prejšnji, kar je lepo razvidno iz grafa. Po tej terapiji se odločijo še za drugo terapijo II. reda, kombinacija gemcitabin in erlotinib. Slednjo terapijo II. reda je pacientka prejela vse do približno 761 dneva trajanja terapije. Iz grafa lahko razberemo, da v tem času vrednost označevalca narašča, prvotno pa so izraženi sekundarni stranski učinki erlotiniba na koži. Zaradi neučinkovitosti te terapije se ponovno odločijo za terapijo II. reda, kombinacija gemcitabin in kapecitabin. Kemoterapijo II. reda je bolnica prejela

vse do približno 999 dneva trajanja terapije z vmesnimi prekinitvami, ki se kažejo kot manjši porasti vrednosti označevalca CA 19-9, ki nato upadejo. V tem času UZ preiskave kažejo na nekoliko napredovalo bolezen, in sicer večji tumor trebušne slinavke. Pravtako pa je bolnica večkrat prejela transfuzijo koncentriranih eritrocitov zaradi normocitne anemije. Stanje bolnice je nekoliko slabše, vendar s terapijo nadaljujejo, in sicer prekinejo terapijo s kapecitabinom in dodajo erlotinib. Terapijo II. reda je bolnica prejela do konca trajanja terapije, pri čemer iz grafa vidimo, da vrednost označevalca narašča in več ne upade, kar kaže na vse slabšo učinkovitost terapije II. reda. Terapija ni bila ukinjena. Bolnica je umrla zaradi pljučne embolije.

Pri vseh primerih bolnikov, ki so prejeli terapijo II. reda, je čas preživetja daljši (glej preglednico IX) od povprečnih vrednosti celotne skupine bolnikov, ki je prejela gemcitabin (čas preživetja = 9,6 mesecev), od skupine bolnikov brez prisotnih metastaz (čas preživetja = 12,3 mesecev) in od skupine bolnikov z prisotnimi metastazami (čas preživetja = 7,4 mesecev). Ti podatki nakazujejo na to, da je terapija II. reda učinkovita in bi lahko vplivala na daljši čas preživetja.

5. ZAKLJUČEK

Pogostnost pojava raka trebušne slinavke po vsem svetu narašča, pravtako tudi v Evropi in Sloveniji. Do sedaj že obstajajo nekatera priporočila glede tumorskega označevalca CA 19-9 kot faktorja prognoze in za ocenitev terapije, vendar je potrebno njegovo klinično pomembnost še raziskovati in potrjevati. **Zato smo se odločili proučiti in potrditi vlogo označevalca CA 19-9 kot dejavnika prognoze in za ocenitev terapije.**

V obdobju od leta 2004–2008 smo na Gastroenterološki interni kliniki v Ljubljani zbrali podatke o 34 pacientih z rakom trebušne slinavke. Diagnoza je bila potrjena s pomočjo UZ in/ali CT preiskave. Za identifikacijo tumorja je bila narejena biopsija novotvorbe. Vrednosti označevalca CA 19-9 smo merili od postavitve diagnoze raka do zaključka terapije, in sicer po standardnih rutinskih postopkih. **Iz dobljenih podatkov smo s pomočjo statističnih metod prišli do sledečih sklepov:**

Z Mann-Whitneyjevim testom smo pokazali, da sta vrednosti označevalca CA 19-9 pred terapijo in najnižja vrednost označevalca med terapijo statistično značilno manjši pri skupini brez metastaz v primerjavi s skupino z metastazami. Pokazali smo tudi, da med vrednostjo označevalca CA 19-9 pred terapijo in časom preživetja obstaja statistično značilna negativna korelacija (celotna sk.: $P = 0,015$ ($\rho = -0,472$); sk. brez metastaz: $P = 0,034$ ($\rho = -0,669$)). Pravtako obstaja statistično značilna negativna korelacija med najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 in časom preživetja (celotna sk.: $P < 0,0005$ ($\rho = -0,813$)); sk. brez metastaz: $P = 0,053$ ($\rho = -0,570$)). Pri skupini z metastazami ne obstajata takšni statistično značilni korelaciji. **Iz rezultatov je razvidno, da bi se velikost vrednosti označevalca CA 19-9 pred terapijo in v najnižji točki lahko uporabljala kot napovedni dejavnik bolezni, predvsem pri celotni skupini in skupini brez metastaz. Pravtako ti podatki kažejo, da je terapija pri teh skupinah dobro učinkovita, kjer je najnižja točka v značilni povezavi s časom preživetja.** Pri skupini z metastazami sklepamo, da je bolezen že tako razširjena, da sama velikost vrednosti označevalca ni v povezavi s časom preživetja. Končna vrednost označevalca CA 19-9 pri nobeni skupini ni v statistično značilni korelaciji s časom preživetja. **Iz rezultatov je razvidno, da je ob zaključku terapije v obeh skupinah bolezen že toliko razširjena, da sama velikost vrednosti označevalca nima vpliva na čas preživetja.** Razlika med začetno in najnižjo vrednostjo označevalca CA 19-9 je v statistično značilni povezavi s časom preživetja pri celotni skupini in skupini z metastazami (celotna sk.: $P = 0,003$ ($\rho = -0,644$); sk. z

metastazami: $P = 0,018$ ($\rho = -0,723$)). Smer korelacije je negativna, kar pomeni, da krajši kot je čas preživetja, večja je razlika med začetno in najnižjo vrednostjo CA 19-9. Ta povezava pa ni pričakovana, namreč večja razlika v vrednosti bi naj pomenila boljšo učinkovitost terapije in s tem daljši čas preživetja. Pričakovali bi pozitivno korelacijo. **Iz teh rezultatov je razvidno, da je lahko razlog manjše učinkovitosti terapije razširjena bolezen, slabo stanje bolnika, preveliki stranski učinki kemoterapevtika.** Med f1 in časom preživetja obstaja statistično značilna negativna povezava (celotna sk.: $P = 0,005$ ($\rho = -0,614$); sk. z metastazami: $P = 0,020$ ($\rho = -0,717$)). Ta povezava nam pokaže manjšo učinkovitost terapije in s tem krajši čas preživetja. **Iz rezultatov je razvidno, da je lahko razlog manjše učinkovitosti terapije razširjena bolezen, slabo stanje bolnika, preveliki neželeni učinki kemoterapevtika.** F2 je v negativni korelaciji s časom preživetja pri celotni skupini ($P = 0,001$, $\rho = -0,661$). Takšno korelacijo tudi pričakujemo, saj to pomeni večjo učinkovitost terapije in daljši čas preživetja. Sama sprememba vrednosti označevalca CA 19-9, ki je predstavljena z f3 in f4 ni pri nobeni skupini v statistično značilni korelaciji s časom preživetja. **Iz rezultatov je razvidno, da nam sama velikost vrednosti označevalca CA 19-9 v neki točki daje več informacij o povezavah s časom preživetja kot pa sprememba vrednosti označevalca.**

Iz grafov, kjer smo pokazali gibanje tumorskega označevalca CA 19-9 v odvisnosti od trajanja terapije, **smo ugotovili, da so vrednosti tumorskega označevalca v večini primerov iz skupine z metastazami precej višje od primerov iz skupine brez metastaz. Pri primerih iz skupine brez metastaz vrednosti označevalca padejo blizu ali pod referenčne meje tekom terapije, medtem ko pri primerih iz skupine z metastazami tudi pride do padca, vendar se vrednosti ne gibljejo blizu referenčnim mejam.** V večini primerov v obeh skupinah s terapijo zaključijo zaradi napredovale bolezni, ki se kaže na različne načine. Najpogosteje nam UZ preiskava pokaže povečan tumor trebušne slinavke, prisotne metastaze in/ali večje metastaze ter večje število metastaz v jetrih ter nabiranje serozne tekočine v trebuhu. Pogosto so pacienti tudi v poslabšanem stanju, kar se kaže v obliki močnih bolečin, splošne oslabeledosti, hujšanja, anemij. **Pacienti pri katerih se je kemoterapija prvega reda izkazala za neučinkovito in so bili v dobrem kliničnem stanju, so prejeli terapijo II. reda, ki se je izkazala za učinkovito določen čas in tako podaljšala čas preživetja.** Terapijo so zaključili iz podobnih razlogov kot prej opisano.

Za boljšo reprezentativnost zaključkov bi bilo smiselno razširiti študijo na večjem številu ljudi. Smiselno bi bilo preveriti vlogo tumorskega označevalca CA 19-9 kor faktorja prognoze in za ocenitev terapije v kombinaciji z drugimi klinično pomembnimi označevalci kot so CEA, CA 125 in različni mucini, saj bi s tem dosegli še večjo občutljivost.

6. LITERATURA

- (1) Andreja Kocijančič, Franc Mrevlje, Dušan Štajer: Interna medicina, tretja izdaja, Littera picta, Ljubljana, 2005: 550, 563–565 in 893–896
- (2) D. Štiblar – Martinčič, O. Vraspir – Porenta, R. Zorc – Pleskovič: Histologija, Inštitut za histologijo in embriologijo Medicinske fakultete, Ljubljana, 1998: 90
- (3)
http://images.google.si/imgres?imgurl=http://www.histol.chuvashia.com/images/digestive/pancreas-04-1.jpg&imgrefurl=http://www.histol.chuvashia.com/atlas-en/digestive-03-en.htm&usq=__VNtgU9_SXu5loTf1PXU23ceb8_U=&h=393&w=450&sz=53&hl=sl&start=72&tbnid=Cmx5Z_2hpwMoqM:&tbnh=111&tbnw=127&prev=/images%3Fq%3Dpancreas%26gbv%3D2%26ndsp%3D20%26hl%3Dsl%26sa%3DN%26start%3D60
- (4) Kumar Parveen, Clarck Michael: Clinical Medicine, 6 izdaja, Elsevier Saunders, Edinburgh, 2005: 406–407
- (5) Martina Reberšek, Erik Škof, Zvezdana Hlebanja in Janja Ocvirk: Priporočila za sistemsko zdravljenje bolnikov z napredovalim rakom trebušne slinavke, Onkologija/priporočila, leto XI, št. 2, december 2007
- (6) D. Max Parkin, MD, Freddie Bray, J. Ferlay and Paola Pisani: Global Cancer Statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005; 55:74–108
- (7) [Jemal A](#), [Siegel R](#), [Ward E](#), [Hao Y](#), [Xu J](#), [Murray T](#), [Thun MJ](#): Cancer Statistics, 2008. CA Cancer J Clin 2008; 58: 71–96
- (8) S. Cascinu, S. Jelic: Pancreatic cancer: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology 2009; 20 (4): 37–40
- (9) Tadaka Yamada, David H. Alpers, Neil Kaplowitz, Loran Laine, Chung Owyang, Dan W. Powell: Textbook of Gastroenterology, volumen 2, 4 izdaja, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 2003: 2091–2106

- (10) Neva-Černe Finderle: Kancerogeneza, Izbrana poglavja iz patološke fiziologije, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo, Ljubljana, 2003: 91–122
- (11) Conor J. Magee, William Greenhalf, Nathan Howes, Paula Ghaneh, John P. Neoptolemos: Molecular pathogenesis of pancreatic ductal adenocarcinoma and clinical implications. *Surgical oncology* 2001; 10: 1–23
- (12) Jan-Bart M. Koorstra, Steven R. Hustinx, G. Johan A. Offerhaus, Anirban Maitra: Pancreatic Carcinogenesis. *Pancreatology* 2008; 8 (2): 110–125
- (13) Kirsch DG, Kastan MB: Tumor-suppressor p53: implications for tumor development and prognosis. *J. Clin Oncol* 1998; 16: 3158–3168
- (14) Liggett WH, Jr, Sidransky D: Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1197–1206
- (15) Massague J, Blain SW, Lo RS: TGFbeta signaling in growth control, cancer, and heritable disorders. *Cell* 2000; 103: 295–309
- (16) Cohenuram M, Saif MW: Epidermal growth factor receptor inhibition strategies in pancreatic cancer: past, present and the future. *JOP* 2007; 8: 4–15
- (17) Goh BK: Positron emission tomography/computed tomography influences on the management of resectable pancreatic cancer and its cost-effectiveness. *Ann Surg* 2006; 243: 709–710
- (18) Kumar R, Chauhan A: Positron emission tomography: clinical applications in oncology, Part 2. *Expert Rev Anticancer Ther* 2006; 6: 625–640
- (19) Giuseppe Garcea, Ashley R Dennison, Clare J Pattenden, Cristopher P Neal, Cristopher D Sutton, David P Berry: Survival Following Curative Resection for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. A Systematic Review of the Literature. *Journal of the Pancreas* 2008; 9(2): 99–132

- (20) Kim SC: Surgical management of pancreatic cancer. *Korean J Gastroenterol* 2008; 51(2): 89–100
- (21) Poročilo št. 34 – Register raka za Slovenijo, 1992 (www.kclj.si/abdkrg/rak4.pdf)
- (22) Shailesh V. Shrikhande, Helmut Friess, Markus W. Büchler: *Surgery of Pancreatic Tumors*, B. I. Publications Pvt Ltd, New Delhi, 2008: 158–166
- (23) Seiler CA, Wagner M, Bachmann T, Redaelli CA, Schmied B, Uhl W, Friess H, Büchler MW: Randomized clinical trial of pylorus-preserving duodenopancreatectomy versus classical Whipple resection-long term results. *Br J Surg* 2005; 92(2): 547–56
- (24) Diener MK, Knaebel HP, Heukauf C, Antes G, Büchler MW, Seiler CM: A systematic review and meta-analysis of pylorus-preserving versus classical pancreaticoduodenectomy for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma. *Ann Surg* 2007; 245(2): 187–200
- (25) Klinkenbilj JH, van der Schelling GP, Hop WC, van Pel R, Bruining HA, Jeekel J: The advantages of pylorus-preserving pancreatoduodenectomy in malignant disease of the pancreas and periampullary region. *Ann Surg* 1992; 216(2): 142–5
- (26) Paraskevas KI, Avgerinos C, Manes C, Lytras D, Dervenis C: Delayed gastric emptying is associated with pylorus-preserving but not classical Whipple pancreaticoduodenectomy: a review of the literature and critical reappraisal of the implicated pathomechanism. *World J Gastroenterol* 2006; 12(37): 5951–8
- (27) Michalski CW, Kleeff J, Wente MN, Diener MK, Büchler MW, Friess H: Systematic review and meta-analysis of standard and extended lymphadenectomy in pancreaticoduodenectomy for pancreatic cancer. *Br J Surg* 2007; 94(3): 265–73
- (28) Farnell MB, Aranha GV, Nimura Y, Michelassi F: The role of extended lymphadenectomy for adenocarcinoma of the head of the pancreas: strength of the evidence. *J Gastrointest Surg* 2008; 12(4): 651–6

- (29) Siriwardana HP, Siriwardena AK: Systematic review of outcome of synchronous portal-superior mesenteric vein resection during pancreatectomy for cancer. *Br J Surg* 2006; 93(6): 662–73
- (30) Riediger H, Makowiec F, Fischer E, Adam U, Hopt UT: Postoperative morbidity and long-term survival after pancreaticoduodenectomy with superior mesenterico-portal vein resection. *J Gastrointest Surg* 2006, 10(8): 1106–15
- (31) Yokoyama Y, Nimura Y, Nagino M: Advances in the treatment of pancreatic cancer: limitations of surgery and evaluation of new therapeutic strategies. *Surg Today* 2009; 39(6): 466–75
- (32) Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H et al: A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2004; 350(12): 1200–1210
- (33) Oettle H, Post S, Neuhaus P, Gellert K et al: Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 297(3): 267–277
- (34) Stocken DD, Büchler MW, Dervenis C et al: Meta-analysis of randomised adjuvant therapy trials for pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2005; 92(8): 1372–1381
- (35) Huguet F, Andre T, Hammel P et al: Impact of Chemoradiotherapy After Disease Control With Chemotherapy in Locally Advanced Pancreatic Adenocarcinoma in GERCOR Phase II and III Studies. *J Clin Oncol* 2007; 25: 326–331
- (36) Moore MJ, Goldstein D, Hamm J et al: Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer. A phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (NCIC-CTG). *J Clin Oncol* 2007; 25: 1960–1966

- (37) Cunningham D, Chau I, Stocken D in sodelavci: Phase III randomised comparison of gemcitabine (GEM) versus gemcitanine plus capecitabine (GEM-CAP) in patients with advanced pancreatic cancer, Citation: Eur J Cancer Suppl 2005; 4 abstr PS II
- (38) Louvet C, Labianca R, Hammel P et al: Gemcitabine in combination with oxaliplatin compared with gemcitabin alone in locally advanced or metastatic pancreatic cancer: Results of a GERCOR and GISCAD phase III trial. J Clin Oncol 2005, 23: 3509–3516
- (39) Reni M, Cordio S, Milandri C et al: Gemcitabin versus cisplatin, epirubicin, fluorouracil, and gemcitabin in advanced pancreatic cancer: a randomised controlled multicentre phase III trial. Lancet Oncol 2005; 6(6): 369–376
- (40) Kindler HL, Niedzwiecki D, Hollis D, Oraefo E, Schrag D, Hurwitz H et al: A double-blind, placebo-controlled, randomized phase III trial of gemcitabine (G) plus bevacizumab (B) versus gemcitabine plus placebo (P) in patients with advanced pancreatic cancer: A preliminary analysis of Cancer and Leukemia group B; J Clin Oncol, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I, 25(18S):4508
- (41) P. A. Philip, J. Benedetti, C. Fenoglio-Preiser, M. Zalupski, H. Lenz, E. O'Reilly, R. Wong, J. Atkins, J. Abruzzese, C. Blanke: Phase III study of gemcitabine [G] plus cetuximab [C] versus gemcitabine in patients [pts] with locally advanced or metastatic pancreatic adenocarcinoma [PC]: SWOG S0205 study, J Clin Oncol, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I, 25(18S):LBA4509
- (42) Lisa Hazard: The Role of Radiation Therapy in Pancreas Cancer. Gastrointestinal Cancer Research 2009; 3: 20–28
- (43) E. Mini, S. Nobili, B. Caciagli, I. Landini, T. Mazzei: Cellular pharmacology of gemcitabine. Annals of Oncology 2006; 17 (5): 7–12
- (44) Soonmo Peter Kang, Muhammad Wasif Saif: Pharmacogenomics and Pancreatic Cancer Treatment. Optimizing Current Therapy and Individualizing Future Therapy. Journal of the pancreas 2008; 9 (3): 251–266

(45) Han Hsi Wong, Nicholas R. Lemoine: Biological Approaches to Therapy of Pancreatic Cancer. *Pancreatology* 2008; 8: 431–461

(46)

<http://www.trccanada.com/categories.php?Option=Isotope+Labelled+Compounds&Page=15>

(47)

http://www.google.com/imgres?imgurl=http://www.nature.com/nrd/journal/v5/n6/images/nrd2039i1.jpg&imgrefurl=http://www.nature.com/nrd/journal/v5/n6/box/nrd2039_BX3.html&usq=__ninZu4md5wnPZH7Quzsnjn7Ttk=&h=460&w=505&sz=32&hl=en&start=4&itbs=1&tbnid=Vn8i5QlQrkfSjM:&tbnh=118&tbnw=130&prev=/images%3Fq%3Derlotinib%26hl%3Den%26sa%3DG%26gbv%3D2%26tbs%3Disch:1

(48) Prof. Dr. Joško Osredkar: Izbrana poglavja iz klinične kemije: učno gradivo za študente farmacije, FFA, Ljubljana, 2008: 92–106

(49) Shauna C. Anderson, Susan Cockayne: *Clinical Chemistry: Concepts and Applications*, Medical Pub Division, New York, 2003: 323–342

(50) <http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/1-2000-novakovic.pdf>

(51) Kim HJ, Kim MH, Myung SJ, Lim BC, Park ET, Yoo KS, et al: A new strategy for the application of CA 19-9 in the differentiation of pancreaticobiliary cancer: analysis using a receiver operating characteristic curve. *Am J Gastroenterol* 1999; 94(7): 1941–6

(52) Steinberg W: The clinical utility of the CA 19-9 tumor-associated antigen. *Am J Gastroenterol* 1990; 85(4): 350–5

(53) Duffy MJ: CA 19-9 as a marker for gastrointestinal cancers: a review. *Ann Clin Biochem* 1998; 35 (Pt 3): 364–70

(54) Michael Goggins, Jens Koopmann, Dawei Yang, Marcia I. Canto, Ralph H. Hruban: National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) Guidelines for the Use of Tumor Markers in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, NACB: Practice Guidelines And

Recommendations for Use Of Tumor Markers In The Clinic. *Pancreatic Cancer* (31) 2005; 1–24

(55) M. J. Duffy, C. Sturgeon, R. Lamerz, C. Haglund, V. L. Holubec, R. Klapdor, A. Nicolini, O. Topolcan & R. Heinemann: Tumor markers in pancreatic cancer: a European Group on Tumor Markers (EGTM) status report. *Annals of Oncology* 2009; 21(3): 441–7

(56) Jiang XT, Tao HQ, Zou SC: Detection of serum markers in the diagnosis and treatment of patients with pancreatic cancer. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2004; 3(3): 464–8

(57) Goonetilleke KS, Siriwardena AK: Systemic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33(3): 266–70

(58) Michael Goggins: Molecular markers of Early Pancreatic Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2005; 23 (20): 4524–4531

(59) Gershon Y. Locker, Stanley Hamilton, Jules Harris, John M. Jessup, Nancy Kemeny, John S. Macdonald, Mark R. Somerfield, Daniel F. Hayes, Robert C. Bast: ASCO 2006 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Gastrointestinal Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2006; 24(33): 5313–5327

(60) Michael Xiang Lee, Muhammad Wasif Saif: Screening for Early Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: An Urgent Call. *J Pancreas* 2009; 10(2): 104–108

(61) Katz A, Hanlon A, Lanciano R, Hoffman J, Coia L: Prognostic value of CA 19-9 levels in patients with carcinoma of the pancreas treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998; 41 (2): 393–6

(62) Safi F, Schlosser W, Falkenreck S, Beger HG: CA 19-9 serum course and prognosis of pancreatic cancer. *Int J Pancreatol* 1996; 20 (3): 155–61

- (63) Ferrone CR, Finkelstein DM, Thayer SP et al: Perioperative CA 19-9 levels can predict stage and survival in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24(18): 2897–902
- (64) NR Maisey, AR Nroman, A Hill, A Massey, J Oates, D Cunningham: CA 19-9 as a prognostic factor in inoperable pancreatic cancer: the implication for clinical trials. *British Journal of Cancer* 2005, 93: 740–743
- (65) Boeck S, Stieber P, Holdenrieder S, Wilkowski R, Heinemann V: Prognostic and therapeutic significance of carbohydrate antigen 19-9 as tumor marker in patients with pancreatic cancer. *Oncology* 2006; 70 (4): 255–64
- (66) Ko AH, Hwang J, Venook AP et al: Serum CA 19-9 response as a surrogate for clinical outcome in patients receiving fixed-dose rate gemcitabine for advanced pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2005; 93: 195–199
- (67) Hess V, Glimelius B, Grawe P et al: CA 19-9 tumor marker response in patients with advanced pancreatic cancer enrolled in a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2008; 9: 132–13
- (68) DiaSorin: LIAISON[®] CA 19-9[™] (REF 314171), Saluggia, Italija, 2009
- (69) <http://www.chm.bris.ac.uk/webprojects2002/fleming/mechanism.htm>
- (70) <http://www.tciamerica.com/catalog/A5300.html>
- (71) http://www.hexalab.co.rs/images/o_liason.jpg
- (72) Pihlar Boris: Osnove analizne kemije, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana, 2001: 118–126
- (73) Štefan Adamič: Temelji biostatistike, druga izdaja, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani – Inštitut za biomedicinsko informatiko, Ljubljana, 1995: 83, 85 in 120