

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

PRIMOŽ JEŠE

**KLINIČNI POMEN DOLOČANJA
KARCINOEMBRIONALNEGA ANTIGENA PRI
RAKU NA JETRIH OZIROMA DEBELEM ČREVESU**

**CLINICAL SIGNIFICANCE OF DETERMINING THE
CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN IN LIVER AND
COLORECTAL CANCER**

DIPLOMSKA NALOGA

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI PROGRAM
LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo sem opravljal na Kliničnem oddelku za gastroenterologijo UKC v Ljubljani pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Zahvaljujem se prof. dr. Jošku Osredkarju, ki mi je omogočil izvedbo diplomske naloge ter za pomoč in vodenje le te.

Zahvaljujem se tudi prof. dr. Mariji Sollner Dolenc, mag. farm. in doc. dr. Mojci Kerec Kos, mag. farm. za vse napotke in predloge pri pregledu diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi delavcem laboratorija, ki so mi pokazali in pomagali pri izvedbi praktičnega dela.

Prav tako pa gre zahvala tudi vsem mojim bližnjim, ki so mi stali ob strani pri nastajanju diplomskega dela.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelal pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Predsednica diplomske komisije: prof. dr. Marija Sollner Dolenc, mag. farm.

Članica diplomske komisije: doc. dr. Mojca Kerec Kos, mag. farm.

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	IV
ABSTRACT	V
1. UVOD.....	1
1.1.1. LOČIMO DVE VRSTI TUMORJEV	1
1.1.2. TIPI RAKA	1
1.2. KANCEROGENEZA	2
1.3. VZROKI ZA NASTANEK KANCEROGENEZE	3
1.4. STATISTIKA	5
1.4.1. POGOSTOST RAZLIČNIH VRST IN OBLIK RAKA JE V RAZLIČNIH ŽIVLJENJSKIH OBDOBJIH RAZLIČNA	6
1.4.2. S STARANJEM PREBIVALSTVA JE POJAVLJANJE RAKA POGOSTEJŠE	6
1.4.3. PREŽIVETJE BOLNIKOV Z RAKOM JE VEČJE	7
1.4.4. MED VZROKI SMRTI V SLOVENIJI JE RAK NA DRUGEM MESTU	7
1.5. SPLOŠNO O DEBELEM ČREVESU IN JETRIH	8
1.5.1. DEBELO ČREVO	8
1.5.2. RAK DEBELEGA ČREVESA	10
1.5.3. JETRA	10
1.5.4. RAK JETER	11
2. DIAGNOSTIKA RAKA	13
2.1. VRSTE NAJPOMEMBNEJŠIH DIAGNOSTIČNIH PREISKAV	13
2.1.1. RENTGENSKO SLIKANJE	13
2.1.2. ULTRAZVOK.....	13
2.1.3. RAČUNALNIŠKA TOMOGRAFIJA (CT).....	14
2.1.4. MAGNETNA REZONANCA.....	14
2.1.5. POZITRONSKA EMISIJSKA TOMOGRAFIJA (PET).....	15
2.1.6. BIOPSIJA	16
2.1.7. ENDOSKOPIJA	16
2.1.8. LABORATORIJSKI PREGLEDI VZORCEV	16
2.2. KLINIČNI POMEN TUMORSKIH OZNAČEVALCEV	18
2.2.1. TUMORSKI OZNAČEVALCI.....	18
2.2.2. DOLOČANJE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV	18
2.2.3. LASTNOSTI IDEALNIH TUMORSKIH OZNAČEVALCEV	19
2.2.4. POMANKLJIVOST TUMORSKIH OZNAČEVALCEV	21
2.2.5. KDAJ DOLOČATI TUMORSKE OZNAČEVALCE	21
2.2.5. DELITEV TUMORSKIH OZNAČEVALCEV	22
2.3. CEA-KARCINOEMBRIONALNI ANTIGEN	28
2.4. METODE ZA IDENTIFIKACIJO CEA	29
2.4.1. RADIOIMUNSKÉ TEHNIKE	29
2.4.2. ENCIMSKOIMUNSKÉ TEHNIKE.....	30
2.4.3. LUMINISCENČNE TEHNIKE (LIA).....	31
3. NAMEN DELA	32
4. MATERIALI IN METODE	33
4.1. PREDTAVITEV METODE ZA DOLOČANJE CEA:	33
4.1.1. NAMEN UPORABE	33
4.1.2. PRINCIP METODE	34
4.1.3. MATERIALI	34

4.1.4. PRIPRAVA REAGENTA.....	34
4.1.5. KALIBRACIJA APARATURE.....	35
4.1.6. POSTOPEK TESTA	35
4.1.7. KONTROLA KAKOVOSTI.....	36
4.1.8. IZRAČUN REZULTATOV	36
4.1.9. ZNAČILNOST METODE	36
4.1.10. OMEJITVE PRI METODI.....	37
4.2. ZBIRANJE IN PRIPRAVA VZORCEV	37
4.3. PREDSTAVITEV METODE T-TEST	38
4.3.1. T-TEST	38
4.3.2. T-TEST: DVOVZORČNI Z UPOŠTEVANJEM NEENAKIH VARIANC.....	39
5. REZULTATI	40
5.1. VZORCI	40
5.2. IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI UPORABLJENIH DIAGNOSTIČNIH TESTOV	40
5.3. IZRAČUN T-TESTA V EXELU	42
5.4. ŠTEVILO OBOLELIH ZA RAKOM JETER ALI DEBELEGA ČREVESA OZIROMA TREBUŠNE SLINAVKE.....	43
6. RAZPRAVA.....	44
7. SKLEP.....	46
8. LITERATURA	47
9. PRILOGA.....	1

KAZALO SLIK

Slika 1: Najpogostejša mesta raka po spolu. Levo prikazuje moški spol, desno ženski spol.	6
Slika 2: Debelo črevo	9
Slika 3: Jetra	11
Slika 4: Shematski prikaz metode LIA.....	31
Slika 5: Analizator LIAISON®, na katerem smo določili koncentracijo CEA.....	33
Slika 6: Vzorci v aparatu pred analizo.....	36
Slika 7: Število preiskovancev glede na spol.	40
Slika 8: Število obolelih za rakom jeter ali debelega črevesa oziroma trebušne slinavke. .	43

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Najpogostejši vzroki umrljivosti.	8
Preglednica 2: Referenčne vrednosti krvi.....	17
Preglednica 3: Izračun občutljivosti in specifičnosti.....	41

POVZETEK

Rak je bolezen, ki vsako leto bolj bremeni človeštvo. V Sloveniji vsako leto za rakom zbolijo vsak peti prebivalec. Rak jeter in debelega črevesa je bolezen, katere glavna značilnost je nenadzorovana razrast spremenjenih, rakastih celic. Incidenca vsako leto narašča. Za rakom jeter in debelega črevesa obolevajo vse starostne skupine, čeprav se pogostost viša s starostjo.

Z diplomsko nalogo smo želeli ugotoviti klinični pomen določanja tumorskega označevalca karcinoembrionalnega antigena (CEA) pri karcinomu jeter oziroma debelega črevesa. Tumorski označevalci so snovi, ki so v našem telesu prisotne v zelo nizkih koncentracijah. Če se koncentracija poveča, pa lahko kaže na patološki proces v organizmu. Lahko jih uporabljamo za diagnostiko raka in za spremljanje uspešnosti zdravljenja. Pri našem raziskovalnem delu smo izmerili koncentracijo karcinoembrionalnega antigena pri pacientih, za katere smo sumili, da imajo raka. Analizirali smo vzorce 2442 pacientov na Kliničnem oddelku za gastroenterologijo UKC Ljubljana, med katerimi je bilo 1299 žensk in 1143 moških ter poskušali ugotoviti v kolikšnem številu in v kolikšni meri je CEA povišan. Določili smo občutljivost, ki je bila 98.2% in specifičnost, ki je 79%. Na podlagi statistične obdelave vseh zbranih podatkov smo ugotovili, kakšna je uporabnost določitve tega markerja pri karcinomu jeter oziroma debelega črevesa.

ABSTRACT

Cancer is a disease that poses an increasing burden to humankind. Each year, every fifth Slovene resident falls ill with cancer. Liver and colorectal cancer is a disease whose main characteristic is an uncontrolled growth of modified, carcinogenic cells. The incidence is growing year by year. Liver and colorectal cancer affects all age groups, although the incidence increases with age.

In our thesis, we decided to determine the clinical significance of the determination of the carcinoembryonic antigen (CEA) tumor marker in liver and colon carcinoma. Tumor markers are substances that are present in very low concentrations in our bodies, and any increase in their concentration may indicate a pathological process in the organism. They can be used for diagnosing cancer and monitoring the effectiveness of a treatment. In our research, we measured the concentration of the carcinoembryonic antigen in patients, suspected to have cancer. We analyzed the patterns of 2442 patients at the Clinical Division of Gastroenterology at the University Medical Centre Ljubljana, among which there were 1299 women and 1143 men, and tried to determine to what number and extent the CEA increased. We determined the sensitivity, which reached 98.2%, and specificity, which reached 79%. On the basis of statistical processing of all collected data, we discovered the usefulness of the determination of this marker in liver and colorectal cancer.

1. UVOD

1.1. RAK

Rak je splošno ime za obsežno skupino različnih bolezni, katerih glavna značilnost je nenadzorovana razrast spremenjenih, rakastih celic. Človeško telo je zgrajeno iz različnih tipov celic, ki rastejo in se delijo le takrat, ko organizem to potrebuje. Ker je življenjska doba večine celic omejena, je celična delitev, s katero nastajajo nove celice, nujna za obnavljanje tkiv in za ohranitev zdravega organizma. Včasih pa lahko zaradi različnih vzrokov pride do prekomerne delitve in kopičenja celic, kar povzroči nastanek tumorja. Najhuje je, da rak na začetku večinoma z ničemer ne opozarja nase in ne boli. Rak se lahko pojavi v kateremkoli delu telesa in v vseh starostih, čeprav je najpogostejši pri ljudeh, starejših nad 50 let.

1.1.1. LOČIMO DVE VRSTI TUMORJEV

Benigni tumorji so tumorji, grajeni iz celic, ki so podobne normalnim in imajo le omejeno sposobnost rasti. Če jih odstranimo z operacijo, se praviloma ne ponovijo. Benigni tumorji se ne razširijo v druge dele telesa in ne ogrožajo življenja, zato jih ne štejemo med rakaste tvorbe.

Maligni tumorji so rakaste tvorbe, grajene iz nenormalnih celic, ki se neurejeno in nenadzorovano delijo in razraščajo. Tumorske celice se vraščajo v okoliška tkiva in jih okvarijo. Pogosto prodrejo tudi v mezgovnice in žile, limfni in krvni obtok pa jih razneseta v oddaljene organe, kjer se tvorijo novi tumorji, tako imenovani zasevki ali metastaze(1).

1.1.2. TIPI RAKA

Obstajajo številni različni tipi raka. Pri osnovnem razvrščanju upoštevamo mesto oziroma organ, kjer se je rak pojavil (govorimo npr. o raku dojke, raku pljuč, kostnem raku), natančnejšo vrsto pa določimo z mikroskopskim pregledom rakastega tkiva.

Ločimo štiri široke kategorije raka:

1. **Karcinomi** so maligni tumorji, ki zrastejo iz epitelnih celic (celic vrhnjice), ki gradijo večino telesnih organov. V kategorijo karcinomov uvrščamo okrog 80 % vseh rakov.
2. **Sarkomi** so maligni tumorji, ki zrastejo iz celic opornih tkiv in se pojavljajo zlasti v vezivu, maščevju, kosteh in hrustancu.
3. **Levkemije** so rakaste bolezni krvi in krvotvornih organov. V nasprotju z večino drugih rakov se navadno ne pojavljajo v obliki bul ali zatrdlin.
4. **Limfomi** so rakaste bolezni limfatičnega sistema, ki ga v telesu tvori omrežje mezigovnic in bezgavk. Limfatični sistem deluje kot nekakšen filter, ki preprečuje, da bi telesu nevarne snovi (npr. mikroorganizmi) vdrle v krvni obtok(2).

1.2. KANCEROGENEZA

Kancerogeneza je kompleksen proces, med katerim mora priti do radikalnih sprememb na celični ravni DNK. Pri tem je pomembno, da spremembe nastanejo tako na genih, ki stimulirajo delitev celic, kot tudi na genih, ki so vpleteni v mehanizem kontrole podvojevanja DNK, aktivacijo popravljalnih mehanizmov ter sprožanje apoptoze. Vse nastale spremembe morajo biti ireverzibilne in se morajo kot take prenesti na naslednjo generacijo celic. Po iniciaciji kancerogenih sprememb še ne govorimo o rakasti celici, kajti za to je potrebna še faza promocije, ko se spremenjena celica deli in tako izraža vse pridobljene nove lastnosti. Natančnih mehanizmov in povezav o tem, kateri geni morajo biti spremenjeni za razvoj določene vrste raka, še ne poznamo. Zato so novejša raziskava usmerjene prav v odkrivanje pomembnih genskih povezav med nastankom raka kot tudi v to, katere so tiste celice, ki imajo možnost nadaljevanja in ponovitve klona v oddaljenih organih. Vsa ta dejstva so osnova za razumevanje biologije raka in učinkovito zdravljenje in preventive. Ob predpostavki, da tumor nastaja iz ene same spremenjene celice, je jasno, da je prvi pogoj za kopičenje in izražanje nastalih sprememb v celici njihovo dedovanje v naslednjih generacijah celic. Ob tem procesu govorimo o dvojni vlogi kancerogenih dejavnikov. Prva vrsta kancerogenih dejavnikov deluje kot mutageni impulz in neposredno spremenjen celični genetski zapis. S tem povzročijo mutacije, ki se prenašajo na naslednje generacije celic. Druga vrsta kancerogenih dejavnikov vpliva na vzorce izražanja cele vrste genov brez neposrednega vpliva na DNK-zaporedje. Ta način delovanja imenujemo epigenetsko delovanje. V grobem lahko kancerogenezo razdelimo v tri stopnje, ki vključujejo vrsto različnih podstopenj.

1. Stopnja: **inicijacija**

V celicah, ki se delijo, se med podvajanjem DNK nabirajo mutacije. Posledica teh mutacij je nekontrolirana ekspresija protoonkogenov in/ali inaktivacija tumorskih supresorskih genov. Spremeni se metilacijski status promotorskih regij protoonkogenov (zmanjša se stopnja metilacije) in/ali tumorskih supresorskih genov (poveča se stopnja metilacije).

2. Stopnja: **promocija**

Podvojujejo se celice z mutacijami, ki so vzrok za dodatno genetsko nestabilnost. S tem se nabirajo nove mutacije, katerih število raste proporcionalno s številom celičnih delitev. Proces sprožijo različni promotorski dejavniki. Za promotorje je značilno, da niso kancerogeni, sprožijo pa delite celic brez poprejšnje metabolne aktivacije ter skrajšajo čas, potreben za nastanek tumorske celice. Po tej fazi nastanejo celice z malignim fenotipom-maligna konverzija.

3. Stopnja: **progresija**

V tej fazi pride do izražanja pridobljenih lastnosti malignega fenotipa. Tumor je na začetku brez krvožilja- avaskularna faza rasti tumorja. Z indukcijo tvorbe tumorskega krvožilja se začne vaskularna faza rasti tumorja. Prisotnost krvožilja v tumorju omogoča boljše preskrbo tumorskega tkiva s hranilnimi snovmi in kisikom, učinkovitejše odstranjevanje metabolnih produktov ter zagotovi transportni sistem do drugih organov in tkiv. Po drugi strani pa tumorsko krvožilje privede številne imunsko zmožne celice v tumor ter s tem omogoči močnejši protitumorski imunski odgovor. Sledi klonalna selekcija celic z agresivnejšimi lastnostmi in metastaziranje. Prav zaradi povečane genetske nestabilnosti sledijo nadaljnje mutacijske in epigenetske spremembe.

1.3. VZROKI ZA NASTANEK KANCEROGENEZE

Karcinogen ali kancerogen je vsaki dejavnik, ki povzroča rakasto obolenje oziroma je rakotvoren. Ne glede na izvor je skupna lastnost vseh karcinogenov, da spremenijo DNK tako, da izzovejo mutacije (**mutageni dejavniki**) ali pa spremenijo izražanje genov brez poseganja v strukturo DNK (**epigenetski dejavniki**). Mutagene in epigenetske dejavnike v grobem ločimo še na **fizikalne, kemične in biološke** dejavnike. Karcinogeni ne povzročajo raka takoj, ampak je za to pomembno določeno obdobje. Velika večina rakov (okrog 80 %) se pojavlja po naključju, jasnega vzroka za njihov nastanek pa ne poznamo.

Fizikalni dejavniki delujejo na strukturo DNK z različnimi visokoenergetskimi delci. Pri tem lahko neposredno delujejo na DNK in tako izzovejo mutacijo ali pa slednjo povzročijo posredno preko prostih radikalov, ki so nastali po obsevanju. Med te dejavnike štejemo ionizirajoče sevanje. Z njim pridemo v stik v vsakdanjem življenju pri rentgenskih slikanjih in diagnostičnih preiskavah. Zato moramo biti pri takem delu ustrezno zaščiteni. Naslednji fizikalni dejavniki so radioaktivni elementi, ki povečajo radioaktivnost v atmosferi. Te snovi se spuščajo skupaj s padavinami na zemeljsko površino in jo radioaktivno onesnažijo. Z vodo in zrakom pridejo v rastline, živali in ljudi ter pri določeni stopnji radioaktivnosti lahko povzročijo rakavo bolezen. Nevarni pa so tudi ultravijolični žarki, ki povzročajo nastajanje malignih melanomov.

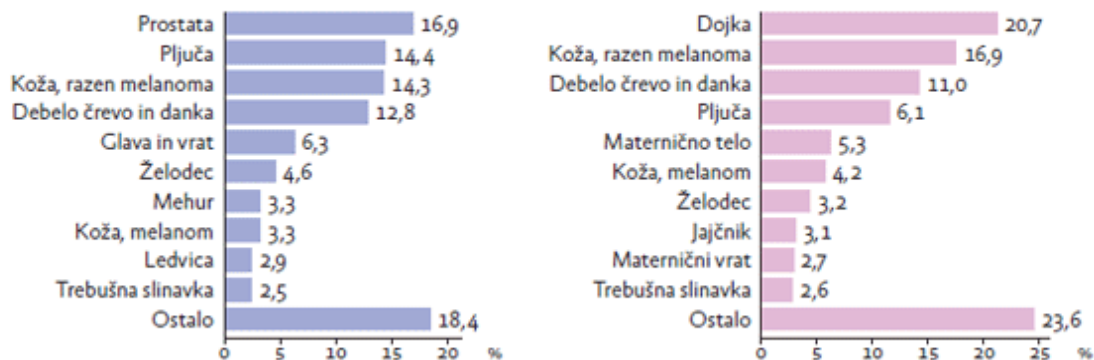
Kemični dejavniki lahko izzovejo mutacije na dva načina. Z vezavo na nukleotide lahko destabilizirajo vezi med komplementarnimi nukleotidi ali pa se vežejo oziroma vrinejo med nukleotide in tako povzročijo napake pri podvojevanju DNK. Kemični dejavniki se lahko nahajajo v ozračju kot plini ali pa delci. Med glavne povzročitelje onesnaženja zraka štejemo dim iz dimnikov hiš in tovarn ter pline iz avtomobilskih izpušnih cevi. V zraku je dokazanih mnogo kancerogenih snovi, mnogo pa je tudi takih, ki dražijo dihala in povzročajo razna vnetna obolenja dihal in sapnika. Karcinogene snovi najdemo tudi v hrani. Številne študije so dokazale, da prehrana vpliva na razvoj raka. Pomemben je način pridobivanja in pripravljanja hrane, konzerviranje, način prehranjevanja in vrsta prehrane. Naši vsakdanji hrani so dostikrat dodana barvila, ki so lahko karcinogena. Prav tako se v hrani pojavljajo pesticidi, s katerimi kmetovalci ščitijo pridelke pred škodljivci. Tudi kajenje povzroča raka. Cigarettni dim vsebuje preko 4.000 kemičnih spojin, vključujoč preko 50 znanih kancerogenih in metaboličnih strupov. Le-ti se nalagajo v pljučih, prehajajo v kri ter se po krvnem obtoku prenesejo v ostale dele telesa. Omenjene spojine torej ne okvarijo samo pljuč in dihalnega aparata, temveč tako rekoč vsako celico človeškega telesa. Od desetih bolnikov s pljučnim rakom jih je v povprečju devet kadilcev. Znižuje se starostna meja obolenja za pljučnim rakom, zboleva vedno več žensk. V začetku tegastoletja, ko kajenje še ni bila splošno razširjena razvada, je bil pljučni rak izjemno redek, tako rekoč neznana bolezen. Kajenje je tudi glavni dejavnik tveganja za raka ustne votline in grla. Kadilci pogosteje zbolevalo za rakom požiralnika, želodca in črevesja. Prav tako povzroča raka tudi prekomerno uživanje alkohola. Alkoholiki zbolijo za rakom predvsem na požiralniku, v žrelu in ustni votlini. Za nastanek raka so poleg alkohola krivci še barvila, ki so dodana pijači, nečistost alkohola, okvare sluznice pri

pivcih ipd. Med pomembnejše kemične dejavnike prištevamo tudi alfatoksine, heterociklične aromatske amine, benzopirene, N-nitrozamine, katrane in akrilamid.

Biološki dejavniki med katere štejemo predvsem razne viruse, ki lahko neposredno povzročijo mutacije ob svojem razmnoževanju ali pa s svojimi promotorji posredno vplivajo na izražanje določenih genov. Med pomembnejše viruse, za katere obstajajo dokazi o karcinogenem delovanju, spadajo virus hepatitisa B, Epstein Barrov virus, humani T limfocitotropni virus 1, ter virus humane imunske pomanjkljivosti (HIV)(3).

1.4. STATISTIKA

Slovenija sodi med države s srednje visoko stopnjo obolevnosti in umrljivosti za rakom. V obdobju 1996-2005 se je obolevnost za rakom (incidenca raka) v Sloveniji povečala med moškimi za 40 %, med ženskami pa za 35 %, umrljivost pa za 11 % pri moških in za 14 % pri ženskah. V Sloveniji je bil leta 2005 pri moških najpogostejši rak prostate (v letu 2005 15,7 % vseh rakov, ugotovljenih pri moških), pred tem pa je bil na prvem mestu pljučni rak (pri moških najpogostejši rak od leta 1967). Incidenca pljučnega raka se je pri nas povečevala do začetka devetdesetih let dvajsetega stoletja. Pri ženskah v Sloveniji pa je – podobno kot v večini razvitih držav – še vedno (2005) najpogostejši rak dojk. Obolevnost za to vrsto raka se po podatkih Registra raka za Slovenijo povečuje od leta 1950. Po podatkih o obolevnosti za to boleznijo, to je okrog 91 obolelih (oz. toliko primerov ugotovljene bolezni) na 100.000 žensk letno (okrog 1.600 novih bolnic letno), se Slovenija uvršča v sredino svetovne lestvice. Za rakom dojk pogosteje zbole vajo ženske v osrednji in zahodni kot ženske v vzhodni Sloveniji. Zelo redko zbolijo za rakom dojk ženske pred 30. letom starosti, tri četrtine obolelih žensk pa zbolijo po 50. letu starosti. Pri obeh spolih se incidenca veča pri raku debelega črevesa in danke, malignem melanomu ter drugih kožnih rakih, trebušni slinavki in ne-Hodgkinovih limfomih. Pri moških se veča še incidenca raka mod, pri ženskah pa pljučnega raka ter raka materničnega vratu.



Slika 1: Najpogostejša mesta raka po spolu. Levo prikazuje moški spol, desno ženski spol.

1.4.1. POGOSTOST RAZLIČNIH VRST IN OBLIK RAKA JE V RAZLIČNIH ŽIVLJENJSKIH OBDOBJIH RAZLIČNA

Pojavljanje posameznih vrst rakov je odvisno od starosti ljudi in njihovega spola. Podatki Registra raka za Slovenijo kažejo, da je 87 % vseh bolnikov z rakom starejših od 50 let. V Sloveniji je bilo med 10.720 osebami, obolelimi v letu 2005 za rakom, starih manj kot 19 let, manj kot 1 %; 3 % teh oseb je bilo stari 20–34 let, 10 % je bilo starih 35–49 let, 44 % 50–69 let, 43 % pa je bilo starih 70 let ali več. Pri otrocih z rakom so leta 2005 v Sloveniji prevladovale levkemije in možganski tumorji, pri mladostnikih in mladih odraslih pa rak mod oz. rak materničnega vratu (po 25. letu). V starosti med 35. in 49. letom sta bila pri moških najpogostejša rak glave in vratu ter pljučni rak, pri ženskah pa rak dojk in materničnega vratu. Rak debelega črevesa in danke je bil med najpogostejšimi pri osebah, starih 50–74 let; pri starejših od 75 let pa je bil pri moških najpogostejši rak prostate, pri ženskah pa je bil še vedno najpogostejši rak dojk, za tem pa rak debelega črevesa in danke ter želodčni rak.

1.4.2. S STARANJEM PREBIVALSTVA JE POJAVLJANJE RAKA POGOSTEJŠE

Vzrok za več kot polovico povečanja obolevnosti za rakom je staranje prebivalstva. Po podatkih Registra raka za Slovenijo je mogoče predvideti, da bosta od oseb, rojenih leta 2004, do 75. leta starosti zbolela za rakom več kot eden od treh moških in skoraj ena od

treh žensk. Poleg tega je povečanje števila rakavih bolnikov tudi posledica vedno daljše dobe preživetja obolelih za rakom in vedno boljših diagnostičnih metod za odkrivanje več rakavih bolezni, pa tudi vedno večje izpostavljenosti prebivalstva tveganim dejavnikom. Zaradi pričakovanih demografskih sprememb v EU se bo po predvidevanjih strokovnjakov število obolelih za rakom med starejšim prebivalstvom še povečevalo.

1.4.3. PREŽIVETJE BOLNIKOV Z RAKOM JE VEČJE

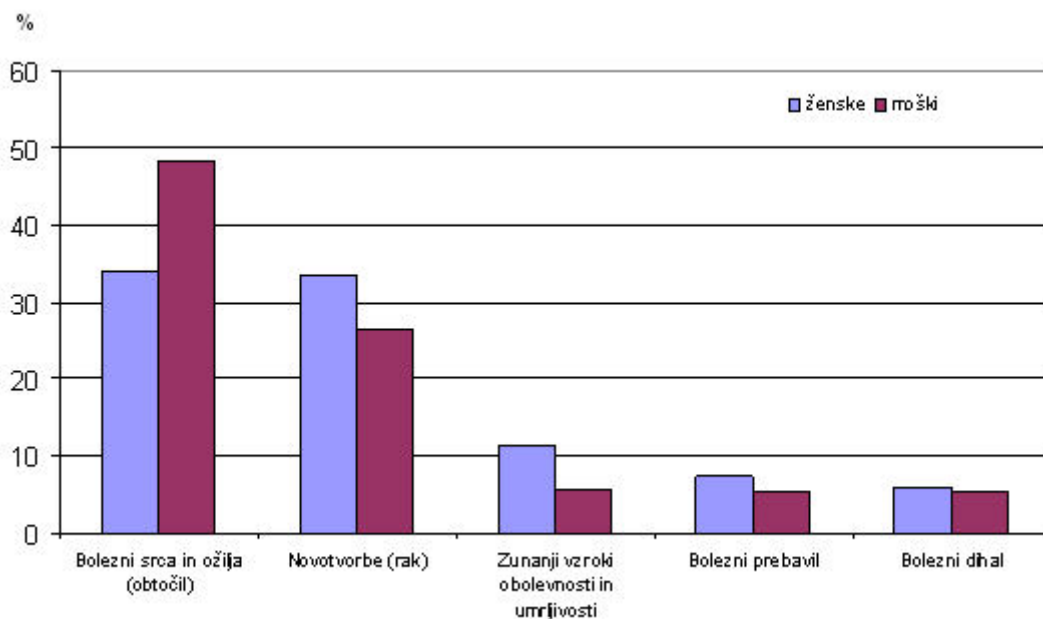
V obdobju 1963–67 je po postavljeni diagnozi (tj. po odkritju te bolezni) preživel pet let (tj. živel vsaj še toliko časa) 25 % moških in 42 % žensk, ki so zboleli za rakom. Dvajset let pozneje, v obdobju 1983–87, je bilo preživetje pri obeh spolih za približno 5 odstotkov večje, v obdobju 1995–99 pa je bilo relativno petletno preživetje pri moških že 42-odstotno, pri ženskah pa se je povečalo na 60 %. V obdobju 2001–2005 se je relativno petletno preživetje pri moških z rakom povzpelo na 51 %, pri ženskah pa na 65 %. Zmanjševanje tveganja smrti za rakom ob večanju incidence kaže, da je zdravljenje uspešnejše in da vse več bolnikov ozdravi ali živi s to boleznijo, torej zaradi nje ne umrejo. Ob koncu leta 2005 je v Sloveniji živel več kot 61.000 oseb, ki so se zdravile zaradi raka. Pregled preživetja bolnikov po državah EU glede na vrsto raka pokaže, da je preživetje bolnikov, obolelih za rakom debelega črevesa in danke, pri nas manjše, umrljivost pa večja kot v zahodnoevropskih državah. To je predvsem posledica dejstva, da je manj kot četrtnina bolezni odkrita v stadiju, ko so možnosti za ozdravitev večje. Pri bolnicah z rakom dojke je le nekaj več kot polovica bolezni odkrita v zgodnjem stadiju.

Razlika med spoloma je v veliki meri posledica dejstva, da ženske v Sloveniji v večjem številu zboleajo za prognostično »ugodnejšimi« vrstami raka.

1.4.4. MED VZROKI SMRTI V SLOVENIJI JE RAK NA DRUGEM MESTU

Po podatkih Inštituta za varovanje zdravja je rak v Sloveniji pomemben vzrok prezgodnje umrljivosti in je po številu umrlih za to boleznijo na drugem mestu, takoj za boleznimi srca in ožilja. O tako imenovani prezgodnji umrljivosti govorimo pri ljudeh, ki umrejo pred dopolnjenim 65. letom starosti. V letu 2007 je zaradi rakavih obolenj v Sloveniji umrlo 5.624 ljudi (3.194 moških in 2.430 žensk). Med vsemi umrlimi, ki so umrli pred

dopolnjenim 65 letom starosti v tem letu (4.377 oseb), pa je bilo 1.661 oseb, ki so umrle zaradi raka, kar je skoraj 38 % vseh t. i. prezgodnjih smrti.



Preglednica 1: Najpogostejši vzroki umrljivosti.

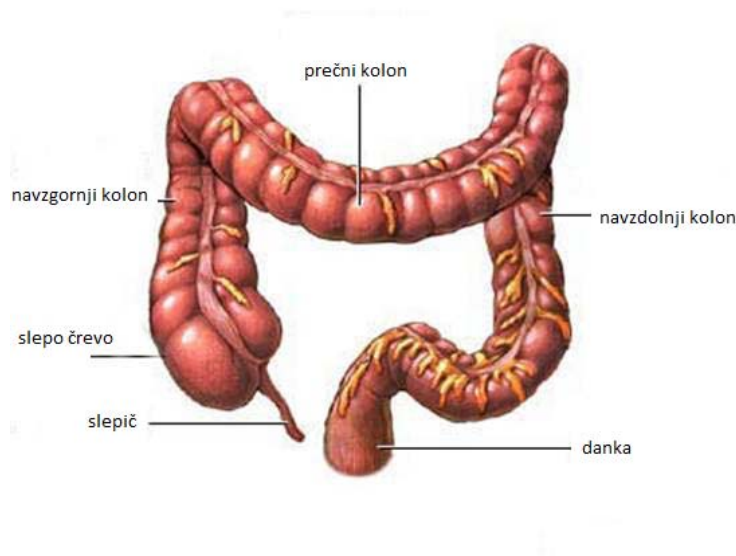
Slovenijo lahko po podatkih o stopnjah umrljivosti ločimo na zahodni del ali del z nižjimi in na vzhodni ali del z višjimi stopnjami umrljivosti. Za prebivalce, mlajše od 65 let, je bil v obdobju 2001–2005 med vzroki smrti najpogostejši rak. Med prebivalci, starejšimi od 65 let, pa so bile najpogostejši vzrok smrti bolezni srca in ožilja, za temi pa rak(4).

1.5. SPLOŠNO O DEBELEM ČREVESU IN JETRIH

1.5.1. DEBELO ČREVO

Debelo črevo obsega slepo črevo, kolon in danko. Dolgo je približno 1.5 m in 6.5 cm široko. Po svoji zunanji in notranji obliki se razlikuje od tankega črevesa. Sluznica debelega črevesa ni nagubana, nima resic, niti toliko limfnih foliklov. Začetni del debelega črevesa je slepo črevo, ki je v obliki slepe vreče in 8-10 cm dolgo. Leži v spodnji desni četrtini trebušne votline. Od tankega črevesa ga loči ileocekalna zaklopka, ki preprečuje vračanje črevesne vsebine iz debelega črevesa v tanko črevo. Iz slepega črevesa izhaja izrastek-slepič. Njegova dolžina je različna: v povprečju je 7-10 cm. Kolon je predel debelega črevesa med slepim črevesom in danko. Razdelimo ga na navzgornji kolon,

prečni kolon in esasti kolon. Navzgornji kolon poteka na desni navzgor od ileocekalne zaklopke do jeter. Spredej ga pokriva peritonej, zadaj pa je priraščen na trebušno steno. Pod žolčnikom se v pravem kotu obrne v levo in preide v prečni kolon, ki je v celoti obdan s peritonejem in poteka pod želodcem v levo do vranice, kjer zavije navzdol kot navzdoljni kolon. Pritrjen je na zadajšnjo trebušno steno. Navzdoljni kolon se nadaljuje v esasto debelo črevo, ki je v obliki črke S. Poteka od črevničnega grebena do drugega križničnega vretenca. Dolg je od 15 do 60 cm. Po vstopu v malo medenico se nadaljuje v danko. Danka je dolga približno 15 cm. Poteka pred križnico. Sega od končnega dela esastega kolona do zadnjika. V poteku se prilagodi krivini križnice s trtico. Danka ima obliko cilindra, ki se v spodnjem delu razširi v ampulo, nato pa zopet zoži v analni kanal in nato konča z zadnjikom. Pred danko sta pri moškem sečni mehur in prostata, pri ženski pa maternica in nožnica. Zadnje 3 cm debelega črevesa predstavlja zoženi del, analni kanal, ki poteka skozi mišico medeničnega dna in konča v zadnjiku. Ob zadnjiku prehaja sluznica v kožo. V sluznici so venski prepleti, iz katerih odteka kri deloma v področje portalne vene, deloma pa v področje spodnje votle vene. Črevesna kaša se po debelem črevesu pretaka 12-36 ur. V glavnem je brez hranilnih snovi, vsebuje pa soli, nekatere vitamine in vodo. Naloge debelega črevesa so bakterijska aktivnost, oblikovanje blata ter njegovo izločanje(8).



Slika 2: Debelo črevo

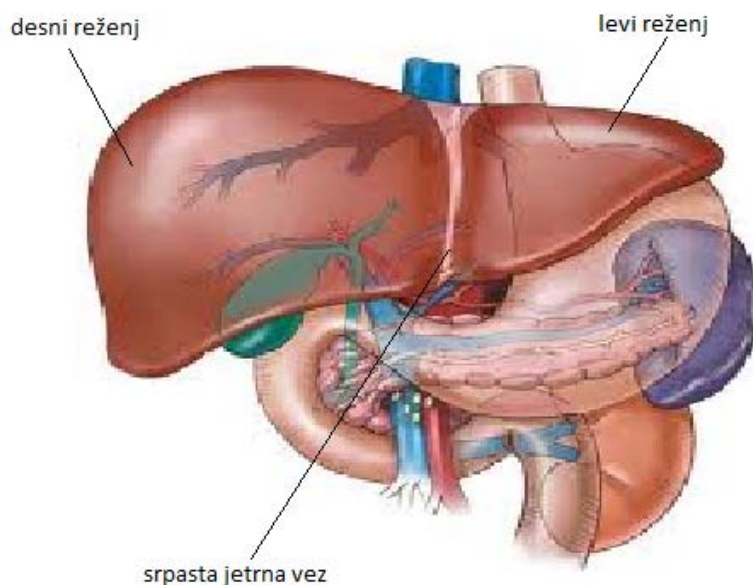
1.5.2. RAK DEBELEGA ČREVESA

Rak debelega črevesa je bolezen, ki jo opredeljujeta visoka obolevnost in umrljivost. Sluznica črevesa je prekrita z žleznim epitelom, zato je najpogostejši rak v tem področju adenokarcinom (v 90-95%). Ob postavitvi diagnoze ima več kot 60% bolnikov področno ali lokalno napredovalo bolezen, 15% bolnikov pa tudi že oddaljene zasevke. Rak debelega črevesa in danke zaseva limfogeno in hematogeno, najpogosteje v jetra, pljuča in kosti. Incidenca te bolezni se v svetu in pri nas stalno povečuje. Po zadnjih podatkih registra raka za Slovenijo je v letu 2005 za rakom debelega črevesa in danke zbolelo 1217 in umrlo 644 bolnikov. Po pogostosti pojavljanja je najpogostejši rak, upošteva oba spola, in drugi najpogostejši vzrok smrti zaradi raka. Večinoma se pojavlja po 60 letu starosti. Rak debelega črevesa je posledica kombinacije medsebojnega delovanja dednih dejavnikov in vplivov okolja. Tveganje povečujejo še alkohol, kajenje, pretežno mesna hrana, in kronične črevesne bolezni. Tumorji debelega črevesa povzročajo krče, bolečine v trebuhu,, kri v blatu ali črno blato, slabost in bruhanje. Lahko pride do popolne zapore črevesa-ileusa. Diagnostične preiskave so: digitorektalni pregled, kolonoskopija z biopsijo. RTG pljuč, CT trebuha, biokemične preiskave in tumorski marker CEA (3).

1.5.3. JETRA

Jetra so največja žleza v človeškem telesu. Tehtajo od 1.5 do 2 kg, pri dojenčku so razmeroma večja. Ležijo desno zgoraj v trebušni votlini in imajo obliko tristrane piramide z zaobljenimi robovi in koti razen sprednjega roba, ki je oster. So temnordeče barve. Zgornja ploskev jeter je konveksna in se prilega trebušni preponi, spodnja ploskev je konkavna in se dotika drugih organov. Na spodnji strani skozi jetrno lino vstopajo in izstopajo žile, živci, mezgovnice in žolčna izvodila. Sprednji rob jeter pri odraslem ne sega izpod rebrnega loka. Levi del jeter sega še preko sredine v levo proti žlički in deloma pokriva želodec. Srpasta jetrna vez deli jetra na večji desni jetrni reženj in manjši jetrni reženj. Srpasta jetrna vez pritrja jetra na sprednjo trebušno steno. Jetrne celice izločajo žolč, ki odteka iz jeter po žolčnih kapilarah, nato pa po večjih kanalčkih, ki se združijo v jetrni vod. Iz desnega jetrnega režnja izhaja desni jetrni vod, iz levega režnja pa levi jetrni vod. Po izstopu iz jetrne line se združita v skupni jetrni vod. Po izstopu iz jeter se skupnemu jetrnemu vodu pridruži žolčnikovo izvodilo, ki vodi iz žolčnika, z njuno združitvijo nastane žolčevod. Jetra prejemajo kri iz dveh virov in sicer 70% iz dverne vene

in 30% iz jetrne arterije. Dverna vena dovaja v jetra vensko kri iz želodca, tankega črevesa, vranice, dela debelega črevesa in trebušne slinavke. Jetrna arterija je veja celiakalnega debla, ki se odcepi od aorte tik pod trebušno prepono in dovaja jetrom s kisikom bogato kri. V jetrih se venska in arterijska kri mešata. Venska kri odteka iz jeter po jetrnih venah, ki se vlivajo v spodnjo votlo veno. Jetrne celice v telesu razstrupljajo strupene in odpadne snovi ter tvorijo snovi, ki so vitalnega pomena za organizem (holesterol, plazemske beljakovine). Jetra so življenjsko pomembna za vzdrževanje normalne koncentracije glukoze. Glukoza se po zaužitju hrane pretvori v glikogen, ki se shrani v jetrih. Jetra skladiščijo tudi v maščobah topne vitamine (A,D,E,K) (8).



Slika 3: Jetra

1.5.4. RAK JETER

Rak jeter je peti najpogostejši rak pri moških in osmi pri ženskah. Delež petletnega relativnega preživetja je približno 9 odstotkov. Primarne jetrne maligne tumorje delimo na tiste, ki zrastejo iz jetrnega parenhima, in tiste, ki zrastejo iz žolčnega sistema, žolčnika in žolčnih izvodil. Jetrni rak nastane v 60-90% v kronično bolnih jetrih, spremenjenih zaradi virusne okužbe, alkohola, nekaterih metaboličnih motenj ali delovanja toksičnih snovi. Klinični znaki in simptomi so neznačilni, predvsem so to slabost, utrujenost, slab apetit,

hujšanje, bolečine v zgornjem delu trebuha, zlatenica. Diagnostika poteka s CT z aplikacijo lipiodola v jetrno arterijo, potem še z MRI s kontrastom in z UZ s kontrastom. Temeljno zdravljenje je kirurško. Bolnike zdravimo z operacijo, kadar je tumor ocenjen po preiskavah kot radikalno odstranljiv in če ni splošnih kontraindikacij. Pri bolnikih z omejenim tumorjem se odločimo tudi za transplantacijo jeter. Razširjeno bolezen zdravimo s sorafenibom, ki podaljša preživetje in izboljša kakovost življenja (3).

2. DIAGNOSTIKA RAKA

2.1. VRSTE NAJPOMEMBNEJŠIH DIAGNOSTIČNIH PREISKAV

Za diagnostiko raka se uporabljajo različna slikanja in laboratorijske preiskave.

2.1.1. RENTGENSKO SLIKANJE

Najbolj znana metoda gledanja v notranjost človeškega telesa je gotovo rentgensko slikanje. Najpreprostejši način rentgenskega slikanja je dobro poznan vsakemu, ki si je že kdaj zvil kakšen sklep ali zlomil kakšno kost. Pod del telesa, ki ga želi zdravnik pregledati, položijo film, nato pa z rentgensko svetlobo presvetlijo pacienta. Rentgenogrami različnih delov človeškega telesa nastanejo zaradi različne oslavitve rentgenskih žarkov v telesu, zato iz telesa izstopajo rentgenski žarki različne intenzitete, ki na zaslonu povzročajo nastanek slike. Čim debelejši je del, ki leži med rentgensko cevjo in zaslonom, čim večje atomsko število elementov ima v sestavi in čim večja je specifična teža telesa, tem bolj se rentgenski žarki oslabijo in s tem temnejša bo njegova senca na zaslonu. Opazujemo pa rentgenski negativ, na katerem so področja z večjo oslavitvijo bela in področja z manjšo črna. Kostni zaradi visokih atomskih števil zelo oslabijo rentgenske žarke, medtem ko mehki deli z nizkim atomskimi števili malo oslabijo rentgenske žarke. S to metodo lahko tudi diagnosticiramo različna rakava obolenja.

2.1.2. ULTRAZVOK

Ultrazvok je osnovna slikovna preiskava pri iskanju onkoloških bolezni v različnih organih. Je varna preiskava, saj ne uporablja škodljivega delovanja rentgenskih žarkov, je preprosta, ponovljiva in poceni. Ultrazvočno valovanje je mehansko valovanje, ki ga oddajajo in sprejemajo piezoelektrični materiali, ki so elementi sonde ultrazvočnega aparata. Uporabljamo linearne visokomegaherčne sonde, ki imajo zelo dobro prostorsko in kontrastno ločljivost. Z njim lahko pregledamo le površinske organe. S konveksnimi, nizkomegaherčnimi sondami pa pregledujemo globoko ležeče organe. Če gredo ultrazvočni valovi skozi tekočino, v kateri ni delcev, je taka snov anehogena. V sestavi spremembe pa je mnogo delcev, mnogo mejnih ploskev, sprememba je ehogena. Za razpoznavo bolezenskih sprememb moramo poznati medsebojni odnos ehogenosti

parenhimskih organov. Bolezenske spremembe opišemo kot razliko v ehogenosti med njo in parenhimskim organom. Sprememba je lahko hipo- ali hiperehogena. Z ultrazvokom bolezenske spremembe odkrijemo. Opišemo lego, velikost, obliko in ehogenost in po možnosti spremembo opredelimo. Na tak način lahko diagnosticiramo rakaste novotvorbe.

2.1.3. RAČUNALNIŠKA TOMOGRAFIJA (CT)

Ena od naprav, s katero zdravniki gledajo v naš organizem za diagnosticiranje raka, je naprava za računalniško tomografijo. Omogoča prikaz organov in bolezenskih sprememb v njih, če se ti razlikujejo po gostoti. Diagnostika poteka z meritvijo absorpcije rentgenskih žarkov, računalnik pa na osnovi dobljenih podatkov ustvari sliko opazovanega dela telesa po plasteh. Absorpcijske vrednosti prostorskih enot imenujemo oslabitev (atenuacija). Različno stopnjo atenuacije izražamo v Haunsfieldovih enotah, lestvica je od -1000 (plin) do + 1000 (kost). Ničelna vrednost je voda. Preiskovani del telesa slikajo z več strani in ne samo z ene kot pri navadnem rentgenu. Posnetki so preglednejši od klasičnih rentgenskih slik, saj je zaradi boljšega kontrasta možno razlikovati med različnimi tkivi, kot so kosti, mišice in maščoba. Pri preiskavah običajno vbrizgajo v žilo na roki kontrastno sredstvo, pri preiskavah trebušnih organov pa bolnik kontrastno sredstvo zaužije. Tovrstno preiskavo je mogoče opraviti na vseh delih telesa oziroma organih, primerna pa je tudi za težko bolne ali poškodovane paciente. Prikaz v rezinah omogoči tudi natančno lokalizacijo bolezenskih procesov. Obsevalne doze s škodljivimi rentgenskimi žarki niso zanemarljive, vendar jih s pravilno indikacijo in ustreznimi algoritmi preiskav zmanjšajo na sprejemljivo raven. Z računalniško tomografijo lahko posebej prikažejo različne organe kot so pljuča, trebuh, želodec, črevesje, jetra, vranico, žolčne vode, žolčnik in slinavko.

2.1.4. MAGNETNA RESONANCA

Magnetna resonanca je metoda slikanja človeškega telesa, ki ne uporablja rentgenskega sevanja. Deluje na osnovi radiofrekvenčnih valov in magnetnega polja. Fizikalno gre za pojav, ki je povezan z lastnostmi atomskih jeder, ki vsebujejo liho število protonov in nevtronov. Magnetne lastnosti nastanejo, ker se jedro vrtili okoli svoje osi - ima spin. Različna tkiva imajo različno količino vode in zato različne lastnosti v magnetnem polju. Je povsem neboleča in primerna predvsem za slikanje možganov, hrbtenice, velikih

sklepov, ožilja in trebušnih organov. Preiskava z magnetno resonanco je relativno nova slikovna radiološka diagnostična metoda. Zanj se zdravniki odločijo takrat, ko z drugimi radiološkimi metodami ne morejo postaviti končne diagnoze. Naprava deluje na podlagi močnega magnetnega polja, ki je ponavadi okoli 1,5 tesla. S pomočjo radiofrekvenčnih valov vzbujamo vodikove atome v človeškem telesu, ki so v večjih koncentracijah prisotni v vodi, maščobi in biomolekulah, in merimo signal iz teh atomov. Računalnik nato s posebnimi algoritmi rekonstruira sliko prerezov notranjosti telesa. Prednost te metode je, da signal prihaja iz notranjosti telesa iz posameznih tkiv, omogoča pa tudi slikanje telesa v poljubni smeri. Glede na napotno diagnozo, podatke iz medicinske dokumentacije in slik, ki jih vidimo med preiskavo, je v določenih primerih potrebno tudi slikanje s pomočjo paramagnetnega kontrastnega sredstva. Kontrastno sredstvo vbrizgamo v veno in med ponovnim slikanjem opazujemo vpliv kontrastnega sredstva na prikaz pacientovih tkiv. Preiskava je povsem neboleča brez dokazanih neželenih učinkov.

2.1.5. POZITRONSKA EMISIJSKA TOMOGRAFIJA (PET)

Je sodobnejša nuklearnomedicinska preiskava, pri kateri bolnikom vbrizgamo radiofarmak, ki ima pozitronski sevalec. Ta nato vstopa v procese kot običajna substanca telesa, njegovo razporeditev pa zaznamo s pomočjo posebnih naprav- PET/CT skenerja. Princip detekcije pozitronov sloni na tem, da pri njihovi anihilaciji pride do emisije dveh fotonov z energijo po 510 keV, ki sta izsevana pod kotom 180 stopinj, kar zazna naprava z nasprotno usmerjenima detektorjema. Sodobni PET-skenerji vključujejo po sto in več majhnih kristalov, ki so razporejeni po vzporedno povezanih obročih okrog bolnika in povezani z več nasproti ležečimi detektorji. PET za razliko od drugih metod slikovne diagnostike prikaže presnovne spremembe, ki se pogosto pojavijo pred strukturnimi. Prednosti PET so natančnejša preoperativna ocena razširjenosti bolezni ter posledična selekcija operacij, zgodnejše in natančnejše ugotavljanje ponovitve bolezni, zgodnejše ugotavljanje učinkovitosti zdravljenja, natančnejše določanje obsevalnih polj in s tem boljša radioterapija z manj stranskimi učinki.

2.1.6. BIOPSIJA

Je odvzem tkivnega vzorca, ki ga pod mikroskopom pregleda specialist patolog in ugotovi, ali so v njem rakaste celice. Z mikroskopskim pregledom diagnozo raka dokončno potrdimo, hkrati pa tudi natančno opredelimo, za katero vrsto raka gre. Tkivne vzorce je mogoče odvzeti s kirurškim posegom (kirurška biopsija), med endoskopsko preiskavo (endoskopska biopsija) ali s posebno iglo, ki jo pogosto pod rentgensko ali ultrazvočno kontrolo uvedemo v sumljivo področje (igelna biopsija). Posebna oblika biopsije je aspiracijska biopsija s tanko iglo ali citološka punkcija, pri kateri z iglo, ki ni debelejša od navadne injekcijske igle, iz sumljive spremembe posrkamo celice, ki jih nato pregledamo.

2.1.7. ENDOSKOPIJA

Je preiskava z endoskopom, posebno upogibljivo cevjo, na vrhu katere je drobna kamera in ki jo zdravnik uvede v telesne votline ali organe, kjer si lahko ogleda sumljiva področja. Obstaja več vrst endoskopov, ki so prirejeni različnim organom. Tako se za pregled debelega črevesa uporablja kolonoskop, za pregled pljuč bronhoskop, za pregled trebušne votline pa laparoskop.

2.1.8. LABORATORIJSKI PREGLEDI VZORCEV

Med pomembnejše preiskovalne metode spada imunohistokemijska preiskava, s katero s pomočjo protiteles, na katera je vezano barvilo (kromogen), ugotavljamo prisotnost različnih antigenov v tumorskih celicah. Te preiskave so v sodobni onkološki patologiji nepogrešljive. Določitev imunofenotipa nam omogoča zanesljivejšo, objektivnejšo in natančnejšo tipizacijo tumorjev. Določanje imunofenotipa nam omogoča pretočna citometrija. Z njo lahko določimo tudi kvantitativno analizo DNK in sicer tako, da določimo relativno količino DNK v tumorskih celicah ter delež celic v posameznih fazah celičnega ciklusa. DNK-plodija, zlasti pa delež celic v fazi S, sta pri nekaterih vrstah raka pomembna napovedna dejavnika. Za nekatere tipe tumorjev so značilne določene klonalne kromosomske aberacije, ki jih lahko odkrijemo z citogenetskimi preiskavami. Njihovo uporabnost omejuje dejstvo, da zanje potrebujemo sveže tkivo, zato jih vse bolj nadomeščajo metode molekularne citogenetike, predvsem metoda fluorescenčne in situ

hibridizacije (FISH), saj lahko to preiskavo uporabljamo tudi na tkivu, vklopljenem na parafin.

Hematološke preiskave: osnovne hematološke preiskave so najpogostejše preiskave v laboratorijski medicini. Sodobna tehnologija nam omogoča zanesljivo in ponovljivo testiranje, večina napak pa je posledica nepravilnega vzorčenja. Pomembna je tudi interpretacija hematoloških rezultatov na podlagi biološke variabilnosti, značilnih razlik rezultatov pri spremljanju preiskovanca in specifičnih referenčnih vrednosti. Hematološka preiskava zavzema eritrocitno, levkocitno, trombocitno krvno sliko, sedimentacijo eritrocitov, povprečno koncentracijo hemoglobina v eritrocitu (MCHC), povprečno količino hemoglobina v eritrocitu (MCH) in povprečni volumen eritrocita (MCV).

Krvna slika			
Leukociti	4.0 - 10.0	Limfociti	20 - 50 %
Eritrociti	4.2 - 6.3	Monociti	< 10 %
Trombociti	140 – 340	Granulociti	
Hemoglobin	120 – 180	Neutrofilci	40 - 75 %
Hematokrit	0.37 - 0.54	Eozinofilci	< 5 %
MCV	81 – 94	Bazofilci	< 1%
MCH	26 – 32	Sedimentacija	< 15
MCHC	310 – 350	CRP	< 8

Preglednica 2: Referenčne vrednosti krvi.

Biokemične preiskave: zajemajo preiskave različnih bioloških vzorcev, ki so zelo uporabne v onkološki diagnostiki. Ko določimo zvišane ali znižane vrednosti kakega parametra, lahko te normalne vrednosti povežemo z različnimi obolenji, tudi rakom. Biokemijske preiskave uporabljamo za oceno tveganja, da se bo razvil rak, kot presejalne teste, kot pomoč pri postavitvi diagnoze, za izključitev drugih bolezni, za spremljanje poteka bolezni in učinkovitosti zdravljenja ter zapletov. Navadno preiskujemo glukozo, kreatinin, sečnino, sečno kislino, fosfor, kalcij, magnezij, kalij, natrij, klor, alkalno fosfatazo, AST, ALT, γ -GT, LDH, CK, amilazo, lipazo, direktni in celokupni bilirubin, Fe,

transferin, feritin, proteine, albumine, CRP, troponin T, digoksin, D-dimer, mioglobin, CK MB, prokalcitonin (PCT), β -2-mikroglobulin.

Po potrebi s posebno preiskavo pregledamo tudi blato zaradi sledov krvi v njem. S to preiskavo lahko ugotovljamo krvavitve v prebavnem sistemu tudi v primeru, ko s prostim očesom krvi v blatu ne vidimo. Če je preiskava pozitivna, se pravi, če je v blatu kri, ugotovimo z nadaljnimi preiskavami, odkod kri v črevesju in zakaj. Taka krvavenja so pogosta prav pri rakavih obolenjih. Poleg običajnega pregleda krvi (krvna slika, biokemične preiskave) v venski krvi določamo tako imenovane tumorske označevalce, posebne snovi, ki jih izločajo nekateri tumorji. Ena od takšnih snovi je karcinoembrionalni antigen (CEA). Povečane serumske koncentracije CEA (nad 3 ng/ml) zasledimo pri bolnikih z različnimi rakovimi obolenji.

2.2. KLINIČNI POMEN TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

2.2.1. TUMORSKI OZNAČEVALCI

Tumorski označevalci so snovi, ki so produkt malignih celic ali snovi, nastale v drugih celicah pod vplivom delovanja malignih celic. Določamo jih v telesnih tekočinah, najpogosteje v serumu ali plazmi. Tumorski označevalci so lahko novo sintetizirane snovi, kakršnih v zdravem organizmu ne najdemo, ali snovi, ki so običajno prisotne v veliko manjših koncentracijah. Določanje tumorskih označevalcev nam lahko pomaga pri diagnozi bolezni, napovedovanju njenega poteka, pri določanju stadija poteka, izbiri načina zdravljenja ter pri zgodnjem odkrivanju ponovitve in razširitve bolezni. Doslej znani označevalci so zaradi nizke specifičnosti za tkivo, organ in vrsto rakave bolezni ter slabih napovednih lastnosti manj primerni za odkrivanje primarnih rakavih bolezni, zato jih le redko uporabljamo kot presejalno metodo. Poleg tega vseh označevalcev ne uporabljamo z istim namenom, saj so nekateri primernejši za spremljanje dinamik bolezni, drugi za zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni. Tumorski označevalci so lahko tudi napovedni dejavniki.

2.2.2. DOLOČANJE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Koncentracija in/ali sprememba koncentracije tumorskih označevalcev v krvi in ostalih telesnih tekočinah je odvisna od številnih dejavnikov:

- števila celic, ki proizvajajo tumorske označevalce, in s tem od velikosti tumorja, njegove razširjenosti in stadija,
- hitrosti sinteze,
- hitrosti sproščanja iz tumorskih celic ali celičnih površin,
- stopnje izražanja tumorskih označevalcev – če posamezen tumor ne izraža označevalca, tudi ne more priti do njegovega povišanja,
- tip tumorja – tumorske celice sicer lahko izražajo označevalec, vendar ni nujno, da se ta sprošča v telesne tekočine,
- prekrvavljenost tumorja – pri slabi oskrbi tumorja s krvjo preide v krvni obtok manjši delež označevalca,
- stopnje nekroze tumorskega tkiva – obsežna liza celic povzroči povišanje ravni tumorskega označevalca
- razpolovnega časa tumorskega označevalca,
- vpliv protiteles – lahko nastanejo imunski kompleksi in hitrost izločanja označevalcev je nato odvisna od velikosti kompleksov.

Tumorski označevalci imajo v telesnih tekočinah navadno zelo majhne koncentracije, zato za njihovo dokazovanje potrebujemo visoko občutljive metode. Najbolj razširjene metode so radioimunološka, encimimunološka in luminometrična. Vse našteje metode so prilagojene določanju izredno majhnih koncentracij antigena. Specifičnost metod je odvisna predvsem od kakovosti protiteles. Vrednosti tumorskih označevalcev so odvisne od metode, s katero jih določamo. Uporaba preizkusov različnih proizvajalcev, pa čeprav gre za enako metodo in vključuje enaka protitelesa, daje pri istem vzorcu različne rezultate. Zato mora biti pri vsakem rezultatu posebej navedena tudi uporabljena metoda. Za lažjo interpretacijo rezultatov je treba napraviti več določitev tumorskih označevalcev v različnih stadijih bolezni ter spremljati gibanje njihovih koncentracij. Pri tem je treba upoštevati biološko razpolovno dobo, ki je pri različnih tumorskih označevalcih različna in se giblje od nekaj ur do nekaj tednov.

2.2.3. LASTNOSTI IDEALNIH TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Idealen tumorski označevalec 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,

njegove serumske koncentracije pa naj bi odražale dinamiko rasti tumorske mase oziroma velikost tumorske mase. Poleg tega naj bi bile serumske koncentracije uporabne kot napovedni dejavnik poteka bolezni pri bolnikih z neko vrsto tumorja. Danes še ne poznamo antigenske strukture, ki bi obstajala samo v malignih celicah, kar pomeni, da lahko protitelesa proti posameznim tumorskim označevalcem navzkrižno reagirajo tudi z drugimi antigenskimi strukturami. Zato ne moremo govoriti o povsem specifičnem označevalcu ali metodi za spremljanje prisotnosti rakavih celic. Pri vrednotenju rezultatov moramo imeti v mislih, da rak ni edini vzrok za povečano vrednost tumorskih označevalcev. V večjih koncentracijah se lahko tvorijo tudi pri nekaterih nerakavih procesih (različna vnetja, benigni tumorji, bolezni jeter in trebušne slinavke) ter različnih fizioloških stanjih (nosečnost, menstruacija, laktacija). Vlogo in vrednost posameznega tumorskega označevalca ter metode za določeno vrsto rakave bolezni natančno opredelimo s pojmom občutljivost in specifičnost. Občutljivost označevalca pove, pri kolikšnem deležu bolnikov z nekim tumorjem je raven označevalca povišana. Čim večji je delež bolnikov z istovrstnim tumorjem, pri katerih je raven povišana, tem bolj občutljiv je označevalec. Pri takem označevalcu pričakujemo tudi zelo majhno število lažno negativnih določitev. Specifičnost predstavlja delež preiskovancev, ki nimajo nekega rakavega obolenja in imajo normalno koncentracijo tumorskega označevalca. To pomeni, da je označevalec tem bolj specifičen, čim manjkat je prisoten pri ljudeh brez neke vrste tumorja oziroma čim manj je lažno pozitivnih določitev. Idealen tumorski označevalec naj bi imel 100 odstotno občutljivost in specifičnost za neko rakavo obolenje, njegova referenčna vrednost pa naj bi bila 0. Referenčna vrednost je arbitrarno določena koncentracija označevalca, nad katero govorimo o povišanih vrednostih. Ker za tumorske označevalce uporabljamo snovi, ki so prisotne tudi v drugih celicah, je referenčna vrednost vedno večja od 0, postavljena pa je tako, da dosežemo kompromis med občutljivostjo in specifičnostjo označevalca. Večanje specifičnosti za neki označevalec pomeni zmanjšanje občutljivosti in obratno. Referenčno vrednost moramo torej postaviti tako, da imamo čim manj lažno negativnih in čim manj lažno pozitivnih rezultatov. Če je pri isti vrsti rakave bolezni mogoče določati več označevalcev, lahko z njihovo kombinacijo povečamo občutljivost, vzeti pa moramo v zakup manjšo specifičnost. Ob pravilni izbiri označevalcev se specifičnost le minimalno zmanjša, medtem ko se občutljivost pomembno poveča.

2.2.4. POMANKLJIVOST TUMORSKIH OZNAČEVALCEV

Idealnega tumorskega označevalca še ni, saj snovi, ki jih uporabljamo za tumorske označevalce, ne nastajajo samo in izključno kot spremljevalci rakavega procesa.

Pomanjkljivosti doslej znanih tumorskih označevalcev so:

- nezadostna specifičnost za neko vrsto rakave bolezni,
- tvorba označevalcev v velikih koncentracijah pri nerakavih procesih (različna vnetja, benigni tumorji, bolezni jeter in trebušne slinavke),
- tvorba pri različnih fizioloških stanjih (nosečnost, laktacija, menstruacija),
- tvorba v povsem zdravih tkivih.

Posledica tega je pojav lažno pozitivnih in lažno negativnih rezultatov. Lažno pozitivni rezultati so lahko posledica:

- vnetnih procesov,
- benignih bolezni jeter ter posledične motnje metabolizma in izločanja,
- motenj v delovanju ledvic,
- obsežne tumorske nekroze,
- diagnostičnih in terapevtskih postopkov (obsevanje, kemoterapija, operativni posegi),
- fizioloških stanj (nosečnost, menstruacija, laktacija).

Lažno negativni rezultati pa so lahko posledica:

- popolnega izostanka sinteze,
- slabo izražene antigenske determinante ali tvorbe le v nekaterih tumorskih celicah,
- slabe prekrvavitve tumorja,
- nastajanje imunskih kompleksov z organizmu lastnimi protitelesi,
- hitrega razpada in izločanje antigenov.

2.2.5. KDAJ DOLOČATI TUMORSKE OZNAČEVALCE

Tumorske označevalce določamo:

- pred operativnim posegom, pred kakršnim koli drugim zdravljenjem (obsevanjem, kemoterapijo, hormonsko ali biološko terapijo);
- po operativnem posegu, med zdravljenjem in po končanem zdravljenju enkrat na 3 do 6 mesecev do drugega leta, pozneje pa enkrat na leto oziroma ob rednih pregledih;
- ob sumu na ponovitev ali napredovanje bolezni;

- pred spremembo terapije;
- najmanj 3 tedne po začetku nove terapije;
- 2 do 3 tedne po določitvi povečanih koncentracij tumorskega označevalca.

Potrebe so v praksi velikokrat drugačne, zato je treba dinamiko določanja prilagoditi vrsti in lastnostim tumorja ter načrtovanju načinov zdravljenja. Zgoraj naštete alineje so le približen načrt, ki ga moramo prilagoditi za vsakega bolnika posebej in ob upoštevanju dejstva, da je vsak bolnik kontrola samemu sebi.

2.2.5. 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 delitvi ločimo naslednje tumorske označevalce :

- onkofetalni proteini,
- hormoni in/ali karcinoplacentarni antigeni,
- encimi,
- tumor spremljajoči antigeni,
- posebni serumski proteini,
- mešani označevalci.

Tumorske označevalce lahko delimo tudi glede na mesto določitve. Humoralni tumorski označevalci so določeni v krvi in ostalih telesnih tekočinah, celični tumorski označevalci pa v celicah ali na površinah celic.

2.2.5.1. ONKOFETALNI PROTEINI

Onkofetalni proteini so antigeni, ki navadno nastanejo med embrionalnim razvojem. Pri odraslih je njihova uporaba omejena. Povečanje koncentracije teh antigenov pri odraslih so posledica ponovne aktivacije nekaterih genov, ki nadzirajo rast celic, in so neposredno povezani z malignim procesom. V to skupino spadata CEA-karcinoembrionalni antigen in AFP-alfafetoprotein.

CEA-karcinoembrionalni antigen (opisan v poglavju 2.3.)

AFP – alfafetoprotein je znan enako dolgo kot CEA. Odkrili so ga leta 1963 v serumu mišk s hepatocelularnim karcinomom. Je glikoprotein z molsko maso okrog 70 kDa, ki med embrionalnim razvojem nastaja v rumenjakovem mehurčku, celicah epitelja gastrointestinalnega trakta in jeter. Med nosečnostjo prehaja po plodovi krvi v amnijsko tekočino in preko placente v materino kri. Med nosečnostjo se serumske koncentracije povečujejo, takoj po porodu pa se zmanjšujejo. Močno povečana serumska koncentracija AFP med nosečnostjo je lahko znak za različne anomalije ploda (npr. spina bifida, anencefalija, atrezija požiralnika) ali za prisotnost večjega števila plodov. Pri odraslih je AFP v krvi v izredno majhnih koncentracijah. Povečane serumske koncentracije AFP (več kot 10 μ g/l) pri odraslih zasledimo ob akutnem virusnem hepatitisu, jetrni cirozi, obstruktivni zlatenici in pri nekaterih rakavih obolenjih, kot so rak trebušne slinavke, pljuč in želodca. Poseben pomen ima spremljanje AFP pri bolnikih s hepatocelularnim karcinomom, kjer so koncentracije AFP več kot 1200 μ g/l, in bolnikov z germinativnimi tumorji.

2.2.5.2. HORMONI

Rakaste tvorbe lahko sprožijo spremembe v sintezi in izločanju različnih hormonov. Kvantitativne in kvalitativne spremembe v sintezi in izločanju nekaterih hormonov so lahko kazalnik rakastega procesa. O kvantitativnih spremembah govorimo takrat, ko se tumorji razvijejo v tkivu endokrinih žlez in se zaradi rakaste transformacije celic sinteza hormonov poveča ali zmanjša. V to skupino uvrščamo hormone endokrinih tumorjev, kot so parathormon, insulin, prolaktin, kateholamini in drugi. Kvalitativne spremembe nastanejo takrat, ko rakasto transformirane celice nekaterih organov (pluća, dojke, želodec, jajčniki) začnejo tvoriti hormone. To imenujemo ektopična tvorba hormonov. Tako nastajajo npr. kalcitonin, insulin in parathormon pri raku timusa. Od vseh hormonov se je kot tumorski označevalec najbolje uveljavil **β HCG – beta horionski gonadotropin**. Gre za polipeptid z molsko maso okrog 45 kDa. Uvrščamo ga v posebno skupino karcinoplacentarnih antigenov – proteinov, ki nastanejo v placenti med nosečnostjo in so pri odraslih prisotni le izjemoma. Na določanju tega hormona temelji večina preskusov za zgodnje odkrivanje nosečnosti. Povečane serumske koncentracije β HCG lahko zasledimo skoraj pri vseh bolnicah z germinativnimi tumorji in pri večini moških bolnikov z germinativnimi tumorji. β HCG ima zelo kratek razpolovni čas v serumu (36-48 ur), zato je

uporaben za spremljanje odgovora za zdravljenje in za prognozo. V kombinaciji z AFP je odličen označevalec za spremljanje germinativnih tumorjev. Žal 10 odstotkov germinativnih tumorjev ne izloča tumorskih označevalcev, zato ga pri teh bolnikih ne moremo uporabiti za diagnostiko in spremljanje bolezni. Rahlo povečane vrednosti β HCG lahko zasledimo tudi pri bolnikih z rakom dojke, želodca, pljuč, jeter in debelega črevesa, vendar v klinični praksi za spremljanje teh bolnikov niso pomembne.

2.2.5.3. ENCIMI

Tumorski označevalci so lahko tudi nekateri encimi, katerih povečana tvorba je rezultat rakavega procesa v organizmu. **Prostatična kisl fosfataza (PKF)** je encim, ki nastaja v normalnem tkivu prostate. Encim je sestavljen iz dveh enakih podenot in ima molsko maso 1000 kDa. Povišane serumske aktivnosti (nad 43 nkat/l) zasledimo pri bolnikih z rakom prostate, ker običajno pomeni napredovalno stopnjo bolezni, ko tumor že preraste kapsulo prostate. Določanje prostatične kisle fosfataze je zato primerno za razlikovanje benignih procesov od rakavih. Da se izognemo lažno pozitivnim rezultatom, je treba kri za določitev PKF odvzeti pred rektalnim pregledom ali vsaj 48 ur po njem. **Alkalna fosfataza (AK)** obstaja kot vrsta izoenzimov, ki nastanejo v jetrih, kosteh ali placenti. Povišanje serumskih aktivnosti pri bolnikih z rakom ponavadi pomeni metastatsko razširitev bolezni v jetra ali/in kosti ali prisotnost primarnega kostnega rakavega tumorja. **Nevronsko specifična enolaza (NSE)** je citoplazemski glikolitični encim, ki so ga najprej dokazali v celicah neuroektodermalnega izvora in nevronih. Pozneje so ugotovili, da je prisoten tudi v tkivu tumorjev z neuroektodermalno ali neuroendokrino diferenciacijo. Povečana tvorba encima je lahko povezana z razvojem neuroblastoma, drobnoceličnega raka pljuč ali medularnega raka ščitnice. NSE je torej označevalec, katerega serumska aktivnost je pogosto povečana pri bolnikih s tumorji z neuroendokrino diferenciacijo. Uporabljamo ga za spremljanje zdravljenja in poteka bolezni pri bolnikih z omenjenimi vrstami raka, medtem ko zaradi slabe občutljivosti in specifičnosti ni primeren za presejalne teste ali kot pomoč pri diagnozi.

2.2.5.4. TUMOR SPREMLJAJOČI ANTIGENI

Tumor spremljajoči antigeni so heterogena skupina označevalcev, ki zajema različne membranske strukture tumorskih celic. Sodobna tehnologija izkorišča možnost tvorbe

specifičnih monoklonskih protiteles proti določeni antigenski strukturi, ki je najbolj značilna za nekatere tumorske celice. Označevalci v tej skupini so zato bolj specifični za neko vrsto tumorja kot ostali. Njihove serumske koncentracije pogosteje natančneje odražajo rast ali zmanjševanje tumorske mase. Ker še vedno ne poznamo antigenske strukture, ki bi bila značilna samo za rakave celice, najdemo te označevalce pogosto tudi v tkivih, ki niso rakavo spremenjena. Pri bolnikih z rakom so serumske koncentracije teh označevalcev statistično značilno večje kot pri zdravih odraslih in bolnikih z nemalignimi boleznimi. **CA 15-3 – karcinomski antigen 15-3** je ogljikovodikov antigen z molsko maso med 300 in 400 kDa. Določamo ga z dvema različnima monoklonskima protitelesoma, ki sta sposobna vezave na različna mesta antigena. CA 15-3 nastaja v sekretornem epiteliju dojk, pljuč, gastrointestinalnih organov, maternice in je pogosto v izločkih zdravih oseb. Povečane serumske koncentracije (več kot 30 kU/l) zasledimo predvsem pri bolnicah z rakom dojke. Raven označevalca je lahko povišana tudi pri drugih malignih boleznih, kot so rak pljuč, prostate, jajčnikov in materničnega vratu. CA 15-3 torej ni specifičen označevalec ne za organ, ne za vrsto tumorja, kljub temu pa je pri bolnicah z rakom dojke, pri katerih se tvori, dober pokazatelj uspešnosti zdravljenja in poteka bolezni. Na raven CA 15-3 v serumu lahko vpliva tudi prisotnost nekaterih drugih bolezni dojke, prisotnost benignih tumorjev dojke, vendar v takih primerih serumska koncentracija le redko preseže 40 kU/l. Povečane vrednosti zasledimo tudi pri približno 8 odstotkih nosečnic med 30. in 40. tednom nosečnosti. Hkratno določanje CA 15-3 in CEA pri bolnicah z rakom dojke poveča občutljivost in ohranja solidno specifičnost. **MCA – mucinski karcinomski antigen** je označevalec, značilen za raka dojke. Specifičnost MCA za rak dojke z mucinsko komponento je več kot 80-odstotna, z občutljivostjo okrog 70 odstotkov. Pri odraslih nastaja MCA v normalnem epiteliju dojke, ledvic, endometrija in prostate. Povečane serumske koncentracije MCA lahko zasledimo tudi pri bolnikih z drugimi malignimi tumorji epiteljnega izvora. MCA je dober označevalec za zgodnje odkrivanje ponovitve bolezni pri bolnicah z rakom dojke, uporaben je pa tudi za spremljanje dinamike bolezni in odgovora na zdravljenje. Zanimivo je, da so serumske koncentracije tega označevalca povečane pri 57 odstotkih nosečnic, v tretjem trimesečju pa celo v vseh primerih (100%). Zaradi nekomplementarnosti (pojavljata se pri bolnikih z istovrstnim tumorjem) določanje MCA v kombinaciji s CA 15-3 ne izboljša občutljivosti metode.

CA 125 – karcinomski antigen 125 je značilen označevalec za raka jajčnikov. Je glikoprotein z molsko maso okrog 200 kDa in nastaja pri več kot 80 odstotkih bolnic z nemucinoznim rakom jajčnikov. Med embrionalnim razvojem nastaja v celomskem epitelju, mezotelijskih celicah plevre, perikardija in peritoneja. Pri odraslih je prisoten v sluznici materničnega vratu in pljučnem parenhimu, zanimivo pa je, da nastaja v zdravem tkivu jajčnikov. Povečane serumske koncentracije (več kot 35 kU/l) najdemo razen pri bolnicah z rakom jajčnikov, tudi pri bolnicah z benignimi in rakastimi ginekološkimi boleznimi (endometrioza, ciste jajčnikov, rak materničnega vratu) ter pri nekaterih bolnikih z neginekološkimi rakavimi boleznimi, kot so pljučni rak, rak prostate in rakavi mezotelij peritoneja. **CA 19-9 – karcinomski antigen 19-9** je glikolipid, ki ni niti tkivno niti organsko specifičen. Povečan je v serumu bolnikov z gastrointestinalnimi tumorji. Označevalec je sicer nekoliko bolj specifičen za rak trebušne slinavke in jeter, pogosto pa so serumske koncentracije CA 19-9 povečane tudi pri bolnikih z rakom debelega črevesa, danke, želodca in jajčnikov. V razmeroma velikih koncentracijah ga je mogoče 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 povečane le ob bolezenskih spremembah. **PSA - za prostato specifični antigen** je 30 do 40 kDa velik protein, serinska proteaza, prvič izolirana iz ekstrakta tkiva prostate in semenske tekočine. Po tvorbi v tkivu prostate se izloča v semensko tekočino, kjer doseže izredno velike koncentracije. Vloga te serinske proteaze je preprečiti koagulacijo semenske tekočine. Pri zdravih osebah preidejo v krvni obtok le majhne količine PSA, tako da je njegova koncentracija v serumu zanemarljiva. Pri bolnikih s patološkimi spremembami prostate, zlasti z rakom, pa se količine, ki preidejo v krvni obtok, močno povečajo. S tem se značilno poveča tudi koncentracija v serumu. V serumu se PSA pojavlja v neaktivni obliki ali vezan na proteazne zaviralce, kot so alfa-1 antihimotripsin (ACT), alfa-1 proteazni zaviralec, alfa-2 mikroglobulin in alfaantitripsin. Največji delež PSA je v kompleksu z ACT (60-90%) in v prosti obliki (10-40%), medtem ko druge oblike predstavljajo manj kot 1% celotnega PSA v serumu. Označevalec je izjemno specifičen za raka prostate, poleg tega njegove serumske koncentracije zelo dobro spremljajo velikost tumorske mase. Zaradi visoke občutljivosti in izredno dobre korelacije s tumorsko maso uporabljamo PSA za spremljanje bolnikov z rakom prostate pogosteje kot prostatično kislino fosfatazo. Na splošno velja, da serumske koncentracije celotnega PSA nad 10 µg/l odražajo rakav proces.

2.2.5.5. POSEBNI SERUMSKI PROTEINI

Feritin je odgovoren za znotrajcelično vezavo in detoksikacijo. Pod normalnimi pogoji najdemo velike koncentracije tega proteina v jetrih, vranici in kostnem mozgu. Iz serumskih koncentracij in različnih podenot encima lahko postavimo sum na rakavo bolezen. Podenota H je prevladujoča v rakavem tkivu, medtem ko v normalnem tkivu prevladuje podenota HL. Normalna raven feritina v serumu je od 8 do 440 µg/l. Zvečane koncentracije opazamo pri bolnikih z akutno levkemijo, limfomi, rakom jeter in prostate. **TG – tiroglobulin** je znotrajcelični glikoprotein, odgovoren za nastanek in shranjevanje tiroksina. Izloča ga žleza ščitnica. V majhnih koncentracijah ga lahko zasledimo v serumu večine zdravih ljudi (0-75 µg/l), medtem ko so koncentracije izrazito velike pri bolnikih z rakom ščitnice. **Beta-2-mikroglobulin** je protein; v majhnih koncentracijah ga lahko prostega ali vezanega na HLA zasledimo v vseh telesnih tekočinah. Povečane serumske koncentracije ugotovimo pri bolnikih z rakom pljuč, dojke, danke in trebušne slinavke. **S-100 protein** je dober kazalnik poškodb v osrednjem živčnem sistemu in ga lahko uporabljamo tudi kot tumorski označevalec pri bolnikih z nevrinomom, glioblastomom in astroцитomom.

2.2.5.6. SKUPINA RAZLIČNIH SERUMSKIH OZNAČEVALCEV

Skupina zajema označevalce, katerih tvorba izredno dobro spremlja spremembe v hitrosti celične proliferacije. Gre za heterogeno skupino označevalcev, ki niso specifični za posamezne tumorje, ampak na splošno nakazujejo možnost obstoja rakave bolezni. V to skupino uvrščamo poliamine, nukleozide in tkivni polipeptidni antigen (TPA). Poliamine, kot so spermin, spermidin in putrescin, so dokazali v povečanih koncentracijah v seču, kadar je šlo za nadomeščanje celic nekega tkiva z novimi.

Poznamo še precej več označevalcev, ki izkazujejo uporabnost pri različnih rakih:

- estrogenski in progesteronski receptorji, BR27.29, HER-2/neu, epidermalni rastni dejavnik, katepsin D,
- SCCA (karcinomski antigen proti luskastim celicam) in CYFRA 21.1 v diagnostiki raka materničnega vratu,
- kateholamini v plazmi in seču v diagnostiki feokromocitoma,
- kalcitonin v diagnostiki medularnega raka ščitnice,
- insulin v diagnostiki raka betacelic trebušne slinavke,

-CA 72-4 v diagnostiki raka želodca(5).

2.3. CEA-KARCINOEMBRIONALNI ANTIGEN

CEA pomeni »carcinoembryonic antigen«- karcinoembrionalni antigen. Je značilni predstavnik onkofetalnih proteinov in eden najdlje znanih tumorskih označevalcev, ki je bil klinično opisan in uporabljen. Beseda »karcinoembrionalni« odraža dejstvo, da CEA proizvajajo nekatera rakava obolenja (karcino-) in razvijajoči se fetus (-embrionski). Je glikoprotein z molsko maso okrog 180 kDa, prvič izoliran iz ekstrakta tkiva črevesnega adenokarcinoma. Je del normalne celične membrane. Med embrionalnim razvojem nastaja v epiteljskih celicah gastrointestinalnega trakta, jeter in trebušne slinavke. Takoj po odkritju so menili, da gre za idealni tumorski označevalec za raka debelega črevesa in danke, vendar se je hitro izkazalo, da je CEA prisoten tudi v nekaterih zdravih tkivih odraslih, npr. v črevesni sluznici, plevri, v bolezensko spremenjenih tkivih nerakastega izvora in v tkivih drugih rakastih tumorjev. Povečane serumske koncentracije CEA lahko, razen pri bolnikih z rakom, zasledimo tudi pri hudih kadilcih, bolnikih z bronhitisom, gastritisom, duodenalnim ulkusom, jetrnim okvaram, pankreatitisom, polipi debelega črevesa in danke. Povečano raven CEA ima tudi 5% zdravih ljudi. Povečane koncentracije CEA najdemo tudi pri bolnikih z drugimi rakavimi boleznimi, kot so rak trebušne slinavke, pljuč, dojk, želodca, maternice, ščitnice, jeter, mehurja, jajčnikov, endometrija. CEA je kljub pomanjkljivostim pomemben označevalec za spremljanje bolnikov z rakom debelega črevesa in danke, saj ima 65 odstotkov vseh bolnikov s to boleznijo in celo 100 odstotkov bolnikov z metastatsko razširjeno boleznijo povečane serumske koncentracije tega označevalca. Poleg tega je CEA označevalec, ki ga lahko uporabljamo za spremljanje različnih rakov, zlasti raka dojke, jajčnikov, trebušne slinavke, pljuč, in jeter. CEA pa ni učinkovit za identifikacijo prikritega raka, kjer tumorji v zgodnji fazi ne povzročajo pomembnega povečanja v krvi. CEA najpogosteje testirajo v krvi (plazma), lahko pa tudi v drugih telesnih tekočinah ali pa v tkivih, odvzetih z biopsijo. Pri pacientih z rakom, ki izločajo ta antigen, spremljajo ravni CEA v plazmi z namenom, da bi ugotovili, če so potrebni dodatni kirurški pregledi, uporablja se pa tudi za spremljanje ponovitve bolezni. CEA se običajno vrne na normalno vrednost v 1 do 2 mesecih po operaciji, če pa ostane povišan, to lahko kaže, da je bolezen še prisotna. Test ni zanesljiv pri bolnikih, zdravljenih z obsevanjem ali kemoterapijo, je pa uporaben pri bolnikih, pri katerih tumorja ni mogoče

izmeriti. Nekateri podatki so pokazali, da se CEA pojavi več mesecev pred klinično ponovitvijo. Zaradi tega je več raziskovalcev preverjalo in zaporedno spremljalo CEA kot indikator za dodatni kirurški pregled v upanju, da bo ponovitve mogoče odkriti v času, ko bo še možna učinkovita kirurška resekcija. Določanje CEA bi moralo biti dovolj pogosto, najmanj na 3 mesece, če je pa le možno, pa na 1 ali 2 meseca. Da bi izključili laboratorijsko napako, bi bilo treba povišanja nad osnovno vrednost preveriti v zelo kratkem času. Zgornja referenčna vrednost za CEA je 3 µg/l; koncentracije od 4 do 10 µg/l imajo bolniki z rakastimi in nerakastimi boleznimi ter celo nekateri hudi kadilci, medtem ko so koncentracije nad 10 µg/l bolj kazalnik rakastega procesa(5,6,7).

2.4. METODE ZA IDENTIFIKACIJO CEA

Tumorski označevalci imajo v telesnih tekočinah nizke koncentracije in za njihovo določitev potrebujemo visoko občutljivo tehnologijo. Tehnike, ki jih danes uporabljamo, temeljijo bolj ali manj na podobnem principu – to je na določanju kompleksov antigena in protiteles. Vse metode so prilagojene za dokazovanje izredno nizkih koncentracij antigena, tako da velikih razlik v njihovi občutljivosti ni. Specifičnost metod je v veliki meri odvisna od kvalitete protiteles ter od specifičnosti protiteles za posamezen antigen oziroma tumorski označevalec (9).

2.4.1. RADIOIMUNSKÉ TEHNIKE

Radioimunski test (radioimmunoassay-RIA) je eden vsestranskih in najbolj občutljivejših testov za merjenje antigenov in haptenov. Izmerimo lahko izredno majhne količine (do 10^{12} g), zato je metoda primerna za kvantitativno določanje hormonov, serumskih proteinov, zdravilnih učinkovin in vitaminov. Pri tem testu uporabljamo radioaktivno zaznamovane (navadno z I^{125}) antigene, protitelesa in haptene. Radioimunski test v tekoči fazi temelji na tekmovanju med zaznamovanim in nezaznamovanim antigenom za omejeno količino močno afinitetnih protiteles. Naraščajoče koncentracije nezaznamovanega antigena izrinejo vse več zaznamovanega antigena z vezišč. Z merjenjem količine prostega zaznamovanega antigena v raztopini lahko določimo koncentracijo nezaznamovanega antigena. Ena najpomembnejših stopenj te metode je ločitev vezanega od nevezanega antigena. Razvili so več metod imenovanih trdne faze RIA, s katerimi je

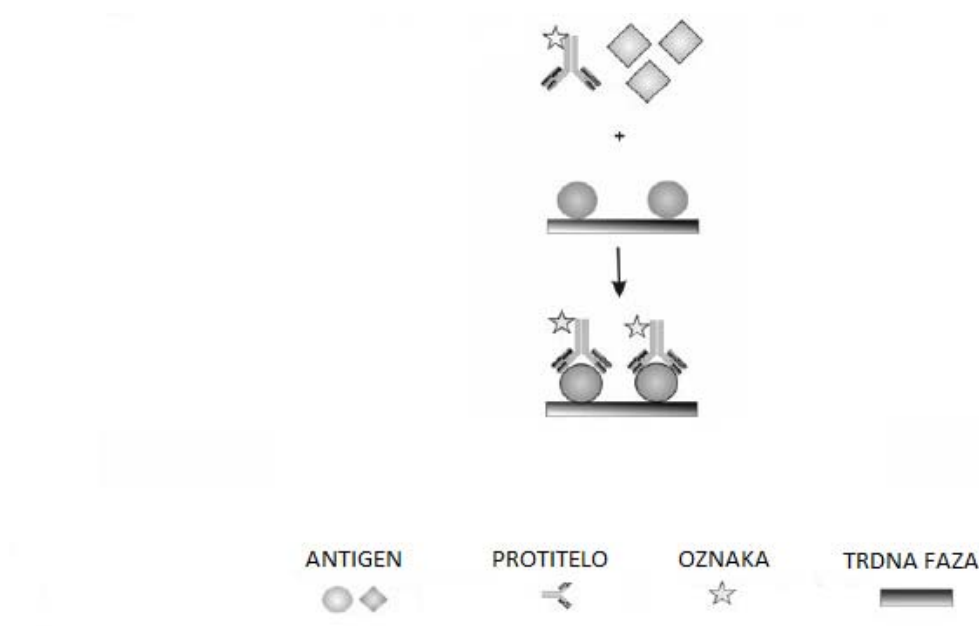
ločevanje kompleksov Ag-Ab od nevezanega antigena lažje. Pri eni od metod se veže protitelo kovalentno na delce safaroze. Količino radioaktivno zaznamovanega antigena, vezanega na delce, lahko kvantitativno izmerimo, ko delce centrifugiramo in speremo. Pri drugem načinu imobiliziramo komplekse na polistiren ali polivinilklorid in izmerimo količino prostega zaznamovanega antigena z gama števcem. Protitelesa lahko imobiliziramo na stene mikrotiterskih jamic. Ta postopek je zelo primeren za merjenje koncentracij določenega antigena v številnih vzorcih. Komplekse lahko ločujemo od prostega antigena tudi z izsoljevanjem, obarjanjem z denaturacijo ali s polietilen glikolom, absorpcijo prostega izotopa, gelsko filtracijo, ravnotežno dializo in z elektroforezo.

2.4.2. ENCIMSKOIMUNSKÉ TEHNIKE

Osnova encimskoimunskih tehnik je pritrnitev različnih encimov na protitelesa ali antigene tako, da se reaktivnost encimov in protiteles ne spremeni. Rezultate ugotovimo s prostim očesom ali s spektrofotometrom. Zaznamovalni encimi so lahko alkalna fosfataza, glikoza-6-P-dehidrogenaza, peroksidaza. Njihovi substrati so lahko kromogeni, fluorogeni luminiscenčne spojine. **ELISA** (enzyme linked immuno sorbent assay) je imunoabsorpcijski test, ki je heterogena metoda, podobna RIA, le da pri njej uporabimo encim namesto radioaktivne oznake. Encim, konjugiran s protitelesom, reagira z brezbarvnim substratom, pri čemer nastane obarvan produkt. Pri ELISA je ligand antigen ali protitelo, označeno z encimom. Ko protitelesa vežemo na trdno fazo (npr. steno epruvete), se bo antigen iz vzorca vezal na primarna protitelesa (Ab1). Antigen, ki se ni vezal, speremo s pufrom. Nato dodamo z encimom zaznamovano drugo (sekundarno) protitelo, ki tvori sendvič komplekse s prej nastalimi kompleksi Ag-Ab1. Nevezani prebitek zaznamovanega sekundarnega protitelesa speremo s pufrom in dodamo substrat za encim, nato odmerimo barvo oz. določimo aktivnost encima, ki je obratno sorazmerna koncentraciji antigena. **EMIT** (enzyme multiplied immuno assay) je tehnika, kjer antigen dodamo vzorcu in nato še z encimom zaznamovani hapteni. Zaznamovani in nezaznamovani antigeni tekmujejo za vezna mesta na protitelesu. Z vezavo encimsko zaznamovanega antigena se encimska aktivnost poveča ali zmanjša. Vezava antigena na protitelo spremeni konformacijo encima ali pa zaradi steričnih oviranj substrat nima pristopa do encima. Posledica je zaviranje encimske aktivnosti. Aktivacija se sproži, ko je encim tako vezan na antigen, da se šele z vezavo na protitelo odkrije aktivni center.

2.4.3. LUMINISCENČNE TEHNIKE (LIA)

LIA (luminiscence immunoassay) je dvostranska in heterogena kemiluminiscentna imunokemijska tehnika (»sendvič« princip). Luminiscenca je sevanje za snovi značilne svetlobe kot posledica kemične reakcije. Navadno sta za pojav potrebna dva reaktanta, poleg tega pa je potreben tudi ustrezen katalizator za potek reakcije. Pri tem nastane vmesni vzbujeni produkt, ki po prehodu v osnovno stanje odda foton določene valovne dolžine. Pri kemiluminiscenčnih tehnikah gre za kompetitivne metode, pri katerih je antigen označen npr. z luminolom. Po imunokemični reakciji antigena s protitelesom dodamo reagent, ki vsebuje vodikov peroksid in encim peroksidazo. Peroksidaza pretvori vodikov peroksid v vodo in povzroči oksidacijo luminola ter s tem spravi luminol v stanje povečane energije. Prek intermedijatorjev nato prehaja luminol v osnovno obliko in pri tem oddaja luminiscenco. Sproščeno svetlobno energijo merimo pri 425 nm. Kot označevalce lahko uporabimo še izoluminol in luciferin(5).



Slika 4: Shematski prikaz metode LIA

3. NAMEN DELA

CEA je v organizmu normalno prisoten do določene koncentracije, pri boleznih pa se njegova koncentracija lahko poveča. Povečane koncentracije CEA lahko, razen pri bolnikih z rakom zasledimo tudi pri hudih kadiclih in bolnikih z bronhitisom, gastritisom, duodenalnim ulkusom, jetrnimi okvarami, pankreatitisom, polipi debelega črevesa in danke. V svoji diplomski nalogi bi rad ugotovil, če se koncentracija CEA v primeru raka na debelem črevesu oz. trebušne slinavke in raku jeter poviša ali ostane nespremenjena.

Na gastroenterološki kliniki v Kliničnem centru v Ljubljani so vzeli kri 2442 pacientom, ki so imeli različne bolezni gastroenterološkega trakta, med drugim tudi 274 pacientov z rakom na debelem črevesu oziroma trebušni slinavki in jetrih. V vseh serumih bomo določali koncentracijo CEA. V diplomski nalogi bomo statistično ovrednotili rezultate meritev koncentracij CEA z namenom, da bi ugotovili klinično uporabnost CEA v diagnostiki raka debelega črevesa oziroma trebušne slinavke in jeter.

4. MATERIALI IN METODE

Na gastroenterološki kliniki Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani so vzeli kri 2442 pacientom, za katere smo sumili, da imajo raka na debelem črevesu oziroma trebušni slinavki in jetrih. Preiskovancem je bila odvzeta kri z epruveto za vakuumski odvzem. V serumu teh vzorcev smo določali koncentracijo CEA z analizatorjem LIAISON® proizvajalca Dia Sorin.

4.1. PREDTAVITEV METODE ZA DOLOČANJE CEA:

4.1.1. NAMEN UPORABE

Test *in vitro* za kvantitativno določanje karcinoembrionalnega antigena (CEA) v humanem serumu kot tudi v EDTA ali heparinizirani humani plazmi.



Slika 5: Analizator LIAISON®, na katerem smo določili koncentracijo CEA.

4.1.2. PRINCIP METODE

Metoda za kvantitativno določanje CEA je luminiscenčna tehnika (LIA), ki je "sendvič" kemiluminiscenčni imunološki test.

Za prevleko trdne faze (magnetni delci) in za sledilo se uporabljajo tri različna visoko specifična monoklonalna protitelesa. Protitelo sledila prepozna CEA-specifične peptidne epitope (po Matsuoki razred V). Visoko specifična protitelesa ne reagirajo navzkrižno s proteini, povezanimi s CEA, kot so NCA, NCA-2, NFA, NFCA.

CEA, ki je prisoten v vzorcih, se med prvo inkubacijo veže na monoklonalno protitelo trdne faze, nato pa konjugat protitelesa po izpiranju v drugi inkubaciji reagira s CEA, ki je že vezan na trdno fazo.

Po inkubaciji se nevezani material odstrani z izpiranjem.

Nato se doda starterska kultura, sproži se hitra kemiluminiscenčna reakcija. Svetlobni signal in s tem količina konjugata izoluminol protitelesa se meri s fotopomnoževalnikom v relativnih svetlobnih enotah (RLU) in kaže na koncentracijo CEA, ki je prisotna v vzorcih.

4.1.3. MATERIALI

Reagenti:

2,3 mL	Suspenzija magnetnih delcev: magnetni delci, prevlečeni z anti-CEA, monoklonska mišja protitelesa
1,0 mL	Kalibrator z nizko koncentracijo CEA
1,0 mL	Kalibrator z visoko koncentracijo CEA
13 mL	Raztopina konjugata sledila: sledilo anti-CEA, označeno z izoluminolom, monoklonska mišja protitelesa
28 mL	Pufer
25 mL	Diluent - za redčenje

4.1.4. PRIPRAVA REAGENTA

Preden smo odprli posodice, smo reagente previdno in rahlo pretresli. Paziti smo morali, da se ne spenijo. Odstranili smo čep z vsake posodice in obračali kolešček na dnu posodice z magnetnimi delci, dokler suspenzija ni postala rjava. S tem postopkom se magnetni delci resuspendirajo. Previdno smo obrisali površino, da smo odstranili preostanek tekočine. Nato smo ga postavili v prostor za reagent na analizatorju s črtno kodo na levi strani in

pred uporabo pustili stati 30 minut. Analizator je samodejno premešal in popolnoma resuspendira magnetne delce.

4.1.5. KALIBRACIJA APARATURE

Kalibracijo izvajamo:

- če sta od prejšnje kalibracije pretekla več kot 2 tedna,
- ob vsakokratni uporabi novega reagenta,
- če je bil analizator servisiran,
- če so vrednosti kontrole izven dovoljenih območij.

4.1.6. POSTOPEK TESTA

Dosledno upoštevanje navodil za uporabo analizatorja zagotavlja pravilno izvajanje testa. Parameter vsakega testa je prepoznan s pomočjo črtne kode na etiketi reagenta. Če se čitalnik črtne kode pokvari, je mogoče podatke vnesti ročno.

Operacije analizatorja so naslednje:

50 µL	Pipetiranje vzorca, kalibratorja ali kontrole
+ 270 µL	Pipetiranje pufra
+ 20 µL	Prevlečeni magnetni delci
10 min	Inkubacija, ki ji sledi izpiranje
+ 100 µL	Sledilni konjugat
10 min	Inkubacija, ki ji sledi izpiranje
3 s	Merjenje



Slika 6: Vzorci v aparatu pred analizo.

4.1.7. KONTROLA KAKOVOSTI

Kontrolo kakovosti je potrebno opraviti vsaj enkrat na dan uporabe. Kadar je kontrola izven zahtevanega območja, je ponovno potrebno izvesti kalibracijo in kontrolni test.

4.1.8. IZRAČUN REZULTATOV

Analizator samodejno izračuna koncentracije CEA za vzorce v ng/mL.

4.1.9. ZNAČILNOST METODE

•merilno območje

LIAISON® CEA meri koncentracije od 0,2 do 1000 ng/mL.

•referenčno območje

Manj kot 5% očitno zdravih darovalcev krvi (500) je imelo vrednosti CEA nad 4ng/mL.

• "Hookov efekt" ob visokih koncentracijah

Pri koncentracijah CEA do 191.000 ng/mL ni bilo opaziti "hook efekta" zaradi visoke koncentracije.

Ob preskušanju vzorcev, ki vsebujejo izjemno visoke koncentracije analita, HDH lahko posnema koncentracije, nižje od dejanskih. Analizo HDH smo ocenili s testiranjem petih

vzorcev s primešano visoko koncentracijo CEA. Pri vseh rezultatih, ki smo jih izračunali kot rezultate nad merilnim območjem, gre za pravilen prvi rezultat.

•analitična občutljivost

Analitična občutljivost je definirana kot minimalna zaznavna doza, različna od nič za dve standardni deviaciji. Meja zaznavnosti je $< 0,2$ ng/mL.

•analitična specifičnost

Analitično specifičnost je mogoče definirati kot zmožnost testa, da natančno zazna določeni analit ob možni prisotnosti motečih v dejavnikov v matriki vzorca (npr. hemoliza, lipemija, bilirubinemija).

Študije za nadzorovanje potencialno motečih snovi ali pogojev so pokazale, da na izvajanje testa niso vplivale koncentracije bilirubina $< 0,2$ mg/mL, hemoglobina < 1000 mg/dL ali trigliceridov < 30 mg/mL.

4.1.10. OMEJITVE PRI METODI

- Reagenti se lahko uporabljajo samo v sistemu LIAISON®.
- Na rezultate testa lahko vpliva bakterijska kontaminacija ali toplotna inaktivacija.
- Pri bolnikih z malignimi obolenji se lahko pokažejo vrednosti CEA znotraj referenčnega območja. Povišane vrednosti CEA pa se lahko pokažejo pri bolnikih z benignimi boleznimi, kot so ciroza jeter, virusni hepatitis, težave s trebušno slinavko ali prebavili. Prav tako lahko povečane koncentracije CEA povzročajo kajenje in uživanje alkohola.
- Čeprav so dodani reagenti za nevtralizacijo HAMA, lahko izjemno visoke koncentracije HAMA (human anti-mouse antibodies – humana protimišja protitelesa) včasih vplivajo na izvide.

4.2. ZBIRANJE IN PRIPRAVA VZORCEV

Kot vzorec smo uporabili serum. Če testa nismo izvedli v dnevu, ko je bil vzorec odvzet, smo serum ločili od sedimenta in ga hranili v ločeni epruveti. Vzorec smo hranili 24 ur pri $2-8^{\circ}\text{C}$, za daljše shranjevanje pa smo vzorec zmrznili pod -20°C . Izogibati smo se morali večkratnemu zamrzovanju in taljenju, shranjene vzorce pa smo pred uporabo dobro pretresli. Močno hemolizirani ali lipemični vzorci in vzorci, ki so vsebovali delce ali kazali

očitno kontaminacijo z mikrobi, niso bili primerni za analizo. Minimalni volumen, ki je bil potreben za posamezno določitev, je 250 μL seruma (12).

4.3. PREDSTAVITEV METODE T-TEST

4.3.1. T-TEST

S pomočjo t-testa preverjamo domneve o enakosti dveh povprečij na populaciji.. To storimo tako, da si izberemo dva neodvisna vzorca, nato pa za vsak vzorec izračunamo povprečje izbrane spremenljivke, povprečji pa med seboj primerjamo.

Ker gre za primerjavo dveh vzorčnih in ne populacijskih povprečij, moramo ugotoviti, ali se povprečji statistično značilno razlikujeta ali ne. Izberemo si stopnjo značilnosti (α) ki nam v bistvu pove, kolikšno je tveganje, da si izberemo ravno dva taka vzorca, ki bistveno odstopata od populacije (in torej padeta izven intervala zaupanja). Na podlagi te stopnje značilnosti (α) določimo kritično območje.

Analitična formula za izračun eksperimentalne vrednosti t-testa:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2 - (\mu_1 - \mu_2)}{s} \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}; \text{Predpostavka: } \mu_1 - \mu_2 = 0 \quad \dots(1)$$

Formula za oceno vzorcne variance: ...(2)

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2 + (n_2 - 1) \cdot s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

(po ničelni hipotezi (H_0) sta aritmetični sredini na populaciji enaki: $\mu_1 = \mu_2$ oz. $\mu_1 - \mu_2 = 0$)

Na vzorčnih podatkih izračunamo eksperimentalno vrednost t-statistike (po zgornji formuli), in če le-ta pade v kritično območje, ničelno domnevo (H_0) zavrnemo in sprejmemo osnovno domnevo (H_1) ob že prej določeni stopnji značilnosti (stopnji tveganja) α , sicer pa rečemo, da vzorčni podatki kažejo na statistično neznačilne razlike med parametroma (v našem primeru med aritmetičnima sredinama) obeh populacij.

To formulo uporabimo le, če sta populacijski varianci na obeh vzorcih približno enaki (iz: $s_1^2 = s_2^2$ sklepamo $\sigma_1^2 = \sigma_2^2$)

4.3.2. T-TEST: DVOVZORČNI Z UPOŠTEVANJEM NEENAKIH VARIANC

To orodje za analizo izvede dvovzorčni dvostranski ali enostranski studentov t-test. Ta oblika t-testa predpostavlja, da sta ti dve množici podatkov prišli iz porazdelitev z neenakimi populacijskimi variancami ($\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$). To imenujejo tudi heteroskedastični t-test. Tako kot v primeru z enakimi variancami lahko ta t-test uporabimo, da ugotovimo, ali sta ta dva vzorca prišla iz porazdelitev z enakimi aritmetičnimi sredinami. Ta preskus uporabimo, ko so v dveh vzorcih ločljivi predmeti.

Formula, ki jo program uporablja za ugotavljanje eksperimentalne t - vrednosti (eksperimentalna vrednost t - statistike), je:

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y} - \Delta_0}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n} + \frac{S_2^2}{n}}} \quad \dots(3)$$

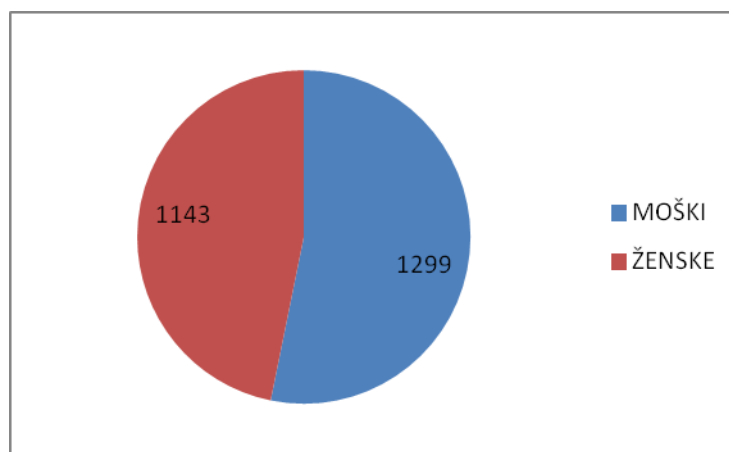
Spodnja formula pa se uporablja za izračunavanje stopinj prostosti, »df« (degrees of freedom). Ker rezultat izračuna običajno ni celo število, moramo vrednost »df« zaokrožiti na najbližje celo število, da pridobimo kritično vrednost t iz tabele za vrednosti studentove porazdelitve. Funkcija TTEST Excelovega delovnega lista uporablja nezaokroženo izračunano vrednost »df«, ker je vrednost za TTEST mogoče izračunati z vrednostjo »df«, ki ni celo število. Zaradi teh različnih pristopov določanja stopinj prostosti se bosta rezultata orodij TTEST-a in tega t-testa v primeru neenakih varianc malce razlikovala.

$$df = \frac{\left(\frac{S_1^2}{n} + \frac{S_2^2}{n}\right)^2}{\frac{(S_1^2/n)^2}{n-1} + \frac{(S_2^2/n)^2}{n-1}} \quad \dots (4)$$

5. REZULTATI

5.1. VZORCI

Skupno smo analizirali 2442 vzorcev, med katerimi je bilo 1143 (46.8%) moških in 1299 (53.2%) žensk. Najmlajši preiskovanec je bil star 19 let, najstarejši pa 99 let. Najstarejša oseba, ki je imela raka je bila stara 99 let, najmlajša pa 33 let.



Slika 7: Število preiskovancev glede na spol.

Tabela, ki prikazuje vrednosti koncentracij CEA v serumu, datum rojstva, spol in status pacientov, je v prilogi.

5.2. IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI UPORABLJENIH DIAGNOSTIČNIH TESTOV

Na podlagi tabele, kjer so razvrščeni rezultati opravljene raziskave, bom v diplomskem delu izračunal ter podal vrednosti občutljivosti in specifičnosti LIA testa za določitev koncentracije karcinoembrionalnega antigena (CEA).

	Povišana vrednost tumorskega označevalca	Normalna vrednost tumorskega označevalca
Število bolnikov z določeno vrsto maligne bolezni	RP=269	LN=5
Število pacientov brez določene vrste maligne bolezni	LP=455	RN=1712

Preglednica 3: Izračun občutljivosti in specifičnosti.

RP: resnično pozitiven izid (bolni pacienti, katere test pravilno prepozna kot bolne)

LP: lažno pozitiven izid (so zdravi, vendar jih test »napačno« prepozna kot bolne)

LN: lažno negativen izid (so bolni, a test jih prepozna kot zdrave)

RN: resnično negativen izid (so zdravi in test jih kot zdrave tudi prepozna)

Izračun: **občutljivost diagnostičnega testa** = $RP/(RP+LN)$; predstavlja delež bolnih oseb (katere test res prepozna kot bolne) od celokupnega števila bolnih ($RP+LN$). Občutljivost je verjetnost pozitivnega testa pod pogojem prisotnosti bolezni. Manj kot je lažno negativnih rezultatov boljša je občutljivost.

OBČUTLJIVOST $269/(269+5)=0.982 \rightarrow 98.2$ odstotna občutljivost

CEA ima v naši raziskavi 98.2-odstotno občutljivost, kar je zelo dobro. To pomeni, da je koncentracija CEA pri 98.2% pacientih z rakom jeter ali debelega črevesa oziroma trebušne slinavke povišana in so rezultati resnično pozitivni, pri 1.8% pa je koncentracija nižja in so rezultati lažno negativni.

Izračun: **specifičnosti diagnostičnega testa** = $RN/(LP+RN)$; je delež zdravih oseb, od celokupnega števila resnično zdravih. Specifičnost je verjetnost negativnega testa pod pogojem odsotnosti bolezni. Manj kot je lažno pozitivnih rezultatov, večja je specifičnost.

SPECIFIČNOST $1712/(455+1712)=0.79 \rightarrow 79$ odstotna specifičnost

CEA se je v naši raziskavi izkazal za 79-odstotno specifičen tumorski označevalec za raka jeter ali debelega črevesa oziroma trebušne slinavke. To pomeni, da daje lažno pozitivne rezultate pri 21% oseb, kjer je koncentracija CEA povišana, torej je pri 79% pacientih, ki nimajo raka, imajo pa neko drugo gastroenterološko bolezen, koncentracija CEA normalna.

5.3. IZRAČUN T-TESTA V EXELU

Pri izračunu t-testa smo se vprašali ali je povišana vrednost CEA povezana z rakavimi obolenji v populaciji. Preden naredimo t-test za neodvisne slučajne vzorce, si izberemo neko stopnjo tveganja (izbrali smo $\alpha=0.1\%$). Da vidimo ali so razlike v vrednosti CEA med obema skupinama (nerakava in rakava), je potrebno narediti 2-stranski t-test, saj nas zanima le, ali obstajajo razlike med obema skupinama ali ne (če bi nas npr. zanimalo, ali je vrednost CEA v eni skupini večja kot v drugi, bi naredili enostranski t-test). Naredimo t-test in eksperimentalna vrednost t-statistike (izračunana po formuli (1)) nam pade v kritično območje, zato zavrnilo ničelno hipotezo (H_0), da sta aritmetični sredini na populaciji enaki in ob stopnji tveganja 1% sprejmem osnovno oz. alternativno hipotezo H_1 ki trdi, da sta aritmetični sredini na obeh populacijah različni. **Torej z 99.9 % gotovostjo trdimo, da imajo rakavi bolniki različno vrednost CEA od zdravih ljudi.** Izračunal sem povprečno vrednost CEA v skupin z rakom, ki je bila 366,768 $\mu\text{g/l}$. V skupini brez raka je bila povprečna vrednost CEA 2,809 $\mu\text{g/l}$. Če primerjamo rezultata med seboj, je razlika med njima velika.

To sem naredil v exelu, delal sem t-test (dvovzorčni t-test z neenako varianco-heteroskedastični). Vzorca sta bila neenaka, neodvisna in varianci na obeh vzorcih sta bili različni ($s_1^2 \neq s_2^2$), zato sem predpostavil, da obstaja razlika v variancah na obeh populacijah ($\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$).

t-test v exelu: TTEST(vzorec1;vzorec2;2(dvostranski test);3(tip testa za neenake variance))= $\alpha=8.98 \times 10^{-6}$ ($\rightarrow \frac{\alpha}{2} = 4.49 \times 10^{-6}$)

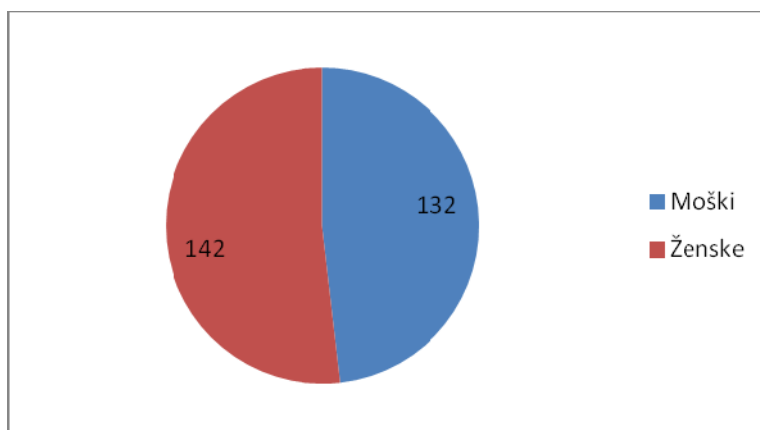
Ta rezultat nam pove, da je verjetnost, da smo se v naši napovedi zmotili in da v resnici ni statistično značilnih razlik med aritmetičnima sredinama obeh vzorcev enaka 8.98×10^{-6} .

To nam hkrati pove tudi delež vzorcev z neustreznimi (statistično neznačilnimi razlikami) med obema aritmetičnima sredinama.

V praksi to pomeni, da zopet pademo v kritično območje (saj je naša izbrana stopnja značilnosti (α) enaka 1%) in tako sprejmemo osnovno hipotezo H_1 .

5.4. ŠTEVILO OBOLELIH ZA RAKOM JETER ALI DEBELEGA ČREVEESA OZIROMA TREBUŠNE SLINAVKE

Iz podatkov v tabeli (v prilogi), je razvidno, da je obolelih za rakom jeter ali debelega črevesa oziroma trebušne slinavke 132 moških in 142 žensk. Vseh skupaj obolelih za rakom je 274, kar predstavlja 11.22% od 2442 preiskovancev. Pacientov v nekarcinomski skupini, ki imajo zvišano koncentracijo CEA je 455 od 2166, kar predstavlja 21% pacientov. Pacientov v karcinomski skupini, ki imajo znižano koncentracijo od referenčne vrednosti je 5 od 274, kar predstavlja 1.82% pacientov. Po statistiki je rak debelega črevesa po pogostnosti pojavljanja najpogostejši rak, upošteva oba spola, in drugi najpogostejši vzrok smrti zaradi raka. Večinoma se pojavlja po 60. letu starosti. Rak jeter je šesti najpogostejši rak na svetu in predstavlja tretji najpogostejši vzrok umrljivosti zaradi raka. Pojavlja se pogosteje pri moških, večinoma med 50. in 60. letom.



Slika 8: Število obolelih za rakom jeter ali debelega črevesa oziroma trebušne slinavke.

6. RAZPRAVA

Določanje tumorskih označevalcev za spremljanje bolezni in zdravljenje rakavih obolenj je danes uveljavljena in mnogokrat nenadomestljiva onkološka laboratorijska metoda. Tumorski označevalci so zanesljivi predvsem pri spremljanju odgovora na zdravljenje in zgodnjem odkrivanju ponovitve bolezni. CEA je tako kot mnogi drugi tumorski označevalci organsko nespecifičen in je normalno prisoten v različnih tkivih. Znano je, da se njegove vrednosti pri določenih vrstah raka povečajo. Lahko pa se njegove vrednosti povečajo tudi v drugih bolezensko spremenjenih tkivih nerakastega izvora in pri kadilcih. Ena izmed pomembnejših pomankljivosti je, da CEA ni učinkovit za identifikacijo prikrita raka, kjer tumorji v zgodnji fazi ne povzročajo pomembnega povečanja v krvi in se zato poslužujemo drugih metod. Pri raziskavi nas je zanimal klinični pomen CEA pri diagnostiki raka na jetrih oziroma debelem črevesu. V raziskavi je bilo 2442 pacientov, katerim smo določili koncentracijo CEA. V registru raka Republike Slovenije za leto 2007 lahko vidimo, da je za rakom debelega črevesa zbolelo 389 moških in 327 žensk, za rakom na jetrih pa 103 moški in 47 žensk. Največ bolnikov s tema oblikama raka je bilo starih okrog 70 let. Med našo raziskavo je imelo raka 142 žensk in 132 moških na debelem črevesu oziroma jetrih. Vidimo, da je incidenca raka večja pri ženskah in se razlikuje od podatkov iz registra raka Republike Slovenije. Ugotovili smo, da so imeli skoraj vsi rakavi bolniki povišano vrednost CEA. Le 5 pacientov z rakom je imelo nižjo koncentracijo od referenčne vrednosti. Iz podanih rezultatov smo izračunali, da ima CEA 98,2-odstotno občutljivost, kar je zelo zadovoljivo. Njegova specifičnost pa je 79-odstotna. Če upoštevamo izračunane vrednosti občutljivosti in specifičnosti lahko sklepamo, da je CEA dokaj dober tumorski označevalec za določanje raka na debelem črevesu oziroma jetrih. Moramo pa se tudi zavedati, da ena sama določitev nima velikega pomena. Zelo natančne podatke o klinični uporabnosti CEA bi dobili, če bi določitve opravili pri vsakem pacientu večkrat in v različnih stadijih njegove bolezni. S tem bi ugotovili, ali se koncentracije spreminjajo v skladu z idealnim tumorskem označevalcu ali ne. Pri idealnem tumorskem označevalcu naj bi bila koncentracija pri zdravih osebah nižja od referenčne meje, povečevala pa naj bi se z velikostjo in obsegom raka. Ko rakavemu bolniku uspešno odstranimo tumor, začne koncentracija hitro padati, tako da je v stanju remisije normalna. Če pa se bolezen ponovi, se koncentracija ponovno poviša. V našo raziskavo je bilo vključenih veliko pacientov zato je večja možnost, da je skupina reprezentativna in

posledično so tudi dobljeni rezultati bolj točni. Naredili smo tudi t-test, s katerim smo preverjali domnevo o enakosti dveh povprečij na populaciji. To smo storili tako, da smo izbrali dva neodvisna vzorca, nato pa za vsak vzorec izračunali povprečje izbrane spremenljivke, povprečji pa med seboj primerjali. Na podlagi podatkov smo se morali seveda tudi odločiti, ali bomo delali 2-stranski ali enostranski t-test (npr. v našem primeru bi zlahka lahko naredili enostranski t-test, saj je imela rakava skupina znatno višjo vrednost CEA od druge skupine, ki je bila zdrava) in kako ga bomo izvedli (ali s primerjavo eksperimentalne in teoretične t-vrednosti ali pa s primerjavo stopenj tveganja: tiste vnaprej izbrane in tiste, ki sledijo iz eksperimentalnih podatkov (slednji način uporablja excel). Povprečna vrednost CEA v skupini z rakom je bila 366,768 µg/l, v skupini brez raka pa je bila povprečna vrednost CEA 2,809 µg/l. Če primerjamo rezultata med seboj, je razlika med njima očitna. V našem primeru lahko z 99.9 % gotovostjo trdimo, da imajo rakavi bolniki različno vrednost CEA od zdravih ljudi. Pri nas je bila $\alpha = 8.98 \times 10^{-6}$ ($\rightarrow \frac{\alpha}{2} = 4.49 \times 10^{-6}$) in ta rezultat nam pove, da je verjetnost, da smo se v naši napovedi zmotili in da v resnici ni statistično značilnih razlik med aritmetičnima sredinama obeh vzorcev enaka 8.98×10^{-6} . To nam hkrati pove tudi delež vzorcev z neustreznimi (statistično neznačilnimi razlikami) med obema aritmetičnima sredinama.

7. SKLEP

Vse vzorce smo analizirali na aparatu LIAISON®. Po opravljenih raziskavah pa lahko iz dobljenih rezultatov in statistične obdelave ugotovimo naslednje:

- Karcinom jeter oziroma debelega črevesa je imelo 274 pacientov, kar predstavlja 11.22% od 2442 preiskovancev.

- Pacientov v nekarcinomski skupini, ki imajo zvišano koncentracijo CEA je 455 od 2166. Na to zvišanje so vplivali drugi dejavniki in ne karcinom. Pacientov v karcinomski skupini, ki imajo znižano koncentracijo od referenčne vrednosti je bilo 5. Vzroki za to so lahko različni.

- Pri izračunu t-testa, s katerim smo preverjali domnevo o enakosti dveh povprečij na populaciji, je bila povprečno vrednost CEA v skupin z rakom 366,768 µg/l. V skupini brez raka je bila povprečna vrednost CEA 2,809 µg/l. Če primerjamo rezultata med seboj, je razlika med njima velika.

- Tumorski označevalec CEA ima pri diagnostiki karcinoma jeter oziroma debelega črevesa 98.2-odstotno občutljivost, kar je zelo dobro. To pomeni, da je koncentracija CEA pri 98.2% pacientih z rakom jeter ali debelega črevesa oziroma trebušne slinavke povišana in so rezultati resnično pozitivni, pri 1.8% pa je koncentracija nižja in so rezultati lažno negativni. CEA pa se je v naši raziskavi izkazal za 79-odstotno specifičen tumorski označevalec za raka jeter ali debelega črevesa oziroma trebušne slinavke. To pomeni, da daje lažno pozitivne rezultate pri 21% osebah, kjer je koncentracija CEA povišana, torej je pri 79% pacientih, ki nimajo raka, imajo pa neko drugo gastroenterološko bolezen, koncentracija CEA normalna. Specifičnost in občutljivost je bila kar dobra, vendar moramo za končno diagnozo opraviti več različnih preiskav kot je CT (računalniška tomografija), magnetna resonanca in ultrazvok.

- Določanje tumorskih označevalcev za diagnostiko in spremljanje boleznih rakavih obolenj je danes uveljavljena in mnogokrat nenadomestljiva onkološka metoda.

8. LITERATURA

- (1) http://www.onko-i.si/za_javnost_in_bolnike/osnovna_dejstva_o_raku/kaj_je_rak
13.10.2010
- (2) http://www.onko-i.si/za_javnost_in_bolnike/osnovna_dejstva_o_raku/tipi_raka/index.html
13.10.2010
- (3) Novaković S., Hočevar M., Jezeršek Novaković B. :Onkologija:raziskovanje, diagnostika in zdravljenje raka, Ljubljana: Mladinska knjiga, 2009:24-26 in 28 in 322-324 in 328-330 in 315-319
- (4) Statistični urad republike Slovenije:
http://www.stat.si/novica_prikazi.aspx?id=2196 23.9.2010
- (5) Osredkar J.: Izbrana poglavja iz klinične biokemije, Ljubljana: Fakulteta za farmacijo, 2008: 92-105
- (6) http://www.labtestsonline.org/understanding/analytes/tumor_markers/glance-2.html
- (7) <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Detection/tumor-markers> 25.9.2010
- (8) Štiblar Martinčič D., Cör A., Cvetko E., Marš T., Legan M.: Anatomija, Histologija, Fiziologija 2. izdaja, Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, 2008: 130-131 in 140-141 in 131-132
- (9) <http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/1-2000-novakovic.pdf>
28.9.2010
- (10) <http://office.microsoft.com/sl-si/excel-help/orodja-za-statisticno-analizo-HP005203873.aspx> 12.11.2010

(11) http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/LP_2007.pdf

20.10.2010

(12) Dia Sorin LIAISON® CEA (REF 314311)

9. PRILOGA

Tabela, ki prikazuje datum rojstva, spol, vrednosti koncentracij CEA v serumu in status pacientov:

Pacient	Datum rojstva	Spol	S-CEA	Status
1	25.04.1946	M	0,2	
2	15.12.1936	M	0,2	
3	20.10.1957	Ž	0,2	
4	24.02.1941	Ž	0,2	
5	22.08.1941	M	0,2	
6	17.05.1938	M	0,2	
7	23.10.1937	M	0,2	
8	30.04.1947	Ž	0,2	
9	13.04.1956	M	0,2	
10	27.01.1951	M	0,2	
11	18.05.1966	M	0,2	
12	10.12.1946	Ž	0,2	
13	05.11.1958	M	0,2	
14	16.12.1932	M	0,2	
15	21.06.1980	Ž	0,2	
16	17.05.1934	Ž	0,2	
17	19.10.1962	Ž	0,2	
18	02.05.1958	Ž	0,2	
19	19.06.1949	M	0,2	
20	22.09.1947	M	0,2	
21	10.02.1931	M	0,2	
22	20.09.1957	M	0,2	
23	19.10.1947	M	0,2	
24	16.03.1972	M	0,2	
25	17.02.1935	Ž	0,2	
26	05.01.1964	Ž	0,2	
27	21.03.1926	Ž	0,2	
28	16.07.1973	M	0,2	
29	11.05.1935	Ž	0,2	
30	11.11.1985	Ž	0,2	
31	19.09.1965	M	0,2	
32	20.11.1931	M	0,2	
33	04.06.1974	M	0,2	
34	14.06.1944	M	0,2	
35	01.08.1935	M	0,2	
36	22.06.1929	M	0,2	
37	01.01.1937	Ž	0,2	
38	02.11.1964	Ž	0,2	
39	25.09.1957	Ž	0,2	
40	22.07.1941	Ž	0,2	
41	04.08.1981	Ž	0,2	
42	24.07.1931	Ž	0,2	
43	05.12.1955	Ž	0,2	
44	28.05.1954	Ž	0,2	
45	27.05.1967	Ž	0,2	
46	12.12.1951	Ž	0,2	
47	09.11.1960	Ž	0,2	
48	03.01.1953	Ž	0,2	
49	17.03.1980	Ž	0,2	
50	29.07.1959	M	0,2	

Pacient	Datum rojstva	spol	S-CEA	Status
1222	04.01.1935	M	2,0	
1223	23.03.1939	Ž	2,0	
1224	26.10.1929	M	2,0	
1225	08.01.1935	M	2,1	
1226	24.02.1922	Ž	2,1	
1227	09.10.1930	M	2,1	
1228	12.06.1951	Ž	2,1	
1229	30.10.1941	Ž	2,1	
1230	17.06.1964	Ž	2,1	
1231	04.09.1945	Ž	2,1	
1232	09.10.1939	Ž	2,1	
1233	11.09.1926	Ž	2,1	
1234	29.05.1940	Ž	2,1	
1235	30.05.1955	M	2,1	
1236	29.03.1953	Ž	2,1	
1237	16.04.1921	Ž	2,1	
1238	24.07.1983	Ž	2,1	
1239	13.02.1937	M	2,1	
1240	26.02.1940	M	2,1	
1241	04.06.1926	M	2,1	
1242	07.08.1939	M	2,1	
1243	01.01.1958	Ž	2,1	
1244	01.09.1953	M	2,1	
1245	31.08.1934	M	2,1	
1246	29.03.1933	Ž	2,1	
1247	07.04.1934	M	2,1	
1248	29.01.1960	Ž	2,1	
1249	24.04.1922	Ž	2,1	
1250	17.03.1944	M	2,1	
1251	20.05.1946	M	2,1	
1252	11.10.1948	Ž	2,1	
1253	23.04.1943	M	2,1	
1254	10.12.1957	M	2,1	
1255	12.02.1958	M	2,1	
1256	20.02.1944	M	2,1	
1257	27.09.1939	M	2,1	
1258	22.08.1936	M	2,1	
1259	20.08.1930	M	2,1	
1260	20.07.1934	Ž	2,1	
1261	13.09.1951	M	2,1	
1262	27.02.1969	M	2,1	
1263	21.07.1944	M	2,1	
1264	12.10.1923	Ž	2,1	
1265	16.06.1948	M	2,1	
1266	06.08.1932	M	2,1	
1267	22.07.1923	Ž	2,1	
1268	14.08.1923	Ž	2,1	
1269	28.06.1938	M	2,1	
1270	20.10.1931	Ž	2,1	
1271	30.09.1964	Ž	2,1	

51	22.08.1954	M	0,2	
52	27.01.1984	Ž	0,2	
53	28.06.1933	M	0,2	
54	18.10.1965	Ž	0,2	
55	10.08.1967	M	0,2	
56	10.08.1948	M	0,2	
57	26.09.1937	Ž	0,2	
58	14.06.1958	Ž	0,2	
59	11.07.1926	Ž	0,2	
60	25.07.1949	M	0,2	
61	21.08.1946	Ž	0,2	
62	02.11.1973	Ž	0,2	
63	22.11.1949	Ž	0,2	
64	22.05.1971	Ž	0,2	
65	04.04.1940	Ž	0,2	
66	04.04.1940	Ž	0,2	
67	17.05.1967	Ž	0,2	
68	17.05.1967	Ž	0,2	
69	28.03.1948	Ž	0,2	
70	24.08.1949	M	0,2	
71	29.11.1948	Ž	0,2	
72	09.07.1987	Ž	0,2	
73	16.06.1948	Ž	0,2	
74	10.08.1958	Ž	0,2	
75	20.07.1935	Ž	0,2	
76	30.05.1965	Ž	0,2	
77	06.11.1961	M	0,2	
78	05.07.1945	Ž	0,2	
79	14.08.1962	M	0,2	
80	14.08.1962	M	0,2	
81	11.10.1961	Ž	0,2	
82	07.09.1930	M	0,2	
83	07.09.1930	M	0,2	
84	12.02.1967	Ž	0,2	
85	09.05.1960	M	0,2	
86	02.03.1937	Ž	0,2	
87	06.03.1970	Ž	0,2	
88	05.07.1936	Ž	0,2	
89	01.05.1970	Ž	0,2	
90	01.07.1974	M	0,2	
91	18.11.1970	Ž	0,2	
92	03.06.1944	Ž	0,2	
93	18.04.1947	Ž	0,2	
94	21.09.1936	Ž	0,2	
95	31.03.1978	M	0,2	
96	20.12.1939	Ž	0,2	
97	19.05.1938	M	0,2	
98	19.03.1930	M	0,2	
99	15.12.1955	Ž	0,2	
100	15.12.1955	Ž	0,2	
101	10.08.1920	Ž	0,2	
102	20.11.1952	Ž	0,2	
103	22.10.1915	M	0,2	
104	18.12.1942	M	0,2	
105	05.04.1950	Ž	0,2	
106	24.10.1941	M	0,2	
107	06.09.1971	Ž	0,2	
108	09.09.1967	M	0,2	
109	07.03.1968	Ž	0,2	

1272	12.05.1946	M	2,1	
1273	18.05.1923	M	2,2	
1274	07.12.1960	Ž	2,2	
1275	17.03.1963	Ž	2,2	
1276	18.01.1958	Ž	2,2	
1277	25.03.1941	Ž	2,2	
1278	22.08.1940	M	2,2	
1279	22.12.1934	Ž	2,2	
1280	28.01.1954	Ž	2,2	
1281	22.01.1959	M	2,2	
1282	29.08.1956	Ž	2,2	
1283	29.08.1936	Ž	2,2	
1284	20.12.1937	M	2,2	
1285	01.09.1941	Ž	2,2	
1286	06.11.1948	Ž	2,2	
1287	31.08.1943	Ž	2,2	
1288	31.07.1933	Ž	2,2	
1289	17.12.1958	M	2,2	
1290	13.07.1937	Ž	2,2	
1291	15.07.1934	M	2,2	
1292	01.01.1928	Ž	2,2	
1293	17.01.1974	Ž	2,2	
1294	22.04.1944	M	2,2	
1295	25.11.1951	Ž	2,2	
1296	28.04.1949	Ž	2,2	
1297	20.02.1950	M	2,2	
1298	19.08.1942	Ž	2,2	
1299	25.02.1937	M	2,2	
1300	15.04.1958	Ž	2,2	
1301	23.07.1947	M	2,2	
1302	26.02.1935	Ž	2,2	
1303	06.08.1939	Ž	2,2	
1304	17.02.1934	Ž	2,2	
1305	05.03.1929	Ž	2,2	
1306	24.12.1928	Ž	2,2	
1307	29.01.1930	Ž	2,2	
1308	23.10.1929	M	2,2	
1309	27.07.1949	Ž	2,2	
1310	25.02.1957	M	2,2	
1311	20.02.1944	M	2,2	
1312	22.04.1925	M	2,2	
1313	05.08.1928	Ž	2,2	
1314	19.12.1945	M	2,2	
1315	30.10.1946	Ž	2,2	
1316	02.09.1948	M	2,2	
1317	26.10.1951	Ž	2,2	
1318	16.04.1950	M	2,2	
1319	21.09.1946	M	2,2	
1320	26.02.1927	Ž	2,2	
1321	23.01.1942	M	2,2	
1322	07.05.1925	M	2,2	
1323	28.04.1935	Ž	2,2	
1324	26.08.1937	M	2,2	
1325	27.10.1938	Ž	2,2	
1326	04.01.1935	M	2,2	
1327	05.11.1936	M	2,2	
1328	03.10.1952	Ž	2,3	
1329	19.04.1947	Ž	2,3	
1330	08.02.1970	Ž	2,3	

110	07.12.1979	Ž	0,2	
111	26.03.1969	M	0,2	
112	21.07.1971	M	0,2	
113	26.03.1967	Ž	0,2	
114	10.12.1962	Ž	0,2	
115	31.10.1946	M	0,2	
116	11.10.1942	Ž	0,2	
117	14.11.1946	Ž	0,2	
118	06.08.1956	Ž	0,2	
119	11.06.1954	Ž	0,2	
120	29.09.1968	Ž	0,2	
121	06.10.1954	Ž	0,2	
122	21.06.1964	M	0,3	
123	01.01.1222	M	0,3	
124	29.11.1923	Ž	0,3	
125	26.04.1970	Ž	0,3	
126	10.10.1952	M	0,3	
127	30.04.1932	Ž	0,3	
128	03.04.1928	Ž	0,3	
129	27.05.1934	Ž	0,3	
130	24.12.1939	M	0,3	
131	20.12.1961	Ž	0,3	
132	13.11.1934	M	0,3	
133	09.05.1953	Ž	0,3	
134	04.02.1957	Ž	0,3	
135	23.10.1942	Ž	0,3	
136	06.04.1968	M	0,3	
137	30.07.1957	Ž	0,3	
138	03.04.1931	Ž	0,3	
139	16.12.1933	M	0,3	
140	13.01.1933	M	0,3	
141	05.03.1955	M	0,3	
142	11.04.1948	Ž	0,3	
143	21.08.1946	Ž	0,3	
144	17.04.1934	Ž	0,3	
145	11.02.1933	Ž	0,3	
146	05.07.1937	M	0,3	
147	11.04.1981	Ž	0,3	
148	20.03.1969	Ž	0,3	
149	25.04.1965	Ž	0,3	
150	01.01.1931	M	0,3	
151	08.04.1941	M	0,3	
152	05.11.1964	Ž	0,3	
153	02.04.1950	Ž	0,3	
154	14.08.1944	Ž	0,3	
155	24.02.1969	M	0,3	
156	19.09.1958	Ž	0,3	
157	09.12.1947	Ž	0,3	
158	24.09.1937	M	0,3	
159	08.09.1958	Ž	0,3	
160	29.07.1971	Ž	0,3	
161	07.03.1968	Ž	0,3	
162	13.04.1958	Ž	0,3	
163	25.06.1991	Ž	0,3	
164	07.12.1949	Ž	0,3	
165	13.08.1927	Ž	0,3	
166	15.06.1938	Ž	0,3	
167	09.06.1939	M	0,4	
168	23.07.1971	M	0,4	

1331	15.08.1935	M	2,3	
1332	08.11.1922	Ž	2,3	
1333	07.08.1930	Ž	2,3	
1334	06.05.1926	Ž	2,3	
1335	02.11.1949	Ž	2,3	
1336	25.02.1951	M	2,3	
1337	20.07.1941	Ž	2,3	
1338	26.12.1961	Ž	2,3	
1339	17.02.1929	M	2,3	
1340	02.10.1949	Ž	2,3	
1341	12.04.1922	M	2,3	
1342	31.03.1956	Ž	2,3	
1343	04.04.1937	M	2,3	
1344	15.01.1950	Ž	2,3	
1345	16.01.1941	M	2,3	
1346	01.10.1925	Ž	2,3	
1347	25.09.1929	M	2,3	
1348	18.03.1958	M	2,3	
1349	07.05.1962	M	2,3	
1350	26.06.1954	M	2,3	
1351	02.09.1951	Ž	2,3	
1352	24.08.1942	Ž	2,3	
1353	27.01.1947	Ž	2,3	
1354	23.07.1946	M	2,3	
1355	26.02.1952	M	2,3	
1356	31.07.1934	Ž	2,3	
1357	13.11.1950	M	2,3	
1358	22.07.1959	M	2,3	
1359	05.06.1930	Ž	2,3	
1360	01.12.1959	Ž	2,3	
1361	19.06.1929	Ž	2,3	
1362	05.02.1937	M	2,3	
1363	04.04.1952	Ž	2,3	
1364	04.04.1952	M	2,3	
1365	09.09.1913	Ž	2,3	
1366	08.01.1950	Ž	2,3	
1367	12.05.1925	Ž	2,3	
1368	08.07.1969	Ž	2,3	
1369	05.05.1936	Ž	2,3	
1370	06.08.1939	Ž	2,3	
1371	23.09.1936	Ž	2,3	
1372	04.12.1949	Ž	2,3	
1373	23.06.1937	M	2,3	
1374	21.05.1933	Ž	2,3	
1375	27.07.1949	Ž	2,3	
1376	12.06.1954	M	2,3	
1377	03.12.1934	M	2,3	
1378	22.01.1964	M	2,3	
1379	15.02.1952	Ž	2,3	
1380	28.06.1921	Ž	2,3	
1381	30.04.1951	M	2,3	
1382	03.05.1942	Ž	2,3	
1383	30.05.1942	Ž	2,3	
1384	07.06.1938	Ž	2,3	
1385	07.04.1958	Ž	2,3	
1386	23.08.1966	Ž	2,3	
1387	07.06.1959	M	2,3	
1388	18.06.1948	Ž	2,3	
1389	20.09.1948	M	2,3	

169	04.12.1948	M	0,4	
170	19.03.1969	M	0,4	
171	16.12.1932	M	0,4	
172	01.09.1929	Ž	0,4	
173	31.05.1940	M	0,4	
174	01.04.1957	Ž	0,4	
175	29.05.1965	Ž	0,4	
176	09.12.1924	M	0,4	
177	04.08.1968	M	0,4	
178	22.11.1944	Ž	0,4	
179	01.03.1944	Ž	0,4	
180	01.01.1949	Ž	0,4	
181	19.07.1949	Ž	0,4	
182	17.01.1965	Ž	0,4	
183	27.10.1953	Ž	0,4	
184	01.01.1940	Ž	0,4	
185	03.03.1952	M	0,4	
186	29.02.1936	M	0,4	
187	30.08.1931	Ž	0,4	
188	22.06.1946	M	0,4	
189	15.10.1967	Ž	0,4	
190	06.05.1967	Ž	0,4	
191	21.11.1958	Ž	0,4	
192	11.04.1983	Ž	0,4	
193	08.04.1916	M	0,4	
194	01.11.1965	Ž	0,4	
195	23.11.1928	M	0,4	
196	04.04.1940	Ž	0,4	
197	04.04.1940	Ž	0,4	
198	07.11.1960	Ž	0,4	
199	16.09.1962	Ž	0,4	
200	07.03.1933	Ž	0,4	
201	07.01.1943	Ž	0,4	
202	17.02.1953	Ž	0,4	
203	17.12.1959	Ž	0,4	
204	20.11.1948	M	0,4	
205	10.02.1941	M	0,4	
206	07.08.1930	Ž	0,4	
207	25.08.1951	Ž	0,4	
208	01.03.1942	Ž	0,4	
209	23.01.1932	M	0,4	
210	05.01.1937	M	0,4	
211	24.01.1962	Ž	0,4	
212	26.04.1948	Ž	0,4	
213	16.02.1941	M	0,4	
214	07.05.1942	Ž	0,4	
215	02.03.1955	M	0,4	
216	09.10.1949	Ž	0,4	
217	11.11.1935	Ž	0,4	
218	07.12.1949	M	0,4	
219	11.11.1111	Ž	0,4	
220	18.10.1976	M	0,4	
221	20.08.1947	Ž	0,4	
222	21.09.1977	Ž	0,4	
223	29.03.1978	Ž	0,5	
224	16.04.1940	M	0,5	
225	23.09.1939	Ž	0,5	
226	14.02.1930	M	0,5	
227	28.01.1194	M	0,5	

1390	21.03.1936	Ž	2,3	
1391	13.06.1950	Ž	2,3	
1392	22.12.1965	Ž	2,3	
1393	22.04.1938	M	2,3	
1394	23.07.1941	Ž	2,3	
1395	10.01.1925	M	2,3	
1396	28.05.1941	Ž	2,3	
1397	02.05.1933	M	2,3	
1398	25.02.1941	Ž	2,4	
1399	05.09.1959	M	2,4	
1400	23.12.1966	M	2,4	
1401	09.09.1935	M	2,4	
1402	12.05.1928	M	2,4	
1403	06.05.1941	Ž	2,4	
1404	29.03.1963	M	2,4	
1405	22.08.1940	M	2,4	
1406	10.12.1946	Ž	2,4	
1407	06.04.1928	M	2,4	
1408	29.05.1936	M	2,4	
1409	02.08.1917	Ž	2,4	
1410	28.03.1938	M	2,4	
1411	05.03.1949	M	2,4	
1412	15.07.1931	Ž	2,4	
1413	24.03.1935	M	2,4	
1414	10.09.1961	Ž	2,4	
1415	20.05.1959	Ž	2,4	
1416	16.01.1939	M	2,4	
1417	06.01.1942	Ž	2,4	
1418	18.07.1931	M	2,4	
1419	02.11.1943	Ž	2,4	
1420	07.04.1968	M	2,4	
1421	12.10.1946	M	2,4	
1422	05.07.1937	Ž	2,4	
1423	02.10.1953	M	2,4	
1424	08.12.1941	M	2,4	
1425	04.11.1950	M	2,4	
1426	22.09.1936	M	2,4	
1427	10.08.1948	Ž	2,4	
1428	26.11.1952	M	2,4	
1429	02.12.1923	Ž	2,4	
1430	24.11.1923	M	2,4	
1431	24.11.1923	M	2,4	
1432	21.09.1927	Ž	2,4	
1433	09.11.1960	M	2,4	
1434	09.08.1952	M	2,4	
1435	09.09.1913	Ž	2,4	
1436	21.09.1939	Ž	2,4	
1437	20.06.1942	Ž	2,4	
1438	01.07.1926	Ž	2,4	
1439	17.12.1953	M	2,4	
1440	06.01.1932	M	2,4	
1441	21.04.1959	M	2,4	
1442	08.12.1924	M	2,4	
1443	23.02.1942	M	2,4	
1444	23.02.1942	Ž	2,4	
1445	02.03.1966	M	2,4	
1446	01.01.1931	Ž	2,4	
1447	04.06.1963	M	2,4	
1448	08.05.1952	Ž	2,4	

228	08.11.1936	Ž	0,5	
229	12.05.1931	M	0,5	
230	05.04.1955	Ž	0,5	
231	01.10.1983	M	0,5	
232	19.09.1985	Ž	0,5	
233	18.08.1927	Ž	0,5	
234	17.04.1951	Ž	0,5	
235	12.10.1962	M	0,5	
236	02.04.1947	M	0,5	
237	27.08.1962	M	0,5	
238	03.04.1928	Ž	0,5	
239	21.08.1948	M	0,5	
240	07.12.1958	Ž	0,5	
241	29.01.1957	M	0,5	
242	10.02.1956	M	0,5	
243	24.11.1928	Ž	0,5	
244	21.05.1924	M	0,5	
245	30.07.1975	Ž	0,5	
246	31.05.1950	M	0,5	
247	17.01.1961	Ž	0,5	
248	18.07.1931	Ž	0,5	
249	07.07.1962	M	0,5	
250	12.11.1966	M	0,5	
251	16.05.1940	Ž	0,5	
252	24.02.1970	Ž	0,5	
253	18.03.1956	Ž	0,5	
254	13.08.1928	Ž	0,5	
255	16.08.1956	Ž	0,5	
256	14.03.1937	M	0,5	
257	20.08.1957	M	0,5	
258	04.12.1952	Ž	0,5	
259	19.06.1948	M	0,5	
260	22.02.1938	Ž	0,5	
261	28.12.1951	Ž	0,5	
262	28.07.1968	Ž	0,5	
263	15.03.1964	M	0,5	
264	16.06.1948	Ž	0,5	
265	10.08.1958	Ž	0,5	
266	22.08.1949	Ž	0,5	
267	30.11.1958	M	0,5	
268	07.01.1943	Ž	0,5	
269	17.11.1939	M	0,5	
270	04.08.1949	Ž	0,5	
271	21.05.1933	Ž	0,5	
272	02.06.1939	Ž	0,5	
273	12.03.1931	M	0,5	
274	25.08.1951	Ž	0,5	
275	07.09.1950	Ž	0,5	
276	02.07.1943	M	0,5	
277	17.01.1934	Ž	0,5	
278	08.08.1964	Ž	0,5	
279	13.03.1956	Ž	0,5	
280	10.10.1951	M	0,5	
281	09.09.1945	Ž	0,5	
282	14.11.1946	Ž	0,5	
283	23.05.1968	M	0,5	
284	23.06.1941	M	0,5	
285	02.01.1955	Ž	0,6	
286	25.02.1960	Ž	0,6	

1449	27.09.1939	M	2,4	
1450	25.01.1944	Ž	2,4	
1451	21.10.1931	Ž	2,4	
1452	09.08.1947	M	2,4	
1453	18.03.1947	M	2,4	
1454	12.10.1940	Ž	2,4	
1455	01.08.1932	M	2,4	
1456	15.09.1940	M	2,4	
1457	10.06.1951	Ž	2,4	
1458	09.06.1940	Ž	2,4	
1459	05.10.1926	Ž	2,4	
1460	23.07.1941	M	2,4	
1461	07.05.1925	M	2,4	
1462	19.07.1940	M	2,4	
1463	10.11.1946	Ž	2,4	
1464	29.01.1927	M	2,4	
1465	12.03.1930	M	2,4	
1466	07.10.1956	M	2,4	
1467	18.05.1944	M	2,4	
1468	20.04.1943	M	2,4	
1469	26.06.1943	M	2,5	
1470	14.05.1929	M	2,5	
1471	08.01.1944	M	2,5	
1472	31.08.1947	M	2,5	
1473	03.06.1979	M	2,5	
1474	17.10.1936	M	2,5	
1475	25.07.1957	Ž	2,5	
1476	16.05.1935	M	2,5	
1477	18.06.1931	Ž	2,5	
1478	23.05.1919	Ž	2,5	
1479	15.02.1933	Ž	2,5	
1480	26.07.1948	Ž	2,5	
1481	28.04.1951	Ž	2,5	
1482	06.07.1926	Ž	2,5	
1483	17.10.1935	M	2,5	
1484	15.09.1963	M	2,5	
1485	22.07.1928	M	2,5	
1486	08.05.1943	M	2,5	
1487	17.10.1936	M	2,5	
1488	18.05.1955	M	2,5	
1489	11.11.1958	Ž	2,5	RAK
1490	12.08.1937	M	2,5	
1491	07.04.1936	M	2,5	
1492	05.07.1937	Ž	2,5	
1493	08.11.1946	M	2,5	
1494	26.10.1954	Ž	2,5	
1495	23.07.1964	Ž	2,5	
1496	10.11.1953	M	2,5	
1497	21.03.1961	Ž	2,5	
1498	21.03.1961	Ž	2,5	
1499	02.12.1923	Ž	2,5	
1500	24.11.1931	M	2,5	
1501	17.03.1944	M	2,5	
1502	28.10.1932	Ž	2,5	
1503	23.03.1947	M	2,5	
1504	29.03.1929	M	2,5	
1505	30.10.1954	M	2,5	
1506	09.03.1972	Ž	2,5	
1507	16.05.1938	M	2,5	

287	21.12.1938	Ž	0,6	
288	07.03.1947	Ž	0,6	
289	27.06.1972	Ž	0,6	
290	02.07.1954	Ž	0,6	
291	04.08.1933	M	0,6	
292	30.03.1970	Ž	0,6	
293	11.09.1970	M	0,6	
294	19.01.1978	Ž	0,6	
295	25.07.1965	M	0,6	
296	11.12.1967	M	0,6	
297	18.10.1968	Ž	0,6	
298	12.03.1963	M	0,6	
299	21.03.1929	Ž	0,6	
300	09.05.1955	Ž	0,6	
301	15.04.1927	Ž	0,6	
302	26.03.1934	Ž	0,6	
303	22.12.1948	Ž	0,6	
304	09.10.1941	Ž	0,6	
305	19.01.1944	Ž	0,6	
306	22.12.1957	Ž	0,6	
307	13.03.1936	M	0,6	
308	21.06.1940	Ž	0,6	
309	06.09.1953	Ž	0,6	
310	27.08.1957	M	0,6	
311	09.01.1953	M	0,6	
312	19.04.1922	Ž	0,6	
313	07.03.1955	M	0,6	
314	07.12.1967	Ž	0,6	
315	01.04.1924	Ž	0,6	
316	11.04.1948	Ž	0,6	
317	21.08.1946	Ž	0,6	
318	22.11.1949	Ž	0,6	
319	27.10.1961	M	0,6	
320	04.11.1944	Ž	0,6	
321	01.01.1222	M	0,6	
322	05.01.1964	Ž	0,6	
323	10.11.1938	M	0,6	
324	01.02.1944	M	0,6	
325	01.02.1944	M	0,6	
326	27.04.1970	Ž	0,6	
327	25.09.1923	Ž	0,6	
328	01.04.1935	M	0,6	
329	29.09.1959	M	0,6	
330	10.01.1963	Ž	0,6	
331	13.11.1955	Ž	0,6	
332	01.08.1943	M	0,6	
333	14.12.1968	M	0,6	
334	28.01.1971	Ž	0,6	
335	15.11.1965	M	0,6	
336	16.05.1957	Ž	0,6	
337	10.11.1950	M	0,6	
338	06.11.1942	M	0,6	
339	02.07.1932	Ž	0,6	
340	15.02.1932	Ž	0,6	
341	12.02.1971	Ž	0,6	
342	30.08.1983	M	0,6	
343	18.10.1927	Ž	0,6	
344	30.08.1932	M	0,6	
345	01.01.1222	M	0,6	

1508	25.08.1946	M	2,5	
1509	21.11.1920	M	2,5	
1510	23.05.1969	M	2,5	
1511	03.02.1932	M	2,5	
1512	21.04.1926	M	2,5	
1513	08.03.1937	Ž	2,5	
1514	15.05.1986	M	2,5	
1515	26.10.1951	M	2,5	
1516	29.08.1922	Ž	2,5	
1517	25.09.1963	M	2,5	
1518	21.03.1936	Ž	2,5	
1519	16.11.1931	Ž	2,5	
1520	06.10.1921	M	2,5	
1521	08.04.1920	M	2,5	
1522	28.06.1945	M	2,5	
1523	28.06.1945	Ž	2,5	
1524	09.05.1937	Ž	2,5	
1525	07.04.1944	M	2,5	
1526	07.10.1956	M	2,5	
1527	14.04.1974	M	2,5	
1528	17.11.1944	M	2,6	
1529	06.10.1962	M	2,6	
1530	17.04.1928	Ž	2,6	
1531	25.02.1948	Ž	2,6	
1532	02.01.1943	M	2,6	
1533	29.09.1933	M	2,6	
1534	23.04.1934	M	2,6	
1535	28.12.1943	Ž	2,6	
1536	18.09.1922	M	2,6	
1537	10.10.1930	M	2,6	
1538	02.08.1942	M	2,6	RAK
1539	06.09.1930	Ž	2,6	
1540	15.07.1944	Ž	2,6	
1541	10.10.1933	Ž	2,6	
1542	09.11.1943	M	2,6	
1543	14.06.1956	M	2,6	
1544	21.05.1935	Ž	2,6	RAK
1545	04.01.1955	Ž	2,6	
1546	11.09.1937	M	2,6	
1547	27.04.1981	M	2,6	
1548	06.10.1959	M	2,6	
1549	12.03.1931	M	2,6	
1550	03.07.1921	Ž	2,6	
1551	27.01.1965	M	2,6	
1552	30.01.1930	M	2,6	
1553	21.11.1936	Ž	2,6	
1554	22.04.1960	M	2,6	
1555	03.10.1936	M	2,6	
1556	26.10.1962	M	2,6	
1557	29.03.1933	M	2,6	
1558	23.02.1942	M	2,6	
1559	05.07.1977	Ž	2,6	
1560	18.05.1938	M	2,6	
1561	26.07.1938	Ž	2,6	
1562	28.09.1939	M	2,6	
1563	24.01.1924	Ž	2,6	
1564	28.01.1952	Ž	2,6	
1565	21.03.1936	Ž	2,6	
1566	25.06.1935	Ž	2,6	

346	28.11.1944	Ž	0,6
347	01.01.1963	Ž	0,6
348	17.10.1940	Ž	0,6
349	09.09.1967	Ž	0,6
350	31.07.1939	M	0,7
351	24.03.1942	Ž	0,7
352	02.10.1944	M	0,7
353	30.04.1947	Ž	0,7
354	14.08.1936	M	0,7
355	05.03.1932	Ž	0,7
356	10.08.1970	M	0,7
357	26.01.1931	M	0,7
358	22.10.1941	Ž	0,7
359	10.11.1951	M	0,7
360	11.08.1958	Ž	0,7
361	26.06.1925	Ž	0,7
362	25.10.1937	Ž	0,7
363	12.01.1938	Ž	0,7
364	19.03.1948	M	0,7
365	01.03.1944	Ž	0,7
366	15.05.1932	Ž	0,7
367	09.11.1940	Ž	0,7
368	03.03.1955	M	0,7
369	08.03.1959	M	0,7
370	06.07.1942	M	0,7
371	23.10.1984	Ž	0,7
372	26.03.1934	Ž	0,7
373	15.12.1933	Ž	0,7
374	30.06.1953	M	0,7
375	11.05.1974	M	0,7
376	21.10.1948	Ž	0,7
377	18.10.1938	M	0,7
378	29.05.1981	M	0,7
379	08.02.1930	M	0,7
380	03.04.1963	M	0,7
381	19.01.1940	Ž	0,7
382	11.11.1962	Ž	0,7
383	24.08.1973	Ž	0,7
384	24.02.1926	M	0,7
385	05.01.1975	Ž	0,7
386	05.11.1920	M	0,7
387	21.11.1933	M	0,7
388	10.10.1935	M	0,7
389	03.03.1977	Ž	0,7
390	01.01.1222	Ž	0,7
391	02.06.1955	Ž	0,7
392	12.11.1970	Ž	0,7
393	17.02.1935	Ž	0,7
394	15.02.1940	M	0,7
395	21.05.1933	Ž	0,7
396	21.05.1933	Ž	0,7
397	11.11.1934	M	0,7
398	10.04.1941	Ž	0,7
399	12.07.1947	Ž	0,7
400	06.04.1952	M	0,7
401	03.08.1928	Ž	0,7
402	28.10.1962	Ž	0,7
403	17.08.1942	M	0,7
404	12.05.1955	Ž	0,7

1567	20.03.1971	M	2,6
1568	02.12.1966	Ž	2,6
1569	18.05.1944	M	2,6
1570	21.10.1946	M	2,6
1571	25.05.1942	M	2,6
1572	11.10.1939	M	2,7
1573	21.10.1933	M	2,7
1574	31.05.1923	M	2,7
1575	24.12.1952	Ž	2,7
1576	25.02.1945	Ž	2,7
1577	26.09.1942	M	2,7
1578	24.10.1939	Ž	2,7
1579	14.12.1935	M	2,7
1580	16.11.1942	M	2,7
1581	16.07.1938	M	2,7
1582	06.06.1926	Ž	2,7
1583	17.09.1934	M	2,7
1584	26.07.1934	M	2,7
1585	02.10.1923	Ž	2,7
1586	15.04.1935	M	2,7
1587	12.06.1932	M	2,7
1588	26.04.1963	M	2,7
1589	30.08.1937	Ž	2,7
1590	22.08.1941	Ž	2,7
1591	15.05.1932	M	2,7
1592	28.10.1951	M	2,7
1593	27.07.1924	Ž	2,7
1594	24.03.1938	M	2,7
1595	19.06.1947	M	2,7
1596	25.02.1927	Ž	2,7
1597	30.08.1936	M	2,7
1598	17.10.1943	M	2,7
1599	02.06.1928	M	2,7
1600	27.04.1933	Ž	2,7
1601	21.02.1935	Ž	2,7
1602	06.12.1932	Ž	2,7
1603	21.05.1933	Ž	2,7
1604	02.01.1927	Ž	2,7
1605	14.03.1934	M	2,7
1606	02.11.1970	M	2,7
1607	10.02.1934	M	2,7
1608	06.10.1941	M	2,7
1609	16.05.1924	Ž	2,7
1610	28.06.1932	M	2,7
1611	30.09.1953	Ž	2,7
1612	01.06.1197	Ž	2,7
1613	07.03.1937	Ž	2,7
1614	18.05.1944	M	2,7
1615	25.05.1942	Ž	2,7
1616	26.09.1931	Ž	2,8
1617	24.09.1938	Ž	2,8
1618	01.02.1936	Ž	2,8
1619	16.10.1922	M	2,8
1620	26.07.1946	M	2,8
1621	16.01.1943	M	2,8
1622	26.10.1953	M	2,8
1623	12.07.1944	M	2,8
1624	15.06.1928	M	2,8
1625	15.11.1952	M	2,8

405	25.11.1952	Ž	0,7	
406	29.05.1967	M	0,7	
407	16.02.1941	M	0,7	
408	28.01.1941	Ž	0,7	
409	22.12.1941	Ž	0,7	
410	27.08.1942	Ž	0,7	
411	04.11.1957	Ž	0,7	
412	12.08.1938	Ž	0,7	
413	02.09.1964	Ž	0,8	
414	04.10.1946	M	0,8	
415	19.09.1947	Ž	0,8	
416	25.06.1941	Ž	0,8	
417	24.11.1969	Ž	0,8	
418	02.02.1222	M	0,8	
419	14.12.1952	Ž	0,8	
420	27.12.1967	Ž	0,8	
421	25.01.1932	Ž	0,8	
422	16.01.1958	Ž	0,8	
423	17.10.1940	M	0,8	
424	13.01.1926	Ž	0,8	
425	16.09.1950	M	0,8	
426	14.06.1950	M	0,8	
427	15.12.1933	Ž	0,8	
428	14.08.1927	Ž	0,8	
429	21.10.1959	Ž	0,8	
430	08.03.1980	Ž	0,8	
431	19.08.1955	Ž	0,8	
432	26.12.1944	M	0,8	
433	04.04.1954	Ž	0,8	
434	04.04.1943	Ž	0,8	
435	10.04.1938	Ž	0,8	
436	02.02.1937	Ž	0,8	
437	21.05.1930	M	0,8	
438	09.08.1960	Ž	0,8	
439	18.03.1956	Ž	0,8	
440	15.05.1951	M	0,8	
441	14.09.1949	M	0,8	
442	21.11.1939	M	0,8	
443	07.04.1951	Ž	0,8	
444	01.03.1954	Ž	0,8	
445	21.11.1933	M	0,8	
446	22.11.1933	M	0,8	
447	24.08.1941	M	0,8	
448	16.10.1940	Ž	0,8	
449	13.03.1945	Ž	0,8	
450	05.09.1929	M	0,8	
451	11.01.1943	M	0,8	
452	11.05.1954	M	0,8	
453	11.05.1954	Ž	0,8	
454	26.02.1952	Ž	0,8	
455	14.09.1946	Ž	0,8	
456	02.09.1940	Ž	0,8	
457	31.01.1968	Ž	0,8	
458	25.01.1925	Ž	0,8	
459	10.08.1959	Ž	0,8	
460	14.06.1972	Ž	0,8	
461	03.05.1964	Ž	0,8	
462	20.01.1929	Ž	0,8	
463	14.04.1960	M	0,8	

1626	24.01.1933	Ž	2,8	
1627	17.11.1953	M	2,8	
1628	12.04.1930	Ž	2,8	
1629	12.10.1941	Ž	2,8	
1630	07.01.1928	Ž	2,8	
1631	27.08.1935	M	2,8	
1632	22.09.1936	Ž	2,8	
1633	22.11.1933	M	2,8	
1634	22.11.1933	Ž	2,8	
1635	25.06.1938	Ž	2,8	
1636	15.01.1937	M	2,8	
1637	02.04.1962	Ž	2,8	
1638	09.12.1949	M	2,8	
1639	22.02.1944	Ž	2,8	
1640	31.08.1940	M	2,8	
1641	16.07.1954	Ž	2,8	
1642	16.11.1949	M	2,8	
1643	14.07.1938	Ž	2,8	
1644	06.01.1932	M	2,8	
1645	14.01.1952	Ž	2,8	
1646	30.04.1951	M	2,8	
1647	08.05.1952	Ž	2,8	
1648	11.01.1934	Ž	2,8	
1649	25.03.1947	M	2,8	
1650	14.04.1974	M	2,8	
1651	10.02.1924	Ž	2,9	
1652	04.05.1953	M	2,9	
1653	22.12.1951	M	2,9	
1654	18.12.1936	Ž	2,9	
1655	28.08.1932	Ž	2,9	
1656	03.02.1929	Ž	2,9	
1657	19.12.1932	Ž	2,9	RAK
1658	09.04.1958	M	2,9	
1659	14.11.1934	Ž	2,9	
1660	31.08.1938	Ž	2,9	
1661	22.05.1954	Ž	2,9	
1662	29.03.1942	Ž	2,9	
1663	18.06.1939	M	2,9	
1664	01.03.1935	M	2,9	
1665	14.11.1938	M	2,9	
1666	01.02.1951	Ž	2,9	
1667	15.01.1937	Ž	2,9	
1668	30.03.1972	M	2,9	
1669	22.11.1947	Ž	2,9	
1670	25.06.1944	M	2,9	
1671	06.01.1932	M	2,9	
1672	25.06.1946	M	2,9	
1673	04.06.1963	M	2,9	
1674	07.04.1944	M	2,9	
1675	25.11.1951	Ž	2,9	
1676	06.04.1966	Ž	2,9	
1677	27.01.1954	M	2,9	
1678	15.07.1946	Ž	2,9	
1679	04.11.1958	M	2,9	
1680	18.03.1929	M	2,9	
1681	19.06.1935	Ž	2,9	
1682	08.11.1931	M	2,9	
1683	03.02.1941	Ž	3,0	
1684	12.04.1943	Ž	3,0	

464	11.05.1982	Ž	0,8
465	27.03.1968	M	0,8
466	12.03.1936	Ž	0,8
467	01.01.1931	M	0,8
468	08.02.1954	Ž	0,8
469	01.07.1974	M	0,8
470	29.09.1925	M	0,8
471	29.09.1925	M	0,8
472	29.09.1925	M	0,8
473	29.09.1925	M	0,8
474	09.05.1948	Ž	0,8
475	22.11.1948	M	0,8
476	08.07.1966	M	0,8
477	22.10.1940	Ž	0,8
478	02.07.1950	M	0,8
479	18.04.1947	Ž	0,8
480	22.09.1941	M	0,8
481	06.06.1972	Ž	0,8
482	09.06.1930	Ž	0,8
483	11.11.1938	M	0,8
484	01.10.1938	M	0,8
485	06.01.1930	Ž	0,8
486	26.06.1931	M	0,8
487	24.06.1938	M	0,8
488	16.09.1930	M	0,9
489	24.11.1931	Ž	0,9
490	01.08.1947	Ž	0,9
491	06.10.1943	Ž	0,9
492	24.01.1944	M	0,9
493	23.03.1935	M	0,9
494	06.10.1954	Ž	0,9
495	27.04.1958	Ž	0,9
496	26.06.1959	Ž	0,9
497	12.07.1924	M	0,9
498	21.01.1954	Ž	0,9
499	29.12.1917	Ž	0,9
500	29.03.1924	Ž	0,9
501	08.02.1947	Ž	0,9
502	06.06.1956	Ž	0,9
503	08.12.1931	Ž	0,9
504	30.07.1945	M	0,9
505	10.03.1954	Ž	0,9
506	13.10.1935	Ž	0,9
507	07.01.1934	Ž	0,9
508	16.12.1961	Ž	0,9
509	07.06.1967	M	0,9
510	19.09.1939	Ž	0,9
511	13.01.1963	M	0,9
512	27.06.1962	Ž	0,9
513	11.09.1943	Ž	0,9
514	06.01.1945	M	0,9
515	25.08.1951	M	0,9
516	09.11.1972	Ž	0,9
517	17.12.1946	Ž	0,9
518	10.08.1948	Ž	0,9
519	10.08.1948	M	0,9
520	18.08.1946	M	0,9
521	20.02.1946	Ž	0,9
522	04.04.1944	Ž	0,9

1685	17.03.1963	M	3,0
1686	05.12.1946	M	3,0
1687	30.04.1943	M	3,0
1688	30.09.1955	M	3,0
1689	13.02.1947	Ž	3,0
1690	26.02.1922	Ž	3,0
1691	17.11.1937	Ž	3,0
1692	03.03.1948	M	3,0
1693	11.02.1960	M	3,0
1694	19.06.1955	Ž	3,0
1695	08.05.1928	M	3,0
1696	21.03.1961	Ž	3,0
1697	04.06.1943	Ž	3,0
1698	11.10.1949	M	3,0
1699	05.05.1938	M	3,0
1700	22.08.1949	M	3,0
1701	10.01.1926	Ž	3,0
1702	22.06.1922	M	3,0
1703	29.03.1983	Ž	3,0
1704	14.06.1930	Ž	3,0
1705	29.11.1942	M	3,0
1706	25.08.1922	Ž	3,0
1707	31.01.1929	M	3,0
1708	27.02.1937	M	3,0
1709	16.11.1931	Ž	3,0
1710	01.12.1925	Ž	3,0
1711	05.08.1927	M	3,0
1712	10.05.1952	M	3,0
1713	26.05.1943	Ž	3,0
1714	11.06.1933	Ž	3,0
1715	20.04.1943	M	3,0
1716	25.05.1942	M	3,0
1717	15.04.1967	Ž	3,1
1718	15.08.1928	Ž	3,1
1719	15.08.1954	M	3,1
1720	25.06.1946	Ž	3,1
1721	21.03.1939	Ž	3,1
1722	11.12.1932	Ž	3,1
1723	13.06.1967	Ž	3,1
1724	06.07.1926	Ž	3,1
1725	08.06.1957	Ž	3,1
1726	12.10.1933	Ž	3,1
1727	11.12.1932	M	3,1
1728	21.12.1957	M	3,1
1729	29.08.1935	M	3,1
1730	09.12.1940	M	3,1
1731	07.10.1956	M	3,1
1732	03.12.1934	Ž	3,1
1733	12.02.1958	Ž	3,1
1734	21.10.1931	M	3,1
1735	30.04.1951	M	3,1
1736	12.10.1940	Ž	3,1
1737	23.05.1930	Ž	3,1
1738	31.01.1929	M	3,1
1739	01.12.1927	M	3,1
1740	12.09.1948	Ž	3,1
1741	12.06.1968	Ž	3,1
1742	01.01.1958	M	3,1
1743	22.09.1954	M	3,1

523	15.04.1959	Ž	0,9
524	22.08.1949	Ž	0,9
525	22.10.1921	M	0,9
526	05.09.1196	M	0,9
527	09.05.1960	M	0,9
528	02.01.1969	M	0,9
529	16.12.1943	Ž	0,9
530	23.09.1954	Ž	0,9
531	29.06.1948	M	0,9
532	26.07.1955	Ž	0,9
533	01.01.1931	Ž	0,9
534	14.12.1954	Ž	0,9
535	28.07.1960	Ž	0,9
536	21.04.1940	M	0,9
537	15.11.1965	M	0,9
538	15.11.1965	M	0,9
539	26.03.1926	Ž	0,9
540	22.07.1975	Ž	0,9
541	15.02.1944	Ž	0,9
542	18.05.1943	Ž	0,9
543	23.02.1953	M	0,9
544	01.05.1972	Ž	0,9
545	16.07.1946	M	0,9
546	22.12.1941	Ž	0,9
547	12.11.1922	Ž	0,9
548	12.04.1945	Ž	0,9
549	19.04.1935	M	0,9
550	07.03.1936	M	0,9
551	13.02.1949	Ž	0,9
552	26.12.1956	Ž	0,9
553	15.09.1967	M	1,0
554	19.10.1948	M	1,0
555	19.03.1936	M	1,0
556	31.05.1929	M	1,0
557	07.03.1965	Ž	1,0
558	14.06.1965	Ž	1,0
559	12.09.1956	Ž	1,0
560	10.12.1948	Ž	1,0
561	21.07.1952	Ž	1,0
562	02.08.1947	Ž	1,0
563	01.12.1932	M	1,0
564	09.02.1935	Ž	1,0
565	31.10.1929	M	1,0
566	09.08.1944	Ž	1,0
567	06.10.1937	M	1,0
568	24.09.1944	Ž	1,0
569	25.12.1936	M	1,0
570	27.02.1930	M	1,0
571	23.01.1949	M	1,0
572	11.12.1940	M	1,0
573	14.04.1963	Ž	1,0
574	22.04.1941	M	1,0
575	01.10.1957	Ž	1,0
576	19.08.1958	Ž	1,0
577	28.03.1933	Ž	1,0
578	15.07.1968	Ž	1,0
579	16.06.1958	Ž	1,0
580	22.08.1932	Ž	1,0
581	19.09.1982	Ž	1,0

1744	10.08.1930	Ž	3,1
1745	27.10.1948	Ž	3,1
1746	23.11.1961	M	3,2
1747	18.09.1951	Ž	3,2
1748	13.07.1932	Ž	3,2
1749	04.09.1929	Ž	3,2
1750	04.03.1921	Ž	3,2
1751	23.06.1937	Ž	3,2
1752	11.01.1943	M	3,2
1753	09.10.1949	Ž	3,2
1754	28.02.1953	Ž	3,2
1755	05.08.1922	Ž	3,2
1756	19.03.1948	Ž	3,2
1757	08.07.1985	Ž	3,2
1758	02.07.1931	Ž	3,2
1759	01.04.1973	M	3,2
1760	06.01.1932	M	3,2
1761	15.03.1932	M	3,2
1762	03.06.1928	Ž	3,2
1763	18.06.1944	Ž	3,2
1764	02.12.1947	M	3,2
1765	08.01.1929	Ž	3,2
1766	10.02.1935	M	3,2
1767	25.05.1942	M	3,2
1768	04.05.1933	M	3,3
1769	27.08.1960	Ž	3,3
1770	05.07.1948	M	3,3
1771	28.01.1925	M	3,3
1772	31.03.1932	M	3,3
1773	17.09.1931	Ž	3,3
1774	05.08.1942	Ž	3,3
1775	19.10.1928	Ž	3,3
1776	20.08.1944	M	3,3
1777	18.07.1966	Ž	3,3
1778	23.07.1947	Ž	3,3
1779	07.06.1932	Ž	3,3
1780	16.01.1954	M	3,3
1781	10.06.1937	M	3,3
1782	04.01.1947	M	3,3
1783	01.10.1960	Ž	3,3
1784	27.04.1949	Ž	3,3
1785	26.01.1946	Ž	3,3
1786	22.09.1941	M	3,3
1787	29.07.1950	Ž	3,3
1788	29.05.1937	M	3,3
1789	27.04.1945	M	3,3
1790	29.10.1943	M	3,3
1791	10.05.1952	M	3,3
1792	01.05.1941	M	3,4
1793	04.10.1935	M	3,4
1794	30.05.1951	Ž	3,4
1795	14.03.1938	Ž	3,4
1796	09.11.1934	M	3,4
1797	01.01.1111	Ž	3,4
1798	05.02.1923	Ž	3,4
1799	18.09.1922	M	3,4
1800	02.06.1939	M	3,4
1801	18.08.1944	Ž	3,4
1802	20.03.1950	Ž	3,4

582	14.03.1972	M	1,0	
583	07.11.1960	Ž	1,0	
584	03.03.1928	Ž	1,0	
585	07.05.1941	Ž	1,0	
586	19.12.1953	Ž	1,0	
587	02.09.1934	M	1,0	
588	14.05.1942	M	1,0	
589	29.07.1961	Ž	1,0	
590	26.11.1935	M	1,0	
591	27.08.1939	Ž	1,0	
592	01.01.1931	M	1,0	
593	01.01.1931	M	1,0	
594	01.01.1931	M	1,0	
595	01.01.1931	M	1,0	
596	01.01.1931	M	1,0	
597	20.07.1960	Ž	1,0	
598	18.07.1935	Ž	1,0	
599	22.01.1919	Ž	1,0	
600	24.06.1944	Ž	1,0	
601	08.03.1937	Ž	1,0	
602	30.04.1951	M	1,0	
603	29.03.1926	Ž	1,0	
604	26.05.1945	M	1,0	
605	09.01.1989	Ž	1,0	
606	06.03.1935	M	1,0	
607	23.07.1937	M	1,0	
608	24.06.1932	Ž	1,0	
609	08.09.1934	M	1,0	
610	19.03.1935	M	1,0	
611	20.11.1939	Ž	1,0	
612	01.06.1944	Ž	1,0	
613	16.02.1941	M	1,0	
614	10.10.1951	Ž	1,0	
615	26.10.1943	Ž	1,0	
616	03.01.1963	Ž	1,0	
617	17.04.1941	M	1,0	
618	01.08.1945	Ž	1,0	
619	29.09.1952	Ž	1,0	
620	24.06.1938	M	1,0	
621	24.06.1938	M	1,0	
622	06.06.1918	Ž	1,1	
623	28.08.1953	Ž	1,1	
624	03.01.1973	Ž	1,1	
625	06.07.1942	Ž	1,1	
626	04.03.1940	Ž	1,1	
627	05.02.1954	M	1,1	
628	18.04.1938	M	1,1	
629	31.07.1983	M	1,1	
630	03.05.1960	Ž	1,1	
631	02.11.1949	M	1,1	
632	01.09.1945	M	1,1	
633	02.06.1947	Ž	1,1	
634	24.03.1940	M	1,1	
635	04.11.1930	Ž	1,1	
636	18.12.1974	Ž	1,1	
637	01.04.1964	M	1,1	
638	02.06.1988	Ž	1,1	
639	13.01.1941	M	1,1	
640	29.12.1953	Ž	1,1	

1803	05.02.1943	M	3,4	
1804	26.06.1920	Ž	3,4	
1805	19.03.1938	M	3,4	
1806	07.10.1958	Ž	3,4	
1807	13.05.1933	Ž	3,4	
1808	05.04.1926	Ž	3,4	
1809	26.05.1934	M	3,4	
1810	10.09.1953	M	3,4	
1811	31.08.1940	M	3,4	
1812	16.10.1959	M	3,4	
1813	27.07.1927	Ž	3,4	
1814	19.01.1928	Ž	3,4	
1815	06.09.1933	Ž	3,4	
1816	09.05.1953	M	3,4	
1817	22.09.1954	M	3,4	
1818	25.01.1918	M	3,4	
1819	14.01.1952	Ž	3,4	
1820	17.02.1952	M	3,4	
1821	13.04.1938	M	3,4	
1822	25.02.1933	Ž	3,4	
1823	28.06.1937	Ž	3,4	
1824	28.06.1937	Ž	3,4	
1825	19.07.1940	Ž	3,4	
1826	29.04.1943	Ž	3,4	
1827	26.09.1950	Ž	3,4	
1828	28.04.1940	Ž	3,4	
1829	10.09.1951	Ž	3,4	
1830	08.03.1949	Ž	3,5	
1831	01.02.1930	Ž	3,5	
1832	04.05.1936	Ž	3,5	
1833	24.06.1922	Ž	3,5	RAK
1834	28.05.1958	Ž	3,5	
1835	04.11.1953	M	3,5	
1836	02.12.1935	Ž	3,5	RAK
1837	02.04.1944	M	3,5	
1838	15.07.1943	M	3,5	
1839	31.08.1956	M	3,5	
1840	22.03.1942	Ž	3,5	
1841	04.10.1942	M	3,5	
1842	07.10.1941	Ž	3,5	
1843	12.11.1930	M	3,5	
1844	28.06.1937	Ž	3,5	
1845	21.04.1928	Ž	3,5	
1846	13.02.1930	M	3,5	
1847	25.05.1942	Ž	3,5	
1848	19.08.1946	Ž	3,5	
1849	05.07.1929	Ž	3,6	
1850	29.03.1924	Ž	3,6	
1851	07.06.1952	Ž	3,6	
1852	18.10.1954	Ž	3,6	RAK
1853	15.03.1929	M	3,6	
1854	14.10.1932	M	3,6	
1855	12.11.1944	Ž	3,6	
1856	22.10.1928	M	3,6	
1857	08.04.1932	Ž	3,6	
1858	07.02.1938	M	3,6	
1859	11.01.1950	Ž	3,6	
1860	05.08.2009	M	3,6	
1861	31.12.1934	Ž	3,6	

641	08.11.1934	M	1,1	
642	27.10.1943	Ž	1,1	
643	28.11.1958	M	1,1	
644	06.01.1925	M	1,1	
645	12.12.1960	Ž	1,1	
646	30.10.1926	Ž	1,1	
647	25.04.1925	Ž	1,1	
648	27.01.1929	Ž	1,1	
649	11.12.1930	M	1,1	
650	15.08.1933	Ž	1,1	
651	10.08.1948	M	1,1	
652	25.01.1942	M	1,1	
653	03.12.1951	M	1,1	
654	14.05.1942	Ž	1,1	
655	23.02.1972	Ž	1,1	
656	21.08.1946	Ž	1,1	
657	05.05.1954	M	1,1	
658	05.09.1929	M	1,1	
659	02.06.1955	Ž	1,1	
660	15.05.1941	Ž	1,1	
661	15.10.1962	Ž	1,1	
662	27.08.1926	Ž	1,1	
663	16.04.1953	Ž	1,1	
664	15.02.1951	Ž	1,1	
665	08.10.1931	M	1,1	
666	10.04.1941	M	1,1	
667	30.12.1942	Ž	1,1	
668	05.09.1946	Ž	1,1	
669	15.09.1955	Ž	1,1	
670	10.03.1942	Ž	1,1	
671	09.07.1940	M	1,1	
672	24.01.1962	Ž	1,1	
673	16.06.1948	M	1,1	
674	12.11.1940	M	1,1	
675	27.05.1946	M	1,1	
676	03.03.1936	Ž	1,1	
677	02.10.1928	M	1,1	
678	29.03.1952	M	1,1	
679	26.06.1931	M	1,1	
680	02.02.1938	M	1,1	
681	21.03.1948	Ž	1,1	
682	26.07.1923	M	1,1	
683	08.04.1958	Ž	1,2	
684	14.04.1931	Ž	1,2	
685	28.12.1931	M	1,2	
686	16.12.1948	Ž	1,2	
687	12.12.1957	M	1,2	
688	16.08.1934	M	1,2	
689	18.10.1964	M	1,2	
690	29.06.1934	Ž	1,2	
691	13.12.1968	Ž	1,2	
692	01.02.1987	M	1,2	
693	05.07.1940	Ž	1,2	
694	19.09.1941	M	1,2	
695	09.12.1941	Ž	1,2	
696	14.12.1936	M	1,2	
697	25.01.1950	Ž	1,2	
698	18.01.1960	Ž	1,2	
699	17.03.1948	Ž	1,2	

1862	02.11.1970	M	3,6	
1863	02.11.1970	M	3,6	
1864	14.03.1966	M	3,6	
1865	05.08.1948	M	3,6	
1866	14.05.1923	Ž	3,6	
1867	12.05.1946	M	3,6	
1868	31.03.1934	Ž	3,7	
1869	08.02.1948	M	3,7	
1870	28.02.1915	Ž	3,7	
1871	30.03.1926	Ž	3,7	RAK
1872	15.08.1932	M	3,7	
1873	29.06.1952	M	3,7	
1874	29.10.1954	Ž	3,7	
1875	02.11.1935	Ž	3,7	
1876	13.03.1932	Ž	3,7	
1877	08.07.1921	Ž	3,7	
1878	07.03.1972	Ž	3,7	
1879	01.01.1222	M	3,7	
1880	20.05.1946	M	3,7	
1881	06.02.1949	Ž	3,7	
1882	31.12.1934	Ž	3,7	
1883	10.11.1951	Ž	3,7	
1884	13.01.1941	Ž	3,7	
1885	07.07.1935	M	3,7	
1886	07.04.1944	Ž	3,7	
1887	28.02.1951	Ž	3,7	
1888	07.04.1956	M	3,7	
1889	10.02.1949	M	3,7	
1890	25.09.1940	Ž	3,7	
1891	05.10.1948	M	3,7	
1892	29.05.1947	M	3,7	
1893	12.10.1954	M	3,8	
1894	15.01.1952	M	3,8	
1895	14.01.1942	M	3,8	RAK
1896	06.03.1934	M	3,8	
1897	03.06.1930	M	3,8	RAK
1898	10.03.1928	Ž	3,8	
1899	25.09.1950	M	3,8	
1900	03.01.1942	Ž	3,8	RAK
1901	28.06.1952	M	3,8	
1902	20.03.1934	M	3,8	
1903	07.02.1968	M	3,8	
1904	09.02.1938	M	3,8	
1905	23.08.1952	Ž	3,8	
1906	19.04.1944	Ž	3,8	
1907	15.02.1936	M	3,8	
1908	20.05.1946	M	3,8	
1909	14.04.1934	M	3,8	
1910	20.04.1934	M	3,8	
1911	15.12.1921	Ž	3,8	
1912	01.07.1974	M	3,8	
1913	06.04.1949	M	3,8	
1914	09.05.1923	Ž	3,8	
1915	21.01.1924	Ž	3,8	
1916	26.04.1952	Ž	3,8	
1917	25.05.1942	M	3,8	
1918	19.10.1934	M	3,9	RAK
1919	11.03.1948	M	3,9	
1920	27.03.1927	M	3,9	

700	04.06.1969	Ž	1,2	
701	31.07.1931	Ž	1,2	
702	31.03.1954	M	1,2	
703	11.01.1934	M	1,2	
704	11.01.1970	M	1,2	
705	01.02.1961	M	1,2	
706	10.04.1936	Ž	1,2	
707	24.03.1924	M	1,2	
708	22.12.1958	M	1,2	
709	11.03.1960	Ž	1,2	
710	01.03.1957	M	1,2	
711	08.03.1922	M	1,2	
712	13.06.1953	M	1,2	
713	07.11.1954	M	1,2	
714	19.02.1934	Ž	1,2	
715	12.08.1967	M	1,2	
716	13.06.1987	Ž	1,2	
717	11.11.1111	Ž	1,2	
718	25.01.1942	M	1,2	
719	19.06.1947	M	1,2	
720	23.03.1974	M	1,2	
721	25.01.1949	M	1,2	
722	20.08.1948	M	1,2	
723	25.07.1949	M	1,2	
724	16.10.1932	M	1,2	
725	22.07.1947	M	1,2	
726	24.12.1945	M	1,2	
727	24.12.1945	M	1,2	
728	17.12.1956	M	1,2	
729	25.02.1947	Ž	1,2	
730	13.09.1967	Ž	1,2	
731	02.07.1927	M	1,2	
732	10.08.1958	Ž	1,2	
733	15.07.1951	M	1,2	
734	14.09.1937	M	1,2	
735	14.04.1935	M	1,2	
736	03.01.1951	Ž	1,2	
737	02.10.1960	Ž	1,2	
738	16.06.1975	Ž	1,2	
739	30.07.1936	M	1,2	
740	24.12.1928	Ž	1,2	
741	01.01.1931	M	1,2	
742	14.07.1940	Ž	1,2	
743	01.06.1959	Ž	1,2	
744	17.10.1934	Ž	1,2	
745	01.01.1222	Ž	1,2	
746	04.12.1961	M	1,2	
747	01.06.1956	Ž	1,2	
748	11.03.1947	M	1,2	
749	27.10.1936	M	1,2	
750	23.06.1933	Ž	1,2	
751	23.07.1954	Ž	1,2	
752	07.03.1936	M	1,2	
753	01.10.1949	Ž	1,2	
754	26.02.1943	M	1,2	
755	10.01.1962	M	1,2	
756	17.03.1954	M	1,2	
757	02.06.1961	M	1,3	
758	08.08.1934	Ž	1,3	

1921	10.11.1928	M	3,9	
1922	14.04.1939	Ž	3,9	
1923	26.05.1964	M	3,9	
1924	08.06.1950	M	3,9	
1925	11.12.1932	M	3,9	
1926	04.01.1930	Ž	3,9	
1927	28.08.1927	Ž	3,9	
1928	17.08.1932	Ž	3,9	
1929	11.06.1949	M	4,0	
1930	05.10.1955	M	4,0	
1931	15.09.1936	M	4,0	
1932	28.09.1935	M	4,0	
1933	09.08.1942	M	4,0	
1934	23.09.1953	M	4,0	
1935	12.02.1972	Ž	4,0	RAK
1936	31.08.1934	M	4,0	
1937	25.07.1940	M	4,0	
1938	14.09.1926	Ž	4,0	
1939	11.07.1966	Ž	4,0	
1940	02.10.1947	Ž	4,0	
1941	22.12.1944	Ž	4,0	
1942	22.12.1944	Ž	4,0	
1943	18.03.1948	M	4,0	
1944	06.06.1962	Ž	4,0	
1945	03.01.1954	Ž	4,0	
1946	28.01.1941	Ž	4,0	
1947	12.12.1946	M	4,0	
1948	31.05.1957	Ž	4,0	
1949	28.07.1923	Ž	4,1	
1950	26.09.1928	M	4,1	
1951	14.08.1947	Ž	4,1	RAK
1952	13.06.1948	M	4,1	RAK
1953	04.02.1940	M	4,1	
1954	11.01.1955	Ž	4,1	
1955	25.08.1946	M	4,1	
1956	07.10.1941	Ž	4,1	
1957	21.03.1937	Ž	4,1	
1958	06.10.1926	Ž	4,1	
1959	27.02.1936	M	4,1	
1960	27.02.1936	M	4,1	
1961	13.05.1943	Ž	4,1	
1962	18.08.1961	M	4,1	
1963	01.04.1947	Ž	4,1	
1964	25.05.1942	M	4,1	
1965	28.09.1958	M	4,2	
1966	31.03.1963	Ž	4,2	
1967	07.12.1959	Ž	4,2	
1968	10.10.1977	M	4,2	RAK
1969	10.06.1956	M	4,2	RAK
1970	11.12.1951	Ž	4,2	RAK
1971	05.06.1956	M	4,2	
1972	27.08.1926	M	4,2	RAK
1973	16.04.1936	M	4,2	RAK
1974	16.02.1962	M	4,2	RAK
1975	10.03.1939	M	4,2	
1976	02.06.1947	M	4,2	
1977	27.09.1916	M	4,2	
1978	04.01.1930	Ž	4,2	
1979	09.05.1943	M	4,2	

759	19.08.1943	M	1,3	
760	23.02.1956	M	1,3	
761	06.04.1945	M	1,3	
762	01.01.1222	M	1,3	
763	31.05.1973	Ž	1,3	
764	07.08.1932	Ž	1,3	
765	20.08.1938	Ž	1,3	
766	20.12.1950	Ž	1,3	
767	14.12.1954	Ž	1,3	
768	15.10.1930	Ž	1,3	
769	17.01.1926	M	1,3	
770	30.03.1962	Ž	1,3	
771	13.06.1953	M	1,3	
772	17.04.1933	M	1,3	
773	17.08.1956	M	1,3	
774	07.10.1948	M	1,3	
775	30.09.1934	Ž	1,3	
776	17.03.1972	Ž	1,3	
777	28.04.1945	Ž	1,3	
778	15.11.1936	Ž	1,3	
779	19.02.1934	Ž	1,3	
780	27.01.1961	M	1,3	
781	05.03.1941	Ž	1,3	
782	12.05.1937	Ž	1,3	
783	04.07.1925	Ž	1,3	
784	04.02.1948	Ž	1,3	
785	10.12.1929	M	1,3	
786	14.08.1926	M	1,3	
787	31.12.1941	Ž	1,3	
788	22.11.1933	M	1,3	
789	12.02.1955	M	1,3	
790	10.05.1943	M	1,3	
791	23.10.1945	M	1,3	
792	13.07.1963	Ž	1,3	
793	05.09.1933	M	1,3	
794	13.10.1954	M	1,3	
795	30.08.1921	Ž	1,3	
796	19.11.1939	Ž	1,3	
797	05.06.1967	Ž	1,3	
798	17.08.1934	M	1,3	
799	15.04.1939	M	1,3	
800	14.04.1934	M	1,3	
801	14.03.1949	Ž	1,3	
802	09.01.1979	M	1,3	
803	01.07.1974	M	1,3	
804	26.04.1938	Ž	1,3	
805	25.06.1972	Ž	1,3	
806	02.03.1941	Ž	1,3	
807	28.04.1930	Ž	1,3	
808	28.09.1971	M	1,3	
809	16.09.1931	M	1,3	
810	15.01.1936	M	1,3	
811	15.02.1965	M	1,3	
812	25.08.1945	Ž	1,3	
813	30.07.1944	M	1,3	
814	25.09.1983	Ž	1,3	
815	16.04.1945	Ž	1,3	
816	23.11.1954	Ž	1,3	
817	30.04.1932	M	1,3	

1980	26.01.1953	Ž	4,2	
1981	30.04.1951	M	4,2	
1982	25.07.1929	Ž	4,2	
1983	02.11.1941	M	4,2	
1984	01.11.1946	M	4,3	
1985	13.07.1965	Ž	4,3	
1986	21.11.1922	Ž	4,3	
1987	18.01.1940	Ž	4,3	
1988	07.04.1944	M	4,3	
1989	26.11.1943	Ž	4,3	
1990	18.10.1946	M	4,4	
1991	09.03.1934	M	4,4	
1992	11.02.1946	Ž	4,4	
1993	23.09.1942	Ž	4,4	
1994	11.10.1940	M	4,4	
1995	24.08.1938	M	4,4	
1996	03.06.1953	M	4,4	
1997	07.02.1948	Ž	4,4	
1998	30.04.1951	M	4,4	
1999	20.06.1937	M	4,4	
2000	11.10.1947	M	4,4	
2001	09.11.1966	M	4,4	
2002	05.10.1924	Ž	4,4	
2003	01.12.1936	Ž	4,5	
2004	25.05.1975	M	4,5	
2005	18.09.1942	Ž	4,5	
2006	21.11.1926	Ž	4,5	
2007	07.04.1954	M	4,5	
2008	17.11.1970	Ž	4,5	
2009	21.03.1961	Ž	4,5	
2010	25.01.1943	Ž	4,5	
2011	08.06.1953	M	4,5	
2012	07.04.1944	M	4,5	
2013	04.11.1947	M	4,5	
2014	08.02.1947	Ž	4,5	
2015	27.04.1966	M	4,6	
2016	25.06.1947	Ž	4,6	RAK
2017	14.08.1956	Ž	4,6	RAK
2018	27.09.1916	M	4,6	
2019	18.03.1948	M	4,6	
2020	26.11.1943	Ž	4,6	
2021	24.09.1934	Ž	4,6	
2022	23.12.1940	Ž	4,6	
2023	05.10.1927	Ž	4,6	
2024	22.12.1964	Ž	4,6	
2025	03.04.1925	Ž	4,6	
2026	10.05.1929	M	4,6	
2027	02.08.1938	Ž	4,7	RAK
2028	16.07.1920	Ž	4,7	
2029	31.10.1935	Ž	4,7	
2030	03.12.1931	Ž	4,7	
2031	26.04.1937	M	4,7	
2032	14.09.1950	M	4,7	RAK
2033	05.11.1929	M	4,72	
2034	28.10.1937	Ž	4,8	
2035	12.12.1937	M	4,8	
2036	04.12.1950	Ž	4,8	RAK
2037	22.11.1964	M	4,8	RAK
2038	05.04.1939	M	4,8	RAK

818	09.09.1943	M	1,3	
819	01.11.1927	Ž	1,3	
820	09.07.1949	Ž	1,3	
821	22.01.1950	M	1,3	
822	25.12.1948	M	1,3	
823	01.10.1949	Ž	1,3	
824	30.11.1930	Ž	1,3	
825	12.04.1957	Ž	1,3	
826	21.02.1933	M	1,4	
827	12.12.1928	Ž	1,4	
828	13.02.1941	Ž	1,4	
829	24.04.1953	M	1,4	
830	20.10.1941	Ž	1,4	
831	19.05.1933	M	1,4	
832	26.07.1942	M	1,4	
833	03.06.1954	Ž	1,4	
834	03.01.1950	Ž	1,4	
835	19.10.1948	M	1,4	
836	12.06.1958	Ž	1,4	
837	30.05.1962	M	1,4	
838	25.07.1951	M	1,4	
839	05.10.1931	Ž	1,4	
840	20.06.1955	Ž	1,4	
841	12.12.1954	M	1,4	
842	30.04.1942	M	1,4	
843	01.12.1959	M	1,4	
844	11.07.1943	M	1,4	
845	08.04.1940	M	1,4	
846	14.01.1942	M	1,4	
847	26.02.1944	Ž	1,4	
848	24.06.1955	Ž	1,4	
849	29.04.1983	M	1,4	
850	20.01.1933	Ž	1,4	
851	02.08.1959	Ž	1,4	
852	13.07.1936	Ž	1,4	
853	04.11.1962	Ž	1,4	
854	12.01.1936	Ž	1,4	
855	31.08.1934	M	1,4	
856	18.12.1973	M	1,4	
857	05.05.1954	M	1,4	
858	11.01.1943	M	1,4	
859	24.12.1945	M	1,4	
860	18.03.1950	M	1,4	
861	07.04.1932	M	1,4	
862	05.01.1945	Ž	1,4	
863	28.08.1943	M	1,4	
864	14.03.1949	Ž	1,4	
865	15.05.1935	Ž	1,4	
866	29.06.1948	M	1,4	
867	01.01.1931	M	1,4	
868	30.04.1947	Ž	1,4	
869	11.11.1934	M	1,4	
870	30.07.1973	M	1,4	
871	08.04.1940	Ž	1,4	
872	22.04.1952	M	1,4	
873	28.06.1921	Ž	1,4	
874	26.12.1955	Ž	1,4	
875	04.08.1947	Ž	1,4	
876	01.08.1932	M	1,4	

2039	07.07.1935	M	4,8	
2040	04.11.1947	M	4,8	
2041	24.06.1947	Ž	4,9	
2042	17.02.1954	Ž	4,9	
2043	28.02.1925	M	4,9	RAK
2044	13.03.1943	M	4,9	
2045	21.02.1940	Ž	4,9	RAK
2046	26.02.1968	M	4,9	
2047	25.09.1937	Ž	4,9	RAK
2048	18.09.1958	Ž	4,9	
2049	31.05.1954	M	4,9	
2050	26.10.1951	Ž	4,9	
2051	02.08.1947	Ž	5,0	RAK
2052	13.09.1933	M	5,0	RAK
2053	18.10.1931	Ž	5,0	
2054	27.08.1930	Ž	5,0	
2055	06.11.1953	M	5,0	
2056	17.03.1915	Ž	5,0	
2057	12.08.1948	Ž	5,0	
2058	08.07.1930	Ž	5,1	
2059	12.12.1942	Ž	5,1	
2060	16.02.1956	M	5,1	RAK
2061	14.02.1930	Ž	5,1	RAK
2062	01.07.1930	Ž	5,1	
2063	24.03.1934	M	5,1	
2064	20.12.1935	Ž	5,1	
2065	20.10.1943	Ž	5,1	
2066	27.02.1936	M	5,1	
2067	08.04.1960	M	5,1	
2068	30.10.1948	M	5,2	RAK
2069	22.02.1911	M	5,2	RAK
2070	28.08.1940	M	5,2	RAK
2071	01.07.1930	Ž	5,2	
2072	19.04.1944	Ž	5,2	
2073	24.05.1947	M	5,2	
2074	09.04.1920	M	5,3	
2075	24.08.1931	M	5,3	
2076	25.09.1926	M	5,3	RAK
2077	04.10.1928	Ž	5,3	RAK
2078	04.01.1930	Ž	5,3	
2079	26.04.1925	Ž	5,3	
2080	05.11.1929	M	5,3	
2081	01.10.1927	M	5,3	
2082	13.11.1974	Ž	5,3	
2083	07.08.1936	Ž	5,4	
2084	01.05.1954	M	5,4	
2085	14.07.1952	M	5,4	
2086	08.03.1937	Ž	5,4	
2087	12.07.1975	Ž	5,4	RAK
2088	27.11.1951	Ž	5,4	
2089	25.08.1926	M	5,4	
2090	04.06.1937	Ž	5,4	
2091	28.09.1921	Ž	5,5	
2092	22.06.1938	Ž	5,5	
2093	25.12.1942	Ž	5,5	RAK
2094	20.12.1921	M	5,5	RAK
2095	26.09.1930	M	5,5	RAK
2096	10.11.1955	M	5,5	
2097	31.05.1954	Ž	5,5	

877	23.02.1953	M	1,4	
878	24.08.1962	M	1,4	
879	16.02.1941	M	1,4	
880	22.11.1967	M	1,4	
881	13.05.1951	Ž	1,4	
882	06.07.1981	Ž	1,5	
883	03.09.1914	Ž	1,5	
884	09.07.1956	Ž	1,5	
885	12.12.1958	Ž	1,5	
886	04.06.1942	Ž	1,5	
887	05.06.1943	M	1,5	
888	28.01.1961	Ž	1,5	
889	22.04.1939	M	1,5	
890	27.12.1940	M	1,5	
891	22.07.1938	Ž	1,5	
892	05.08.1951	M	1,5	
893	03.06.1923	Ž	1,5	
894	27.04.1927	Ž	1,5	
895	26.06.1947	M	1,5	
896	24.08.1953	Ž	1,5	
897	03.07.1932	M	1,5	
898	12.12.1950	M	1,5	
899	11.03.1945	M	1,5	
900	09.03.1940	Ž	1,5	
901	27.07.1925	Ž	1,5	
902	19.07.1950	Ž	1,5	
903	19.04.1922	Ž	1,5	
904	05.05.1977	Ž	1,5	
905	27.03.1964	Ž	1,5	
906	30.11.1954	Ž	1,5	
907	01.04.1924	M	1,5	
908	28.08.1968	M	1,5	
909	19.06.1929	M	1,5	
910	01.05.1962	Ž	1,5	
911	23.03.1941	Ž	1,5	
912	08.07.1985	Ž	1,5	
913	07.02.1944	Ž	1,5	
914	10.02.1951	M	1,5	
915	21.03.1963	Ž	1,5	
916	25.03.1950	M	1,5	
917	12.10.1922	Ž	1,5	
918	26.10.1929	M	1,5	
919	23.10.1950	Ž	1,5	
920	01.01.1931	M	1,5	
921	25.04.1928	Ž	1,5	
922	25.05.1930	Ž	1,5	
923	08.03.1937	Ž	1,5	
924	19.05.1923	M	1,5	
925	01.04.1946	Ž	1,5	
926	10.10.1959	Ž	1,5	
927	26.06.1923	Ž	1,5	
928	10.04.1928	M	1,5	
929	14.10.1947	Ž	1,5	
930	31.03.1980	Ž	1,5	
931	26.10.1943	Ž	1,5	
932	09.07.1949	Ž	1,5	
933	26.06.1931	M	1,5	
934	25.08.1926	M	1,5	
935	25.04.1942	M	1,5	

2098	20.05.1946	Ž	5,5	
2099	11.08.1960	Ž	5,5	
2100	25.02.1952	M	5,6	
2101	10.04.1959	Ž	5,6	
2102	26.12.1940	Ž	5,6	
2103	06.11.1943	Ž	5,6	
2104	03.12.1959	M	5,6	
2105	27.04.1953	Ž	5,6	
2106	03.03.1944	M	5,6	
2107	25.03.1941	Ž	5,7	
2108	06.03.1963	M	5,7	
2109	09.11.1961	Ž	5,7	
2110	07.10.1942	M	5,7	RAK
2111	23.05.1926	Ž	5,7	RAK
2112	14.11.1930	M	5,7	
2113	25.01.1943	Ž	5,7	
2114	24.07.1954	Ž	5,7	
2115	26.01.1943	M	5,7	
2116	30.08.1950	Ž	5,8	RAK
2117	17.01.1978	Ž	5,8	
2118	20.04.1951	Ž	5,8	
2119	16.05.1943	Ž	5,8	
2120	06.09.1935	Ž	5,8	
2121	03.10.1950	Ž	5,9	
2122	04.04.1939	M	5,9	
2123	31.08.1940	M	5,9	
2124	30.03.1935	M	5,9	
2125	23.02.1924	M	5,9	RAK
2126	10.08.1939	Ž	5,9	
2127	10.11.1931	Ž	6,0	RAK
2128	16.02.1954	Ž	6,0	
2129	25.05.1936	M	6,0	
2130	16.05.1943	Ž	6,0	
2131	20.10.1943	Ž	6,0	
2132	08.12.1929	M	6,1	RAK
2133	08.12.1952	Ž	6,1	
2134	02.09.1957	Ž	6,1	RAK
2135	01.05.1949	M	6,1	
2136	07.08.1927	M	6,1	
2137	27.02.1936	Ž	6,1	
2138	04.06.1934	Ž	6,2	RAK
2139	13.06.1929	M	6,2	RAK
2140	29.01.1951	M	6,2	RAK
2141	13.06.1954	M	6,2	
2142	16.05.1940	M	6,2	
2143	12.12.1942	Ž	6,3	
2144	13.09.1954	Ž	6,3	RAK
2145	21.01.1940	M	6,3	
2146	06.09.1963	Ž	6,3	
2147	20.06.1940	Ž	6,4	
2148	27.02.1920	Ž	6,4	RAK
2149	17.04.1933	Ž	6,4	RAK
2150	07.09.1920	M	6,4	
2151	27.07.1932	Ž	6,4	
2152	01.05.1950	Ž	6,5	RAK
2153	17.01.1978	Ž	6,5	
2154	11.01.1939	M	6,5	
2155	05.11.1957	Ž	6,5	
2156	13.02.1953	M	6,6	RAK

936	03.07.1935	M	1,5	
937	23.06.1941	Ž	1,5	
938	17.02.1946	Ž	1,6	
939	16.08.1929	M	1,6	
940	23.11.1946	Ž	1,6	
941	07.05.1927	M	1,6	
942	05.04.1937	Ž	1,6	
943	29.09.1968	M	1,6	
944	15.03.1929	M	1,6	
945	15.03.1971	Ž	1,6	
946	15.05.1932	Ž	1,6	
947	19.10.1935	Ž	1,6	
948	04.03.1981	M	1,6	
949	13.05.1942	Ž	1,6	
950	08.11.1925	Ž	1,6	
951	08.02.1951	M	1,6	
952	21.07.1955	Ž	1,6	
953	06.07.1956	M	1,6	
954	07.02.1952	Ž	1,6	
955	30.04.1935	Ž	1,6	
956	03.01.1925	M	1,6	
957	14.09.1930	Ž	1,6	
958	30.11.1926	Ž	1,6	
959	29.06.1933	Ž	1,6	
960	06.05.1948	Ž	1,6	
961	13.02.1925	M	1,6	
962	27.05.1930	Ž	1,6	
963	28.01.1926	M	1,6	
964	06.07.1924	M	1,6	
965	14.04.1966	M	1,6	
966	12.01.1936	Ž	1,6	
967	01.04.1924	Ž	1,6	
968	28.06.1931	M	1,6	
969	22.05.1954	Ž	1,6	
970	16.10.1943	M	1,6	
971	06.05.1956	M	1,6	
972	10.08.1930	Ž	1,6	
973	20.10.1943	Ž	1,6	
974	12.08.1929	Ž	1,6	
975	10.08.1958	Ž	1,6	
976	23.09.1948	Ž	1,6	
977	03.01.1951	Ž	1,6	
978	23.02.1942	M	1,6	
979	23.02.1942	M	1,6	
980	10.03.2008	Ž	1,6	
981	25.04.1972	M	1,6	
982	25.09.1923	Ž	1,6	
983	08.01.1956	M	1,6	
984	26.11.1940	Ž	1,6	
985	29.12.1975	M	1,6	
986	02.02.1936	Ž	1,6	
987	12.05.1939	Ž	1,6	
988	18.02.1946	Ž	1,6	
989	07.09.1946	Ž	1,6	
990	17.02.1952	M	1,6	
991	05.11.1979	M	1,6	
992	23.11.1958	Ž	1,6	
993	16.04.1950	M	1,6	
994	30.06.1964	Ž	1,6	

2157	04.11.1947	M	6,6	
2158	28.06.1937	Ž	6,6	
2159	30.10.1923	Ž	6,7	
2160	30.08.1956	M	6,7	
2161	10.09.1943	M	6,7	RAK
2162	29.11.1934	Ž	6,8	
2163	14.10.1943	M	6,8	
2164	29.12.1958	M	6,8	
2165	11.05.1938	M	6,9	RAK
2166	06.09.1948	M	6,9	RAK
2167	05.07.1942	M	6,9	RAK
2168	02.04.1946	M	6,9	
2169	17.01.1978	Ž	6,9	
2170	24.08.1921	Ž	6,9	
2171	28.06.1937	Ž	6,9	
2172	03.04.1935	Ž	7,0	
2173	19.11.1951	M	7,1	
2174	16.07.1957	Ž	7,1	
2175	23.11.1955	Ž	7,1	
2176	01.05.1927	Ž	7,2	
2177	23.09.1944	M	7,2	RAK
2178	03.11.1945	Ž	7,3	
2179	15.01.1950	M	7,4	RAK
2180	12.01.1936	Ž	7,4	
2181	02.08.1939	M	7,4	
2182	23.04.1952	Ž	7,4	RAK
2183	17.06.1943	M	7,4	
2184	12.01.1937	M	7,4	
2185	13.09.1931	M	7,4	RAK
2186	05.08.1948	M	7,4	
2187	08.04.1970	M	7,5	RAK
2188	26.11.1943	Ž	7,5	
2189	21.03.1923	M	7,5	RAK
2190	03.03.1944	M	7,5	
2191	19.01.1938	M	7,6	RAK
2192	02.11.1963	M	7,6	
2193	05.04.1933	Ž	7,6	RAK
2194	30.10.1926	M	7,6	
2195	19.09.1955	Ž	7,8	
2196	20.11.1926	Ž	7,8	
2197	07.03.1961	Ž	7,8	
2198	14.08.1959	M	7,9	RAK
2199	23.06.1945	M	7,9	
2200	02.09.1938	Ž	8,1	
2201	21.10.1955	Ž	8,2	RAK
2202	25.08.1934	M	8,2	RAK
2203	20.08.1930	Ž	8,3	
2204	01.01.1222	Ž	8,5	
2205	05.09.1960	M	8,5	RAK
2206	02.06.1951	M	8,6	
2207	01.01.1111	Ž	8,6	RAK
2208	24.12.1951	M	8,6	RAK
2209	02.05.1939	Ž	8,7	RAK
2210	01.05.1922	Ž	8,8	
2211	11.07.1954	M	8,8	
2212	15.02.1930	M	8,9	
2213	01.10.1955	M	8,9	
2214	30.10.1926	M	8,9	
2215	30.03.1935	M	8,9	

995	13.03.1956	M	1,6	
996	12.03.1944	M	1,6	
997	11.08.1928	Ž	1,6	
998	01.10.1949	Ž	1,6	
999	12.03.1930	M	1,6	
1000	14.11.1946	M	1,6	
1001	26.02.1936	Ž	1,6	
1002	25.10.1954	M	1,6	
1003	13.05.1951	Ž	1,6	
1004	09.06.1946	M	1,6	
1005	15.06.1951	Ž	1,7	
1006	13.03.1959	Ž	1,7	
1007	01.09.1940	Ž	1,7	
1008	21.12.1960	Ž	1,7	
1009	22.11.1940	M	1,7	
1010	08.02.1928	Ž	1,7	
1011	10.02.1937	M	1,7	
1012	11.04.1928	M	1,7	
1013	09.06.1949	Ž	1,7	
1014	20.09.1928	M	1,7	
1015	19.07.1945	M	1,7	
1016	16.03.1936	M	1,7	
1017	02.11.1949	Ž	1,7	
1018	13.05.1945	Ž	1,7	
1019	28.10.1938	Ž	1,7	
1020	16.11.1948	Ž	1,7	
1021	24.10.1930	M	1,7	
1022	23.09.1956	M	1,7	
1023	12.09.1933	M	1,7	
1024	07.01.1954	M	1,7	
1025	07.12.1915	M	1,7	
1026	03.09.1938	Ž	1,7	
1027	25.12.1934	Ž	1,7	
1028	16.05.1960	M	1,7	
1029	25.02.1961	Ž	1,7	
1030	28.11.1933	M	1,7	
1031	15.04.1941	Ž	1,7	
1032	25.11.1954	Ž	1,7	
1033	15.07.1952	Ž	1,7	
1034	11.11.1951	Ž	1,7	
1035	25.08.1949	M	1,7	
1036	26.04.1937	Ž	1,7	
1037	27.02.1937	M	1,7	
1038	10.02.1942	M	1,7	
1039	01.07.1974	M	1,7	
1040	04.04.1950	M	1,7	
1041	04.04.1950	M	1,7	
1042	14.09.1930	M	1,7	
1043	20.12.1941	M	1,7	
1044	07.01.1932	M	1,7	
1045	09.01.1925	M	1,7	
1046	24.03.1941	Ž	1,7	
1047	30.11.1946	Ž	1,7	
1048	06.10.1925	M	1,7	
1049	01.01.1222	Ž	1,7	
1050	16.01.1964	Ž	1,7	
1051	22.12.1945	Ž	1,7	
1052	25.08.1941	Ž	1,7	
1053	22.01.1945	M	1,7	

2216	29.08.1953	Ž	9,1	
2217	29.12.1958	M	9,1	
2218	05.08.1970	M	9,2	RAK
2219	07.12.1951	Ž	9,2	
2220	10.07.1948	Ž	9,2	
2221	24.05.1972	M	9,2	
2222	10.09.1932	Ž	9,2	
2223	14.01.1942	M	9,3	RAK
2224	10.09.1965	Ž	9,3	
2225	31.07.1952	Ž	9,5	RAK
2226	08.10.1932	Ž	9,6	RAK
2227	23.04.1953	Ž	9,8	
2228	27.04.1929	Ž	9,8	RAK
2229	29.10.1934	Ž	9,9	RAK
2230	06.03.1931	M	9,9	
2231	16.05.1944	Ž	10,0	RAK
2232	19.09.1933	M	10,2	RAK
2233	25.04.1954	Ž	10,2	RAK
2234	07.05.1936	M	10,4	RAK
2235	09.12.1933	M	10,5	
2236	27.11.1939	Ž	10,5	RAK
2237	06.07.1932	M	10,5	RAK
2238	11.12.1924	M	10,5	RAK
2239	02.07.1964	Ž	10,5	
2240	06.05.1952	M	10,7	
2241	09.05.1947	M	10,8	RAK
2242	10.06.1928	M	10,9	RAK
2243	25.02.1933	M	11,0	
2244	05.08.1941	Ž	11,2	
2245	02.09.1938	M	11,4	RAK
2246	12.04.1940	Ž	11,6	RAK
2247	12.02.1923	Ž	12,0	RAK
2248	30.03.1944	Ž	12,0	RAK
2249	20.08.1959	M	12,1	RAK
2250	19.04.1931	M	12,2	RAK
2251	12.12.1952	M	12,2	RAK
2252	30.05.1941	Ž	12,3	RAK
2253	07.04.1933	Ž	12,4	RAK
2254	24.09.1920	Ž	12,5	
2255	26.11.1923	Ž	12,9	
2256	16.03.1946	Ž	12,9	RAK
2257	25.05.1936	M	13,1	
2258	02.01.1949	M	13,2	RAK
2259	30.08.1934	M	13,3	RAK
2260	22.09.1939	Ž	13,4	
2261	01.01.1111	M	13,5	RAK
2262	08.12.1935	M	13,5	RAK
2263	31.08.1942	Ž	13,6	RAK
2264	31.03.1934	Ž	14,0	RAK
2265	07.04.1938	Ž	14,0	RAK
2266	23.04.1951	Ž	14,1	
2267	08.08.1923	Ž	14,2	RAK
2268	24.05.1960	M	15,1	RAK
2269	26.05.1955	Ž	15,2	
2270	29.10.1940	Ž	15,4	RAK
2271	12.11.1956	Ž	15,5	RAK
2272	04.03.1954	M	15,6	RAK
2273	29.04.1936	M	15,7	
2274	29.11.1939	Ž	15,9	RAK

1054	01.05.1955	Ž	1,7	
1055	16.01.1952	M	1,7	
1056	26.08.1937	M	1,7	
1057	23.12.1935	Ž	1,7	
1058	08.04.1932	M	1,7	
1059	14.04.1974	Ž	1,7	
1060	29.04.1942	Ž	1,8	
1061	11.11.1962	M	1,8	
1062	16.01.1962	M	1,8	
1063	27.08.1943	Ž	1,8	
1064	28.11.1935	M	1,8	
1065	07.08.1952	M	1,8	
1066	05.01.1932	Ž	1,8	
1067	21.01.1951	Ž	1,8	
1068	12.10.1963	Ž	1,8	
1069	19.04.1946	M	1,8	
1070	01.07.1941	M	1,8	
1071	03.11.1950	Ž	1,8	
1072	19.04.1934	Ž	1,8	
1073	09.04.1985	M	1,8	
1074	20.11.1934	Ž	1,8	
1075	14.12.1947	Ž	1,8	
1076	31.01.1949	M	1,8	
1077	11.02.1927	Ž	1,8	
1078	02.03.1933	M	1,8	
1079	12.01.1938	Ž	1,8	
1080	08.10.1945	M	1,8	
1081	10.08.1939	M	1,8	
1082	12.07.1934	M	1,8	
1083	23.02.1955	Ž	1,8	
1084	19.01.1959	Ž	1,8	
1085	03.05.1939	M	1,8	
1086	18.07.1955	Ž	1,8	
1087	19.07.1950	Ž	1,8	
1088	27.06.1977	M	1,8	
1089	04.02.1938	Ž	1,8	
1090	26.05.1949	M	1,8	
1091	11.11.1946	M	1,8	
1092	12.02.1946	M	1,8	
1093	21.02.1957	M	1,8	
1094	19.11.1930	Ž	1,8	
1095	12.01.1936	Ž	1,8	
1096	15.04.1941	Ž	1,8	
1097	19.06.1938	Ž	1,8	
1098	01.01.1222	M	1,8	
1099	18.11.1932	M	1,8	
1100	04.04.1952	Ž	1,8	
1101	22.08.1939	M	1,8	
1102	01.04.1953	M	1,8	
1103	05.10.1965	M	1,8	
1104	23.04.1942	M	1,8	
1105	11.06.1938	Ž	1,8	
1106	26.01.1935	Ž	1,8	
1107	11.10.1948	Ž	1,8	
1108	25.04.1928	Ž	1,8	
1109	26.04.1938	Ž	1,8	
1110	28.10.1960	M	1,8	
1111	08.04.1940	Ž	1,8	
1112	22.08.1936	M	1,8	

2275	05.08.1948	Ž	15,9	
2276	21.05.1931	M	16,7	RAK
2277	15.07.1955	Ž	17,0	RAK
2278	17.02.1952	Ž	17,0	RAK
2279	01.07.1926	Ž	17,5	RAK
2280	09.04.1941	Ž	17,6	RAK
2281	11.03.1940	M	17,8	RAK
2282	29.12.1964	Ž	18,0	RAK
2283	06.05.1949	Ž	18,0	RAK
2284	11.10.1930	Ž	18,6	RAK
2285	20.09.1933	Ž	19,1	RAK
2286	01.10.1929	M	19,8	RAK
2287	15.11.1943	Ž	20,5	RAK
2288	08.01.1924	M	20,6	RAK
2289	13.10.1955	M	21,7	RAK
2290	21.02.1948	M	21,7	RAK
2291	20.04.1967	Ž	22,2	RAK
2292	22.04.1926	Ž	22,5	
2293	01.01.1938	Ž	22,7	RAK
2294	12.12.1934	Ž	23,0	RAK
2295	26.01.1925	M	23,1	RAK
2296	01.12.1926	Ž	24,1	RAK
2297	12.04.1940	Ž	25,2	RAK
2298	15.07.1951	M	26,6	RAK
2299	21.01.1931	Ž	26,6	RAK
2300	29.01.1943	M	26,7	RAK
2301	08.03.1930	M	27,0	RAK
2302	31.07.1924	Ž	27,1	RAK
2303	14.01.1929	M	27,1	RAK
2304	05.11.1967	M	27,5	RAK
2305	19.06.1933	Ž	28,0	RAK
2306	25.01.1948	Ž	28,3	RAK
2307	07.12.1938	Ž	28,8	RAK
2308	14.09.1944	Ž	29,5	RAK
2309	10.09.1931	M	30,3	RAK
2310	04.04.1935	Ž	32,5	RAK
2311	27.02.1949	Ž	32,9	RAK
2312	25.12.1932	M	33,4	RAK
2313	28.07.1959	Ž	33,7	RAK
2314	30.06.1943	M	33,8	RAK
2315	04.09.1942	M	34,0	RAK
2316	21.09.1934	M	34,7	RAK
2317	19.03.1926	Ž	34,8	RAK
2318	13.05.1956	M	34,9	RAK
2319	05.09.1937	M	35,3	RAK
2320	03.12.1950	M	36,2	RAK
2321	27.10.1951	Ž	37,2	RAK
2322	11.10.1931	Ž	37,5	RAK
2323	07.11.1929	M	37,5	RAK
2324	03.01.1949	Ž	37,7	RAK
2325	06.11.1939	Ž	37,8	RAK
2326	03.09.1939	M	38,9	RAK
2327	21.05.1939	Ž	40,0	RAK
2328	24.04.1927	M	40,2	RAK
2329	12.09.1930	Ž	40,8	
2330	08.02.1950	Ž	46,4	RAK
2331	18.01.1961	Ž	49,4	RAK
2332	05.03.1950	M	49,4	
2333	04.08.1931	M	51,2	RAK

1113	22.06.1952	M	1,8	
1114	15.08.1962	M	1,8	
1115	07.02.1960	M	1,8	
1116	13.02.1957	Ž	1,8	
1117	10.10.1936	Ž	1,8	
1118	12.02.1941	Ž	1,8	
1119	19.11.1957	Ž	1,8	
1120	13.10.1931	M	1,8	
1121	02.05.1978	M	1,8	
1122	12.10.1927	M	1,8	
1123	29.07.1933	Ž	1,8	
1124	04.02.1956	Ž	1,9	
1125	14.05.1927	M	1,9	
1126	28.04.1949	Ž	1,9	
1127	05.02.1937	M	1,9	
1128	08.10.1947	Ž	1,9	
1129	01.01.1931	Ž	1,9	
1130	24.08.1939	M	1,9	RAK
1131	20.09.1935	M	1,9	
1132	01.05.1944	M	1,9	
1133	05.08.1937	Ž	1,9	
1134	16.05.1927	M	1,9	
1135	17.01.1935	M	1,9	
1136	04.05.1954	Ž	1,9	
1137	29.11.1960	Ž	1,9	
1138	29.10.1940	Ž	1,9	
1139	20.10.1941	M	1,9	
1140	25.10.1957	M	1,9	
1141	26.06.1930	Ž	1,9	
1142	09.09.1946	Ž	1,9	
1143	15.07.1961	Ž	1,9	
1144	30.08.1945	M	1,9	
1145	17.02.1946	Ž	1,9	
1146	11.08.1936	M	1,9	
1147	18.09.1943	Ž	1,9	
1148	30.01.1963	M	1,9	
1149	03.10.1960	M	1,9	
1150	06.12.1931	M	1,9	
1151	22.08.1931	M	1,9	
1152	07.03.1946	Ž	1,9	
1153	01.12.1938	Ž	1,9	
1154	31.08.1940	M	1,9	
1155	04.07.1928	Ž	1,9	
1156	23.02.1959	M	1,9	
1157	30.11.1957	Ž	1,9	
1158	16.01.1930	Ž	1,9	
1159	18.04.1958	M	1,9	
1160	04.04.1937	M	1,9	
1161	04.05.1932	M	1,9	
1162	10.10.1942	M	1,9	
1163	18.01.1931	M	1,9	
1164	22.04.1952	M	1,9	
1165	17.01.1951	Ž	1,9	
1166	27.09.1939	M	1,9	
1167	23.07.1968	Ž	1,9	
1168	26.09.1956	M	1,9	
1169	14.08.1927	M	1,9	
1170	26.04.1939	M	1,9	
1171	09.07.1949	Ž	1,9	

2334	22.02.1951	Ž	52,8	RAK
2335	21.01.1954	Ž	53,2	RAK
2336	31.08.1926	Ž	54,4	RAK
2337	23.04.1932	Ž	59,0	RAK
2338	23.11.1942	M	60,0	RAK
2339	28.02.1942	M	61,7	
2340	07.04.1947	M	62,8	RAK
2341	20.06.1931	Ž	64,8	RAK
2342	05.07.1929	Ž	66,1	RAK
2343	12.09.1943	Ž	66,5	RAK
2344	14.02.1935	Ž	67,7	RAK
2345	03.08.1932	Ž	68,3	RAK
2346	22.05.1945	M	71,1	RAK
2347	03.08.1950	M	71,6	RAK
2348	20.06.1917	Ž	71,8	RAK
2349	18.02.1928	Ž	73,2	RAK
2350	27.09.1943	Ž	73,5	RAK
2351	24.12.1949	Ž	74,1	RAK
2352	04.05.1923	Ž	77,7	RAK
2353	26.05.1924	M	79,6	RAK
2354	19.04.1948	Ž	80,8	RAK
2355	06.08.1941	M	80,9	RAK
2356	11.01.1939	M	81,0	RAK
2357	14.01.1926	Ž	83,4	RAK
2358	17.03.1933	M	86,6	RAK
2359	06.01.1944	M	89,2	RAK
2360	10.12.1951	Ž	91,3	RAK
2361	05.07.1929	M	96,9	
2362	14.05.1956	Ž	100,1	RAK
2363	09.02.1928	Ž	101,5	RAK
2364	09.05.1954	M	104,5	RAK
2365	03.01.1955	Ž	104,9	RAK
2366	27.02.1924	Ž	105,5	RAK
2367	22.04.1944	Ž	107,2	RAK
2368	31.01.1920	Ž	113,0	RAK
2369	10.05.1937	M	116,1	RAK
2370	29.10.1927	Ž	125,9	RAK
2371	25.03.1935	Ž	127,1	RAK
2372	17.02.1947	M	130,1	RAK
2373	23.04.1937	M	137,5	RAK
2374	16.03.1938	M	138,7	RAK
2375	13.07.1933	M	141,2	RAK
2376	24.06.1930	M	144,0	RAK
2377	17.08.1940	M	146,1	RAK
2378	29.03.1954	Ž	146,6	RAK
2379	13.05.1925	Ž	151,5	RAK
2380	30.10.1947	M	151,8	RAK
2381	07.10.1928	Ž	155,8	RAK
2382	05.02.1948	M	158,0	RAK
2383	29.01.1948	Ž	165,2	RAK
2384	17.01.1960	M	167,8	RAK
2385	29.09.1943	Ž	173,0	RAK
2386	06.12.1944	M	175,9	RAK
2387	07.02.1949	Ž	184,9	RAK
2388	30.09.1975	M	187,0	
2389	26.04.1933	Ž	191,4	RAK
2390	19.10.1951	M	201,9	RAK
2391	29.07.1922	Ž	209,2	RAK
2392	23.12.1940	M	212,4	RAK

1172	11.04.1932	Ž	1,9	
1173	25.10.1949	M	1,9	
1174	11.06.1933	Ž	1,9	
1175	24.04.1965	M	1,9	
1176	12.08.1971	Ž	2,0	
1177	18.02.1934	Ž	2,0	
1178	24.07.1941	Ž	2,0	
1179	07.03.1942	M	2,0	
1180	07.06.1951	M	2,0	
1181	21.12.1196	Ž	2,0	
1182	09.07.1937	M	2,0	
1183	02.03.1934	Ž	2,0	
1184	27.02.1973	Ž	2,0	
1185	06.07.1953	M	2,0	
1186	20.08.1947	M	2,0	
1187	14.09.1952	M	2,0	
1188	14.11.1940	Ž	2,0	
1189	15.01.1931	M	2,0	
1190	13.08.1956	M	2,0	
1191	08.03.1939	Ž	2,0	
1192	09.05.1939	Ž	2,0	
1193	02.09.1954	Ž	2,0	
1194	12.03.1929	Ž	2,0	
1195	09.01.1936	M	2,0	
1196	28.02.1932	Ž	2,0	
1197	25.02.1933	M	2,0	
1198	26.09.1939	M	2,0	
1199	28.07.1940	Ž	2,0	
1200	02.01.1936	Ž	2,0	
1201	21.04.1931	Ž	2,0	
1202	30.07.1937	M	2,0	
1203	31.08.1934	M	2,0	
1204	27.10.1961	M	2,0	
1205	23.09.1936	Ž	2,0	
1206	01.02.1944	M	2,0	
1207	31.03.1958	Ž	2,0	
1208	09.11.1947	M	2,0	
1209	10.09.1932	Ž	2,0	
1210	11.07.1924	Ž	2,0	
1211	25.09.1947	Ž	2,0	
1212	26.03.1198	M	2,0	
1213	06.08.1932	M	2,0	
1214	12.11.1937	M	2,0	
1215	05.10.1926	Ž	2,0	
1216	08.06.1963	Ž	2,0	
1217	26.01.1947	Ž	2,0	
1218	30.01.1938	Ž	2,0	
1219	26.04.1936	M	2,0	
1220	31.10.1946	M	2,0	
1221	01.06.1930	Ž	2,0	

2393	16.03.1933	Ž	217,9	RAK
2394	25.05.1931	M	223,6	RAK
2395	05.07.1929	M	226,8	
2396	29.12.1954	Ž	265,9	
2397	22.09.1923	Ž	303,4	RAK
2398	02.04.1928	M	322,3	RAK
2399	23.11.1931	Ž	322,3	RAK
2400	02.01.1934	Ž	335,6	RAK
2401	07.06.1949	M	344,2	RAK
2402	06.04.1938	M	349,4	RAK
2403	19.09.1931	Ž	362,2	RAK
2404	26.02.1927	M	362,7	RAK
2405	20.07.1950	M	382,0	RAK
2406	17.09.1922	Ž	399,7	RAK
2407	30.07.1931	Ž	406,6	RAK
2408	06.05.1943	M	409,5	RAK
2409	10.12.1949	M	433,6	RAK
2410	10.03.1926	Ž	463,5	RAK
2411	13.01.1932	Ž	493,9	
2412	20.06.1952	Ž	517,1	RAK
2413	08.05.1925	M	593,3	RAK
2414	05.04.1951	Ž	656,7	RAK
2415	20.04.1950	M	704,1	RAK
2416	13.09.1959	Ž	826,2	RAK
2417	17.10.1937	M	871,5	RAK
2418	04.07.1927	M	970,3	RAK
2419	08.06.1945	Ž	1148,9	RAK
2420	27.08.1945	M	1232,6	RAK
2421	01.04.1939	Ž	1250,5	RAK
2422	02.10.1937	Ž	1448,9	RAK
2423	12.08.1945	M	1721,7	RAK
2424	07.04.1952	Ž	1723,2	RAK
2425	22.03.1921	Ž	1761,1	RAK
2426	15.02.1925	M	1780,4	RAK
2427	25.06.1950	Ž	1831,2	RAK
2428	27.08.1943	Ž	1888,1	RAK
2429	14.10.1957	Ž	2279,0	RAK
2430	22.11.1950	M	2368,2	RAK
2431	15.08.1939	M	2447,8	RAK
2432	16.12.1925	M	2563,8	RAK
2433	14.10.1951	Ž	2708,7	RAK
2434	09.03.1931	M	2868,6	RAK
2435	24.08.1938	M	3269,7	RAK
2436	25.12.1934	M	3270,7	RAK
2437	04.03.1935	M	3917,5	RAK
2438	06.06.1930	M	5191,9	RAK
2439	02.01.1951	Ž	5223,4	RAK
2440	30.08.1934	Ž	5376,3	RAK
2441	27.01.1969	M	8168,0	RAK
2442	03.07.1948	Ž	15915,2	RAK

