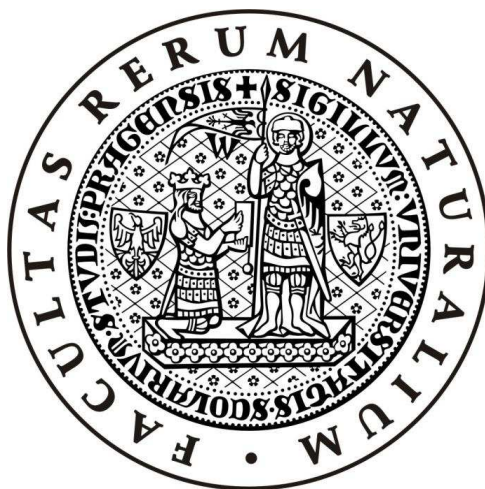


# Univerzita Karlova v Praze

## Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Tereza Chlupáčová

### **Laboratorní diagnostika feochromocytomu**

Laboratory diagnosis of pheochromocytoma

Bakalářská práce

Školitel: doc. Ing. Radovan Bílek, CSc.

Praha 2013

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 17.05.2013

**Poděkování:**

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli doc. Ing. Radovanovi Bílkovi, CSc. za vedení bakalářské práce, odborné konzultace a za čas, který mi věnoval. Dále bych chtěla poděkovat rodině a blízkým přátelům za jejich podporu a pomoc během psaní této práce.

## **ABSTRAKT**

Feochromocytom je vzácné neuroendokrinní onemocnění vyskytující se převážně v chromafinní tkáni dřeně nadledvin. Pokud se tumor vyskytuje v chromafinní extraadrenální tkáni, nazývá se paragangliom. Feochromocytom způsobuje zvýšení hladiny vyplavovaných katecholaminů, což může mít v neléčených případech fatální důsledky. Cílem této práce je formou literární rešerše shrnout dosud získaná fakta o tomto závažném onemocnění. První část této práce je zaměřena na otázky spojené s výzkumem feochromocytomu, jsou zde uvedeny základní informace o tomto onemocnění včetně klinických projevů. Je zde také diskutován význam genetických vlivů v souvislosti s léčebnou strategií určenou pro pacienty s feochromocytomem. Druhá část této práce shrnuje postupy a metody, které se používají při laboratorní diagnostice feochromocytomu. V závěru práce jsou stručně popisovány možnosti lokalizace tumoru zobrazovacími technikami a postupy následné léčby pacientů s feochromocytomem.

### **Klíčová slova:**

feochromocytom, genetika, katecholaminy, laboratorní diagnostika, léčba, paragangliom, zobrazovací techniky

## **ABSTRACT**

Phaeochromocytomas are tumors predominantly rare to chromaffin tissue in adrenal glands' medulla. Tumors in the extra-adrenal chromaffin tissue are called paragangliomas. Phaeochromocytomas cause secretion of high amounts of catecholamines, which can lead to fatal consequences if not medically treated. The aim of this thesis is to summarize the so far known facts about this severe disease in a written review. The first part of the study focuses on issues of phaeochromocytoma research and lists general information about these tumors and their clinical manifestations. The importance of genetic influence in connection with treatment strategies for patients with phaeochromocytoma is also discussed. The second part of the thesis summarizes procedures and methods used in laboratory diagnostics of phaeochromocytomas. The conclusion briefly describes the possibilities of tumor localization using imaging technologies and procedures of subsequent treatment of patients with phaeochromocytoma.

### **Key words:**

phaeochromocytoma, genetics, catecholamines, laboratory diagnostics, paraganglioma, treatment, imaging technology

## SEZNAM ZKRATEK:

A	adrenalin
Ab	specifická protilátka
ACTH	adrenokortikotropní hormon ( <i>adrenocorticotropic hormone</i> )
Ag	antigen
CgA	chromogranin A
COMT	katechol-O-methyltransferáza ( <i>catechol-O-methyltransferase</i> )
CT	výpočetní tomografie ( <i>computed tomography</i> )
DA	dopamin
FEO	feochromocytom ( <i>pheochromocytoma</i> )
FMTC	familiární medulární karcinom štítné žlázy ( <i>familial medullary thyroid cancer</i> )
HIFs	hypoxií indukované faktory ( <i>hypoxia-inducible factors</i> )
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie ( <i>High-performance liquid chromatography</i> )
<sup>131</sup> I-MIBG	metajodobenzylguanidin ( <i>metaiodobenzylguanidine</i> )
IRMA	imunoradiometrická analýza ( <i>immunoradiometric assay</i> )
LC-MS	HPLC s hmotnostní detekcí ( <i>liquid chromatography–mass spectrometry</i> )
MAO	monoaminoxidáza ( <i>monoamine oxidase</i> )
MAX	<i>Myc</i> associated factor X
MEN	multifunkční endokrinní neoplázie ( <i>multiple endocrine neoplasia</i> )
MN	metanefrin ( <i>metanephrine</i> )
MRI	magnetická rezonance ( <i>magnetic resonance imaging</i> )
MTC	medulární karcinom štítné žlázy ( <i>medullary thyroid cancer</i> )
NA	noradrenalin
NET	neuroendokrinní tumor ( <i>neuroendocrine tumors</i> )
NF 1	neurofibromatóza 1 ( <i>neurofibromatosis type I</i> )
NMN	normetanefrin ( <i>normetanephrine</i> )
PET	pozitronová emisní tomografie ( <i>positron emission tomography</i> )
PGL	paragangliom ( <i>paraganglioma</i> )
PGLs	familiární paragangliomatóza ( <i>familial paragangliomatosis</i> )
RET	<i>rearranged during transfection</i>
RIA	radioimunoanalýza ( <i>radioimmunoanalysis</i> )
SDHB	B podjednotka SDHx
SDHC	C podjednotka SDHx
SDHD	D podjednotka SDHx
SDHx	sukcinátdehydrogenázový komplex ( <i>succinate dehydrogenase complex</i> )
VHL	syndrom von Hippel-Lindau
VMA	kyselina vanilmandlová ( <i>vanillyl mandelic acid</i> )
WHO	<i>world health organization</i>

## OBSAH:

1.	ÚVOD .....	1
2.	HISTORIE.....	2
3.	CHARAKTERISTIKA ONEMOCNĚNÍ .....	3
3.1	ZÁKLADNÍ INFORMACE.....	3
3.2	PREVALENCE A ROZDĚLENÍ.....	4
3.2.1	BENIGNÍ FEOCHROMOCYTOM.....	4
3.2.2	MALIGNÍ FEOCHROMOCYTOM.....	4
4.	KLINICKÉ PŘÍZNAKY .....	6
5.	GENETIKA.....	8
5.1	SYNDROM MNOHOČETNÉ ENDOKRINNÍ NEOPLÁZIE (MEN) .....	9
5.1.1	MEN 1 (WERMERŮV SYNDROM).....	9
5.1.2	MEN 2 .....	9
5.1.3	RET PROTOONKOGEN .....	10
5.2	VON RECKLINGHAUSENOVA CHOROBA.....	10
5.3	SYNDROM VON HIPPEL-LINDAU (VHL) .....	11
5.4	FAMILIÁRNÍ PARAGANGLIOMATÓZA (PGLs).....	12
5.5	NEDÁVNO OBJEVENÉ GENY .....	12
5.5.1	GEN <i>TMEM 127</i> .....	12
5.5.2	MYC ASSOCIATED FACTOR X (MAX) .....	13
5.5.3	HIF2A MUTACE.....	13
6.	BIOCHEMICKÁ DIAGNOSTIKA .....	14
6.1	LABORATORNÍ TESTOVÁNÍ.....	14
6.1.1	KREVNÍ ODBĚR A SBĚR MOČI ZA 24 HODIN.....	14
6.1.2	KLONIDINOVÝ TEST .....	14
6.1.3	CHROMOGRANIN A (CgA).....	15
6.2	SYNTÉZA A DEGRADACE KATECHOLAMINŮ .....	15
6.3	METODY ANALÝZY .....	18

6.3.1 RADIOIMUNOANALYTICKÉ METODY.....	19
6.3.2 HPLC S ELEKTROCHEMICKOU DETEKČÍ (ED).....	20
6.3.3 HPLC S HMOTNOSTNÍ DETEKČÍ (LC-MS).....	20
7. LÉČBA.....	21
7.1 LOKALIZACE.....	21
7.1.1 ANATOMICKÉ ZOBRAZOVACÍ METODY .....	21
7.1.2 FUNKČNÍ ZOBRAZOVACÍ METODY .....	22
7.2 PŘEDOPERAČNÍ TERAPIE .....	22
8. ZÁVĚR.....	24
9. ZDROJE.....	25



# 1. ÚVOD

Feochromocytom je relativně vzácné nádorové onemocnění vyznačující se výraznou nadprodukcí katecholaminů. Feochromocytomy jsou převážně tumory vyskytující se v chromafinních buňkách dřeně nadledvin. Nádory vycházející také z chromafinních buněk, ale nacházející se extraadrenálně, se nazývají paragangliomy. Termín feochromocytom je odvozen od řeckých výrazů *phaios* a *chroma* a je znám již od začátku 20. století. Během 20. století došlo k nejvýraznějšímu vývoji výzkumu tohoto neuroendokrinního onemocnění a zároveň byly katecholaminy a jejich metabolity označeny jako důležité biomarkery feochromocytomu. Vysoká nadprodukce katecholaminů způsobuje symptomy typické pro tento typ nádorového onemocnění, jako je například bolest hlavy, pocení a pocity úzkosti. U 85-90% pacientů s feochromocytomem je nejvýraznějším projevem onemocnění hypertenze (Manger 2004). Na vzniku feochromocytomu se významně podílí i genetické faktory. V dnešní době známe již několik genů, které mohou být příčinou tohoto nádoru. Jedná se například o gen von Hippel-Lindau, o *RET* protoonkogen, o gen pro neurofibromatózu typu 1 a geny v dýchacím řetězci. Feochromocytom se vyskytuje poměrně vzácně, pokud však není včas rozpoznán, následky mohou být i smrtelné. Naopak správně léčený pacient s včas rozpoznaným feochromocytomem má vysokou šanci na úplné vyléčení. Pro včasné diagnostikování feochromocytomu jsou velmi důležité pokroky v biochemické diagnostice, nové postupy při lokalizaci nádoru, zpřesnění chirurgických technik a porozumění patofyziologii a genetice nádoru, což následně vede k přesnějším a účinnějším strategiím během léčby. Cílem této bakalářské práce je shrnout dosavadní poznatky o feochromocytomu, týkající se jak jeho výzkumu a klinických projevů, tak i postupů uplatňujících se v laboratorní diagnostice tohoto onemocnění.

## 2. HISTORIE

Feochromocytom (FEO) byl mezi prvními rozpoznávanými nádory nadledvin. Jedna z nejstarších konkrétnějších zmínek je dochována z roku 1886 od Felixe Fränkela. Pacientka (18let) podle zápisu trpěla občasným náhlým bušením srdce, úzkostí, závratí, bolestmi hlavy, nevolností a celkovými problémy s vyměšováním. Postupem času byla čím dál více pobledlá, zvětšila se jí viditelně štítná žláza (struma) a vyvinula se u ní retinopatie (cévní onemocnění sítnice). V závěru svého života trpěla vysokými horečkami a bolestí na hrudi. Při pitvě byly odhaleny bilaterální nádory nadledvin. Fränkel přisuzoval veškeré klinické příznaky nefritidě a nádor popsal jako bezpříznakový (“latentní“). Později popisované podobné nálezy byly nazývány různými jmény (Welbourn 1990). Termín feochromocytom byl navržen až Ludwigem Pickem v roce 1912 a pocházel z řeckých výrazů *phaios* (hnědý) a *chroma* (podle zbarvení, ke kterému dochází po obarvení solemi chromu). Soli chromu oxidují a polymerizují katecholaminy. Charakteristické hnědé zbarvení se tak vyskytuje nejčastěji u buněk vylučujících adrenalin (A), noradrenalin (NA) a jejich metabolity.

Termíny chromafinní systém a paragangliom (PGL) poprvé použil na přelomu 19. a 20. století Alfréd Kohn, profesor histologie na pražské Karlově univerzitě (Prys-Roberts 2001). V roce 1936 skupina kolem Kellyho izolovala adrenalin z FEO a v roce 1949 v něm Holton poprvé dokázal i přítomnost NA. V 50. letech 19. století von Euler poukázal na skutečnost, že u pacientů s diagnostikovaným FEO se zvýšila koncentrace adrenalinu, noradrenalinu či metoxytyraminu (metabolit dopaminu) v moči (Euler 1951). Zanedlouho poté Laud spolu s Mollerem popsali zvýšenou koncentraci adrenalinu a noradrenalinu také v plazmě (Lund & Møller 1951). V následujících letech se více laboratoří zaměřilo, na výzkum změn koncentrací jednotlivých katecholaminů v moči, nebo plazmě pacientů s FEO. Například Armstrong *et al.* naměřili v moči zvýšené hladiny kyseliny vanilmandlové (VMA) (Armstrong *et al.* 1957). V téže roce Axerold *et al.* popsali důležitost O-metylace katecholaminů a LaBrosse *et al.* prokázali zvýšenou koncentraci normetanefrinu (NMN) (O-metylovaný metabolit NA) v moči (LaBrosse *et al.* 1958). V roce 1962 proběhly první úspěšné operace FEO. Operace vedli César Roux (Švýcarsko) a Charles H. Mayo (USA) (Pacák 2008). V 70. letech 20. století se povedlo Greenovi a Tischlerovi vytvořit tkáňovou kulturu nazývajících se PC12 (angl. PheochromoCytoma – zkráceně PC), která pocházela z FEO krysí dřeně nadledvin. Buňky PC12 se po ošetření nervovým růstovým faktorem přestanou množit, podstoupí konečnou diferenciaci a tím se vytvoří linie buněk, která slouží jako

užitečný modelový systém pro diferenciaci nervových buněk (Greene & Tischler 1976). V roce 2004 WHO („World health organization“) definovala FEO jako nádor chromafinních buněk v dřeni nadledvin (intraadrenální FEO/PGL), který úzce souvisí s nádory v extraadrenální oblasti (sympatické a parasympatické FEO/PGL).

### **3. CHARAKTERISTIKA ONEMOCNĚNÍ**

Feochromocytomy jsou relativně vzácné neuroendokrinní nádory lokalizované v dřeni nadledvin. Ačkoliv se jedná o rozměrově malou tkáň, dřeň nadledvin zastává mnoho významných funkcí. Tato tkáň je tvořena řídkou sítí buněčných trámců nebo skupinami žlázových buněk. Trámce a ostrůvky jsou uloženy v retikulárním vazivu, které obsahuje mimo jiné četné krevní kapiláry, nervová vlákna a gangliové buňky. V cytoplazmě jsou sekreční granule, které se barví díky solím chromu hnědě, buňky se proto označují jako chromafinní buňky. Chromafinní buňky mají schopnost produkovat a vylučovat různé aminy a některé peptidové hormony, například adrenokortikotropní hormon (ACTH), chromograniny, neuropeptid Y, kalcitonin, parathormon a jiné (Pacák 2008).

#### **3.1 ZÁKLADNÍ INFORMACE**

Feochromocytom je nádor, který z 85% vychází z chromafinní tkáně dřene nadledvin a v 15% se nachází v extraadrenální oblasti (Elder, Elder & Larsson 2005), například v močovém měchýři, Zuckermandlově orgánu a v oblasti břicha a pánve (Whalen et al. 1992). Zajímavostí je, že extraadrenální FEO jsou frekventovanější u dětí (30%) než u dospělých (15%) (Manger 2004). Tumor syntetizuje, ukládá a metabolizuje katecholaminy, obvykle adrenalin a noradrenalin. Tyto hormony se účastní stresových reakcí organismu a jejich nadprodukce často způsobuje velmi výrazné klinické projevy (Štrauch & Zelinka 2009). O-methylované metabolity katecholaminů jsou nicméně metabolizovány v chromafinních buňkách konstantně a nezávisle na vylučování katecholaminů. Znamená to tedy, že vždy nemusí dojít k vylučování katecholaminů.

Také paragangliom je nádor vycházející z chromafinní tkáně. PGL představují 10-18% nádorů pocházející z chromafinní tkáně. Podle jejich původu se dělí na sympatické PGL, pocházející z tkáně sympatického nervového systému (oblast břicha, pánve včetně močového měchýře), a dále parasympatické PGL pocházející z parasympatického nervového systému (oblast hlavy a krku) (Reisch et al. 2006). Sympatické PGL jsou ve většině případů hormonálně aktivní a představují až 20% všech FEO (Pacák 2008). Parasympatické PGL jsou

v 95% sekrečně „němé“, což znamená, že nesyntetizují katecholaminy. Rozpoznání těchto nádorů je pak založeno na histopatologické klasifikaci (Zelinka 2007).

### **3.2 PREVALENCE A ROZDĚLENÍ**

Konkrétní čísla odhadů prevalence FEO získané z klinik se pohybují u hypertenzní populace od 0,01% až do 0,1%. Ve specializovaných centrech zaměřených na hypertenzní pacienty jsou tato čísla výrazně vyšší (Strauch et al. 2003). FEO je vzácnou příčinou sekundární hypertenze s prevalencí asi 0,05-0,1% u pacientů s trvalou hypertenzí. Pacienti s trvalou hypertenzí představují pouze 40-50% pacientů s feochromocytomem, protože přibližně stejný počet pacientů trpí pouze paroxysmální hypertenzí a až 10% pacientů je normotenzních (McBride et al. 2003). Ačkoliv patří FEO mezi vzácná onemocnění, jeho včasná diagnostika je velmi důležitá. Vyskytuje se ve všech věkových kategoriích. Nejběžněji se vyskytuje mezi třetí a pátou dekadou života, kdy nebyl prokázán vliv pohlaví na výskyt onemocnění. FEO je často popisován „pravidlem deseti“: 10% maligní, 10% extraadrenální, 10% familiární a 10% v dětství.

#### **3.2.1 BENIGNÍ FEOCHROMOCYTOM**

Feochromocytom považujeme za benigní (nezhoubný), pokud se nádory nešíří do jiných tkání v těle. Většina FEO je vyhodnoceno jako benigní, pomalu rostoucí a mající vysokou šanci na vyléčení (až 90%). Ovšem pokud není FEO objevený včas, může mít nádor tragické následky. A to převážně kvůli nadprodukci katecholaminů, která vede k hypertenzi, srdečnímu selhání, infarktu myokardu, cévním mozkovým příhodám nebo dalším onemocněním. Švédská studie prokázala, že pacient s adrenálním FEO má zvýšené riziko i pro výskyt jiných maligních onemocnění. U mužů se jedná převážně o rakovinu jater, žlučových cest a nádory v centrální nervové soustavě. U žen se pak vyskytuje zároveň s FEO nejčastěji maligní melanom či karcinom děložního čípku. U tohoto druhu nádorů je prognóza velmi dobrá, přesto je možné očekávat recidivu (až 10%). Je proto nutné pacienty nadále sledovat (Khorram-Manesh et al. 2004). Za nejúčinnější léčbu FEO je považována chirurgická resekce.

#### **3.2.2 MALIGNÍ FEOCHROMOCYTOM**

Za maligní (zhoubné) nádory se považují ty, které metastázuje do jiných tkání v těle. Pro FEO jsou to nejčastěji lymfatický a cévní systém, kosti, plíce a játra. Procentuální zastoupení maligních nádorů je v rozmezí od 2,4% do 26% s vysokým zastoupením

extraadrenálních FEO (Proye et al. 1992). Je téměř nemožné odlišit maligní a benigní nádor pouze pomocí histologických nálezů. Pro histologické popisy je k dispozici několik skórovacích systémů, které mohou být určitým vodítkem pro předpovědi chování nádorů („Pheochromocytoma of the Adrenal gland Scaled Score“, skórovací systém podle Kimurové). Navzdory zvyšující se dostupnosti molekulárních, diagnostických a prognostických markerů stále není možné předpovědět další vývoj zhoubného onemocnění. Žádná z histologických funkcí nepředpovídá ani neposkytuje jasný důkaz o přesné poruše. Pouze přítomnost metastází chromafinní tkáně v místech, kde se normálně chromafinní tkáň nevyskytuje, je rozhodující pro stanovení definitivní diagnózy maligního FEO (Lenders et al. 2005). Klasické patologické příznaky malignity, jako jsou nádorové nekrózy, invaze do cév/pouzdra, jaderná atypie, však nemusí vždy znamenat, že se jedná o maligní nádor. Průměrný pětiletý interval přežití je 84,4% s velkými individuálními rozdíly (J. Park et al. 2011). Většinou nádory větší než 5 cm, nebo extraadrenální FEO mají vyšší riziko malignity. Také pacienti s mutací B podjednotky sukcinátdehydrogenázového komplexu, nebo se zvýšenou koncentrací dopaminu (DA) a dyhydroxyfenylalaninu patří mezi rizikové skupiny (Modigliani & Vasen 1995). Klinický průběh onemocnění je velmi variabilní. Dosud bohužel neexistuje účinná léčba, tudíž je chirurgická resekce stále nejlepší pro zlepšení příznaků. Farmakologická terapie maligních nádorů se výrazně neliší od léčby nádorů benigních. Pro pacienty s jasně ohraničeným nádorem je často operativní zákrok jejich jedinou léčebnou šancí na přežití. Nicméně pro metastazující tumory je hojně využívána tzv. předoperační léčba, do které patří léčba pomocí adrenergních blokátorů, chemoterapie, nebo radioterapie pomocí metajodobenzylguanidinu ( $^{131}\text{I}$ -MIBG). Terapie využívající  $^{131}\text{I}$ -MIBG se používá u metastatického pomalu rostoucího FEO a je účinná pouze u 30% pacientů (Havekes et al. 2008). U rychle rostoucích nádorů se jako nejvhodnějším postupem po chirurgickém odstranění tumoru ukázalo zahájení chemoterapie.

## 4. KLINICKÉ PŘÍZNAKY

Přebytek uvolněných katecholaminů způsobuje, že klinické projevy FEO/PGL jsou variabilní a často nespecifické. Klinické příznaky jsou popisovány klasickou triádou symptomů, mezi něž patří bolesti hlavy (72%), pocení (69%), palpitace (tachyarytmie, hypertenze – 51%), v úvahu je nutné brát i nápadnou bledost pacienta. Příznaky mohou být jak trvalého, tak i záchvatového (ataky) charakteru. To je ovlivňováno kontinuálním či paroxysmálním uvolňováním katecholaminů z tumoru. Nádorem indukované záchvaty tak mohou trvat od sekund po hodiny, výjimkou nejsou ani asymptomatictí pacienti. Je důležité si uvědomit, že nekolísá pouze intenzita záchvatů, ale také intervaly mezi jednotlivými příhodami. Klinické příznaky FEO/PGL jsou převážně způsobeny nadprodukcí katecholaminů (A, NA) a jejich metabolitů, v menší míře pak i lokálním útlakem tumoru. Shrnutí příznaků se nachází v tabulce č. 1.

Tab. č. 1:

Frekvence klinických příznaků a projevů typické pro pacienty s FEO

	Frekvence (%)
Bolesti hlavy	60-90
Palpitace	50-70
Pocení	55-75
Bledost	40-45
Nevolnost	20-40
Návaly horka	10-20
Váhový úbytek	20-40
Únava	25-40
Psychologické symptomy (panika, úzkost)	20-40
Trvalá hypertenze	50-60
Záchvatovitá hypertenze	30
Ortostatická hypotenze	10-50
Hyperglykémie	40

Upraveno podle (Lenders et al. 2005)

Trvalá nebo záchvatovitá hypertenze jsou nejvýraznějšími klinickými příznaky FEO/PGL (85-95%). Ačkoliv se hypertenze řadí k nejvýznamnějším projevům FEO, je FEO nakonec diagnostikován pouze u desetin procent hypertenzních pacientů. U některých pacientů je však hypertenze způsobená FEO velmi závažná a je nutno ji okamžitě léčit. Tyto záchvaty mohou vést ke smrti pacienta (Manger 2004). Míra záchvatovitosti ve smyslu četnosti opakování a její intenzity se může měnit po aplikaci některých léků (glukagon, tricyklická antidepresiva, radioaktivní kontrastní látky), nebo po požití jídla obsahujícího tyramin (sýry, víno, pivo), ale také při kouření, při močení, nebo po přímé manipulaci s nádorem (Sheps et al. 1988).

Nejen hypertenze je klinickým příznakem FEO. U pacientů se vlivem nadměrného vylučování katecholaminů vyskytují i další klinické příznaky jako je bledost, úzkost, návaly horka, rozostřené vidění, náhlý úbytek hmotnosti, hyperglykémie, zvýšená sedimentace erytrocytů, polyurie, polydipsie. Katecholaminy také negativně ovlivňují peristaltiku střev a zhoršují motilitu intestinálního traktu v důsledku křečí, zácpy, neprůchodnosti střev, nekrózy střev, u některých pacientů byl popsán i výskyt průjmů (Yeo & Roman 2005).

FEO v průběhu těhotenství je velmi vzácný. Stává se ale velmi nebezpečným jak pro matku, tak i pro plod. Kvůli jeho nespecifičnosti je velmi těžké ho rozpoznat. Příznaky FEO se často přiřazují jiným, v těhotenství běžnějším onemocněním (preeklampsie, hypertenze, thyreotoxikita, gestační diabetes). Plod je sice chráněn před přímými účinky volně cirkulujících katecholaminů, co ho však ohrožuje na životě, je nedostatečné, nebo naopak vysoké prokrvení placenty. Správně prokrvení placenty se udržuje pomocí  $\alpha$ -blokátorů. Jestliže je FEO diagnostikován v prvních dvou trimestrech, je nejvhodnější přistoupit k resekci nádoru. Operace jsou vedeny laparoskopicky. Chirurgický zákrok je značně rizikový, ale díky vědeckému a technickému pokroku má čím dál vyšší úspěšnost. Pokud je tumor diagnostikován až ve třetím trimestru, je doporučena pouze léčba  $\alpha$ -blokátory a po dosažení zralosti plodu se přistupuje k císařskému řezu. Přirozený porod by byl příliš riskantní (Grodski et al. 2006).

Kromě přebytku katecholaminů bylo zjištěno, že se u FEO vykazují zvýšené hladiny kalcitoninu, interleukinu-6, neuropeptidu Y a chromograninu A. O chromograninu A se bude mluvit podrobněji v jedné z dalších kapitol.

## 5. GENETIKA

Průkopnická práce Neumanna *et al.* z roku 2002 poukazuje na fakt, že čtvrtina případů FEO/PGL je dědičných (Neumann *et al.* 2002). Podle nedávné publikace se číslo prevalence mutace jednoho z 5 genů, známých pro výskyt familiárních forem FEO/PGL, zvýšilo až na 30-40% (Gimenez-Roqueplo 2012). Rozlišuje se několik základních genetických syndromů, které jsou se vznikem FEO/PGL spojeny. Patří sem syndromy mnohočetné endokrinní neoplázie (mutace *RET*-protoonkogenu), von Recklinghausenova choroba (mutace genu pro neurofibromatózu typu 1), von Hippel-Lindauova choroba (mutace genu von Hippel-Lindau), a familiární paragangliomatóza (mutace genu pro podjednotky sukcinátdehydrogenázy). FEO/PGL však nejsou u těchto syndromů pokaždé přítomné a nebývají ani první klinickou manifestací těchto onemocnění. Je proto nezbytné, aby se ke genetickým analýzám přistupovalo u všech pacientů s nalezeným FEO/PGL. Zejména pak u osob mladších 50 let (Lenders *et al.* 2005). Lepší orientaci v genetických syndromech spojených s FEO nám poskytuje tabulka č. 2.

Tabulka č. 2:

Familiární feochromocytom a funkční paragangliom: základní fakta

Parametr	Syndrom von Hippel-Lindau	Mnohačetná endokrinní neoplazie 2	Neurofibromatóza 1	Syndrom SDHB	Syndrom SDHD
Gen	<i>VHL</i>	<i>RET</i> protoonkogen	<i>NF1</i>	<i>SDHB</i>	<i>SDHD</i>
Chromosom	3p25-26	10q11,2	17q11,2	1p36.13	11q23
Katecholaminový fenotyp nádoru	NA	A	A	NA, DA	NA

Upraveno podle (Zelinka *et al.* 2007)

Katecholaminový fenotyp nádoru je vyjádřen jako převážně produkující adrenalin (A), nebo převážně produkující noradrenalin (NA) s možnou nadprodukcí dopaminu (DA)

*NF1*- gen pro neurofibromatózu typu 1

*SDHB* – gen pro podjednotku B-sukcinátdehydrogenázy

*SDHD* – gen pro podjednotku D-sukcinátdehydrogenázy

*VHL* – gen von Hippel-Lindau

Dědičné FEO/PGL je možné podle biochemických drah a transkripčního profilu mutací jednotlivých genů rozdělit do dvou skupin (tzv. klastrů). Tj. na klastr bohatý na translační proteiny a receptory signálních kináz (*RET* protoonkogen, neurofibromatóza typu 1) a na pseudohypoxický klastr (syndrom von Hippel-Lindau, mutace sukcinátdehydrogenázového komplexu). Identifikace genů a následné rozřazení do klastrů výrazně usnadňuje nalezení optimálního přístupu k cílené léčbě (Buffet *et al.* 2012).



Díky stále probíhajícímu výzkumu jsou odhalovány nové genetické faktory, nové mutace již známých genů, či změny na epigenetické úrovni (metylace histonů), jež mohou hrát ve vývoji nádoru důležitou roli (Musil & Puchmajerová 2010).

## **5.1 SYNDROM MNOHOČETNÉ ENDOKRINNÍ NEOPLÁZIE (MEN)**

Termínem MEN se popisuje série geneticky propojených syndromů, kdy je současně postiženo několik endokrinních žláz. Většinou jde o hereditární autozomálně dominantní mutaci. Rozlišují se dva základní typy – MEN 1 a MEN 2.

### **5.1.1 MEN 1 (WERMERŮV SYNDROM)**

MEN1 je charakterizován primární hyperparatyreózou a tumory hypofýzy a pankreatu. Postižený gen (tumor-supresorový) je lokalizován na 11. chromozomu a kóduje bílkovinu zvanou menin, která potlačuje buněčný růst. Je zde možnost jak chirurgické tak i medikamentózní terapie. Feochromocytom se u MEN 1 nevyskytuje.

### **5.1.2 MEN 2**

MEN 2 mutace postihuje přibližně jednoho ze 40 tisíc jedinců v populaci. Nejčastěji vzniká ve čtvrté dekádě života, ale postižení v dětství není výjimkou. MEN 2, u něhož se genetická abnormalita vyskytuje na 10. chromozomu, je charakterizován medulárním karcinomem štítné žlázy (MTC), FEO a hyperparatyreózou. Klinické projevy MEN 2 jsou variabilní a závisí na typu nádorové mutace. Pro FEO u pacientů s MEN 2 je charakteristický „adrenergní fenotyp“ (v plazmě nebo moči převažuje adrenalin nebo metanefrin). Pacienti bývají často normotenzní či asymptomatictí a v časných fázích onemocnění bývá právě tato nadprodukce jedinou zjistitelnou abnormalitou. U většiny případů (50-80%) se vyvíjí bilaterální adrenální a benigní nádory (s možnou recidivou). Extraadrenální a maligní tumory jsou velmi vzácné (<5%) (Neumann & Berger 1993). FEO se vyskytuje v 50 % případů rodin s mutací v genu MEN 2 a v 30% dochází vlivem onemocnění k úmrtí. Příbuzní v postižených rodinách by měli podstoupit každoroční kontrolu a to již od útlého dětství zhruba do 35 let. Po dosažení 35 let nemusí být preventivní kontroly až tak časté, ale doporučuje se v nich pokračovat.

MEN 2 se vyskytuje ve dvou základních formách – MEN 2A a MEN 2B. Tyto formy jsou jak geneticky, tak i klinicky odlišné.

U MEN 2A (Sippleův syndrom) dojde k propojení MTC s FEO (50% případů) nebo s primární hyperparatyreózou, možné jsou i všechny tři kombinace. MEN 2A postihuje

především nemocné středního věku. Obvykle bývá MTC diagnostikován dříve než FEO. Značné pokroky v diagnostice tohoto syndromu umožňují kvalitnější a hlavně úspěšnější léčbu. Například nemocné děti, u kterých se povedlo diagnostikovat MEN 2A včas, a které následně podstoupily tyreoidektomii, vedou plně produktivní život (Pasquali & Matteo 2011).

Mutace MEN 2B se projevuje přítomností MTC, mnohočetnými neuromy (hrbolaté rty a jazyk), FEO a marfanoidními rysy. Na rozdíl od MEN 2A bývá diagnostikován již v dětském věku. FEO má zpravidla pozdější průkaznost a zřídka bývá bilaterální či maligní. MEN 2B nacházíme ve starší literatuře klasifikován jako MEN 3 (Khairy & Dexter 1975).

Všechny formy MEN 2 mají zárodečné bodové mutace v *RET* protoonkogenu.

### 5.1.3 *RET* PROTOONKOGEN

*RET* protoonkogen je tvořen 21 exony a kóduje membránový protein s tyrosinkinázovou aktivitou. Zkratka RET znamená "rearranged during transfection". Má značně rozsáhlou N-terminální extracelulární doménu (9 konců pro N-glykosylaci), která obsahuje oblasti bohaté na cystein a kadherinové proteiny. Hydrofóbní transmembránová a tyrosin-kinázová intracelulární doména vyžadují pro svou aktivaci a správné fungování fosforylaci (Takahashi & Cooper 1987). Alternativní sestřih *RET* genu vede k produkci různých izoform RET proteinu, jako jsou RET51, RET43, RET9 apod. Co všechny izoformy spojuje, je jejich prostorové uspořádání. Mutace tohoto genu způsobují neoplastické změny například v buňkách štítné žlázy, chromafinních buňkách nadledvin a ve vegetativních a střevních paragangliích. Byl poprvé rozpoznán před 20 lety a v následujících letech se umístil na přední příčce vědeckého zájmu. Detekce RET mutací pro MEN 2 představuje paradigma pro následnou péči o pacienta (Mulligan et al. 1994).

## 5.2 VON RECKLINGHAUSENOVA CHOROBA

Von Recklinghausenova choroba, neboli neurofibromatóza typu 1 (NF1) je autozomálně dominantní neurokutánní onemocnění. Výskyt choroby je odhadován na 1 : 3500. NF1 je diagnostikována u 5-10% pacientů s FEO. Jedná se ovšem o mimořádné případy, protože k rozvoji FEO dojde u méně než 5% pacientů s NF 1 diagnózou. Genetický screenig tak není nezbytně nutný (Prys-Roberts 2001). Až u poloviny postižených vzniká von Recklinghausenova choroba mutací *NF1* genu *de novo*. Gen *NF1* je uložen na dlouhém raménku 17. chromozomu. Jde o tumor-supresorový gen, jehož produktem jsou neurofibrily, které se podílí na intracelulárním průběhu signální kaskády spojené s ras-kinasou. Průběh

nemoci je velmi variabilní, je doprovázen rozdílným výskytem příznaků, a to i u postižených v rámci rodiny. Výskyt symptomů je věkově vázaný. *NF1* gen je obrovský (51 exonů), z tohoto důvodu je zpravidla diagnóza stanovována na základě specifických příznaků. Mezi základní klinické projevy vedoucí k diagnostice FEO patří *café-au-lait* skvrny (objeví se do věku 5 let), neurofibromy (nádorové uzlíky) a Lischovy uzlíky (hamartomy duhovky) (Jouhilahti et al. 2011). FEO spojený s NF1 se zřídka objevuje u dětí a nádor je nejčastěji stanoven ve středním věku. Pouze u 10% postižených je diagnostikován bilaterální FEO a dokonce u méně než 5% se vyskytuje maligní tumor (Pacák 2008). FEO způsobený touto mutací produkuje adrenalin i noradrenalin.

### 5.3 SYNDROM VON HIPPEL-LINDAU (VHL)

Jedná se opět o vzácné autozomálně dominantní onemocnění s predispozicí k jak maligním, tak i benigním tumorům. Syndrom je způsoben mutací tumor supresorového *VHL* genu, který je lokalizován na krátkém raménku 3. chromozomu. Výzkumy z Německa v roce 1991 ukázaly prevalenci 1 : 39 000 (Maher et al. 1991). Mezi symptomy vyskytující se u VHL patří bolesti hlavy, slabost, ztráta rovnováhy, zmatenost, vysoký tlak. Klinicky se pak projevuje nejčastěji angiomatózou, FEO, cystami na pankreatu a renálním karcinomem. Přibližně 7-9% zdánlivě sporadických FEO může být způsobeno touto mutací a u 23 % pacientů se jedná o mutaci *de novo*. Mutovaný gen *VHL* je napojen na dýchací řetězec a postihuje tak buněčný cyklus a extracelulární matrix. VHL syndrom můžeme rozdělit na tři typy podle pozorovaných korelací mezi fenotypem a genotypem. FEO se však vyskytuje pouze u typu 2.

U typu 1 se často vyskytuje delece nebo “nonsense“ mutace. V této skupině se vyskytují hemangioblastomy, renální karcinomy, slezinné a ledvinné cysty.

K typu 2 dochází prostřednictvím “missense“ mutace a je klasifikován podle vzrůstající rizikovosti pro FEO do tří podtypů (A, B, C). Pacienti typu 2A jsou ohroženi vznikem hemangioblastomů a částečně i FEO. Pro pacienty typu 2B jsou typické jak hemangioblastomy a FEO, tak i renální karcinomy. A u pacientů typu 2C je tvořen pouze FEO (Chen et al. 1995).

FEO vyskytující se u VHL syndromu má výlučně noradrenergní fenotyp. Převážně je lokalizován v adrenální oblasti a u 50% postižených najdeme bilaterální tumor. Pravděpodobnost malignity je menší než 5%. Asymptomatických a normotenzních pacientů je přibližně 80%. Tyto nádory jsou zpravidla nalezeny díky pravidelným ročním screeningům,

nebo při hledání nových tumorů u rodinných příslušníků pacientů trpících syndromem VHL (Maher et al. 1991).

## 5.4 FAMILIÁRNÍ PARAGANGLIOMATÓZA (PGLs)

Familiární paragangliomatóza je vzácný syndrom vyznačující se pomalu rostoucími nádory v oblastech hlavy, krku, hrudníku, břicha a pánve. Je charakterizován mutací sukcinátdehydrogenázového komplexu (SDHx). Konkrétně se jedná o podjednotky SDHB (katalytická podjednotka B SDH komplexu), SDHC (velká podjednotka cytochromu b) a SDHD (malá podjednotka cytochromu b). Mutace SDHx jsou jedny z nedávno objevených mutací vyskytujících se u pacientů s FEO. Mutace genů *SDHB* a *SDHC* jsou lokalizovány na 1. chromozomu, gen *SDHD* se nachází na dlouhém raménku 11. chromozomu. 3-11% postižených s mutací *SDHB/SDHD* genu jsou asymptomatictí s lokalizací PGL v oblasti hlavy, hrudi a břicha. Hlavové, krční PGL a další multifokální onemocnění jsou nejčastěji výsledkem mutace genu *SDHD*. Naopak SDHB podjednotka má za následek zvýšený výskyt maligních případů. U 40-50% pacientů s metastatickým FEO se vyskytuje SDHB mutace (Brouwers et al. 2006). Chromafinní nádory v důsledku mutací obou genů produkují převážně NA. U SDHD mutace se onemocnění projeví pouze u jedince, který mutaci zdědil od otce. Genetický screening se doporučuje hlavně u pacientů s SDHB a SDHD mutacemi. Nádory způsobené mutací SDHx produkují adrenalin a velmi často také noradrenalin a dopamin.

## 5.5 NEDÁVNO OBJEVENÉ GENY

Výše uvedený výčet mutací není konečný. Vědci stále objevují nové mutace genů spojených s FEO/PGL. Nálezy nových genů a jejich transkripčních profilů nám poskytují prostor pro další léčebné strategie aplikované na tyto nádory.

### 5.5.1 GEN *TMEM 127*

Tento velmi mladý gen (první zmínka v roce 2010) kóduje transmembránový protein složený z 238 aminokyselin. Gen *TMEM 127* je situován na 2. chromozomu. FEO s mutací *TMEM 127* patří transkripčně do stejného klastru jako *RET* protoonkogen a *NF 1*. Studie odhalily *TMEM 127* jako nový tumor supresorový gen. Aktivně se spojuje s endozomy a může se zapojit do proteinového transportu mezi plazmatickou membránou, Golgiho systémem a lysozomy. Nádory vykazují jak bilaterální, tak i unilaterální orientaci a sekretují vyšší hladiny metanefrinu (Qin et al. 2010).

### 5.5.2 MYC ASSOCIATED FACTOR X (MAX)

V roce 2011 Comino-Méndez *et al.* identifikovali *MAX*, který je novým tumor supresorovým genem u 1,12% pacientů s FEO. Protein kódovaný tímto genem je součástí základu helix-smyčka-helix u leucinového zipu. Mutace v genu způsobuje bilaterální FEO (Comino-Méndez *et al.* 2011) a je spojena s vysokým rizikem malignity (25%). Mutace byly lokalizovány na všech 5 exonech genu *MAX*, nejvíce však na exonu 3 a 4 (Burnichon *et al.* 2012). *MAX* protein je klíčovou složkou MYC-MAX-MXD1, což je buněčná síť zapojená do několika funkcí typu buněčné proliferace, diferenciace a apoptózy (Comino-Méndez *et al.* 2011).

### 5.5.3 HIF2A MUTACE

Hypoxií indukované faktory (HIFs) jsou transkripční faktory, které mají na starost kontrolu výdeje energie, metabolismus železa, erytropoézu a další buněčné procesy. Při jejich poškození dochází k tvorbě a následné migraci nádorů. K mutaci dochází nejčastěji na exonu 12 a projevuje se zvýšenou aktivitou HIF2 $\alpha$ , která vede k indukci hypoxie. Ačkoliv se o této mutaci vědělo již delší dobu, poprvé byl syndrom popsán v roce 2012 Zhuangem *et al.* a následně byl pojmenován Pacak-Zhuang syndrom (Zhuang *et al.* 2012). Somatická genová mutace HIF2A je u pacientů s FEO asociovaná s polycytémií, což je chronické onemocnění, charakterizované zvýšenou hladinou erytropoetinu (Vicha *et al.* 2013).

## **6. BIOCHEMICKÁ DIAGNOSTIKA**

Všichni pacienti s podezřením na FEO by měli být řádně otestováni. K tomu je možné použít celé řady biochemických testů, které jsou založeny převážně na měření koncentrace katecholaminů a jejich metabolitů (metanefrin, normetanefrin, VMA) v plazmě a moči. O-metylované metabolity se ukázaly jako ukazatelé s vyšší senzitivitou, protože jsou vyplavovány kontinuálně a nezávisle na době vyplavení katecholaminů (Gerlo & Sevens 1994). Nové biochemické testy tak přinášejí celou řadu výhod, jako jsou nezávislost na kolísání hladiny katecholaminů, přesnější údaje odpovídající velikosti tumoru a minimální ovlivnění po požití léků. Výsledky testů nejsou také tak často falešně pozitivní, jako tomu bývalo u dřívějších měření.

### **6.1 LABORATORNÍ TESTOVÁNÍ**

Pro laboratorní diagnostiku feochromocytomu se používá jak krev, tak i moč, která je obvykle sbíraná 24 hodin. V tomto biologickém materiálu jsou stanovovány jak metabolity katecholaminů, tak i chromograniny a sekretograniny, které se používají při laboratorní diagnostice FEO. Také funkční klonidinový test usnadňuje stanovení FEO.

#### **6.1.1 KREVNÍ ODBĚR A SBĚR MOČI ZA 24 HODIN**

Krevní odběr by měl probíhat v pro pacienta komfortním prostředí, které minimalizuje případný stres. Někteří lékaři preferují před odběrem 15-30 minutové ležení, pro některé je postačující odběr vsedě probíhající za normálních podmínek. Vzhledem k hydrodynamice krevního oběhu je nejlepší odběr z polohy vleže. Během 24-hodinového sběru moči je nutné, aby se pacient vyhnul stresovým situacím a fyzické aktivitě. Tyto faktory mohou vést k nežádoucímu uvolnění katecholaminů do oběhu. Je důležité minimálně týden před testováním vysadit (pokud je to možné) medikaci s inhibitory zpětného vychytávání NA a serotoninu, inhibitory monoaminoxidázy, tricyklická antidepresiva, paracetamol a inhibitory protonové pumpy. Není vhodné požit látky obsahující kofein (káva), tyramin (sýry), dále pak cereálie a banány. Falešně pozitivní výsledky mohou být rovněž výsledkem nedodržení stanovených podmínek pro odběr biologického materiálu (krev, moč).

#### **6.1.2 KLONIDINOVÝ TEST**

Klonidinový test byl hojně využíván v minulosti. V dnešní době se užívá při sporných výsledcích jiných testů. V zásadě jde o důkaz nedostatečné suprese plazmatického NA/NMN po perorálním podání klonidinu. Klonidin se používá k léčbě vysokého tlaku. Umí napodobit

katecholaminy, které mozek využívá jako neurotransmitery, což vede ke snížení aktivity nervů komunikujících s dřeně nadledvin. Zdravá dřeň by na tento signál reagovala sníženou produkcí katecholaminů, nedostatek odezvy je tak důkazem pro FEO (Bravo et al. 1981).

### 6.1.3 CHROMOGRANIN A (CgA)

Chromogranin A patří do rodiny transverzálních granulárních markerů, které jsou nezávislé na aktivitě neuroendokrinních nádorů (NET). Využívá se k diagnostice a následnému sledování karcinoidů a jiných NET. Stanovení je prováděno kompetitivními i imunometrickými imunoanalytickými postupy v moči, plazmě nebo séru. Určité komplikace spojené s přesným stanovením vznikají kvůli proteolytickému štěpení molekuly CgA a následné heterogenitě fragmentů v oběhu (Eriksson et al. 2000).

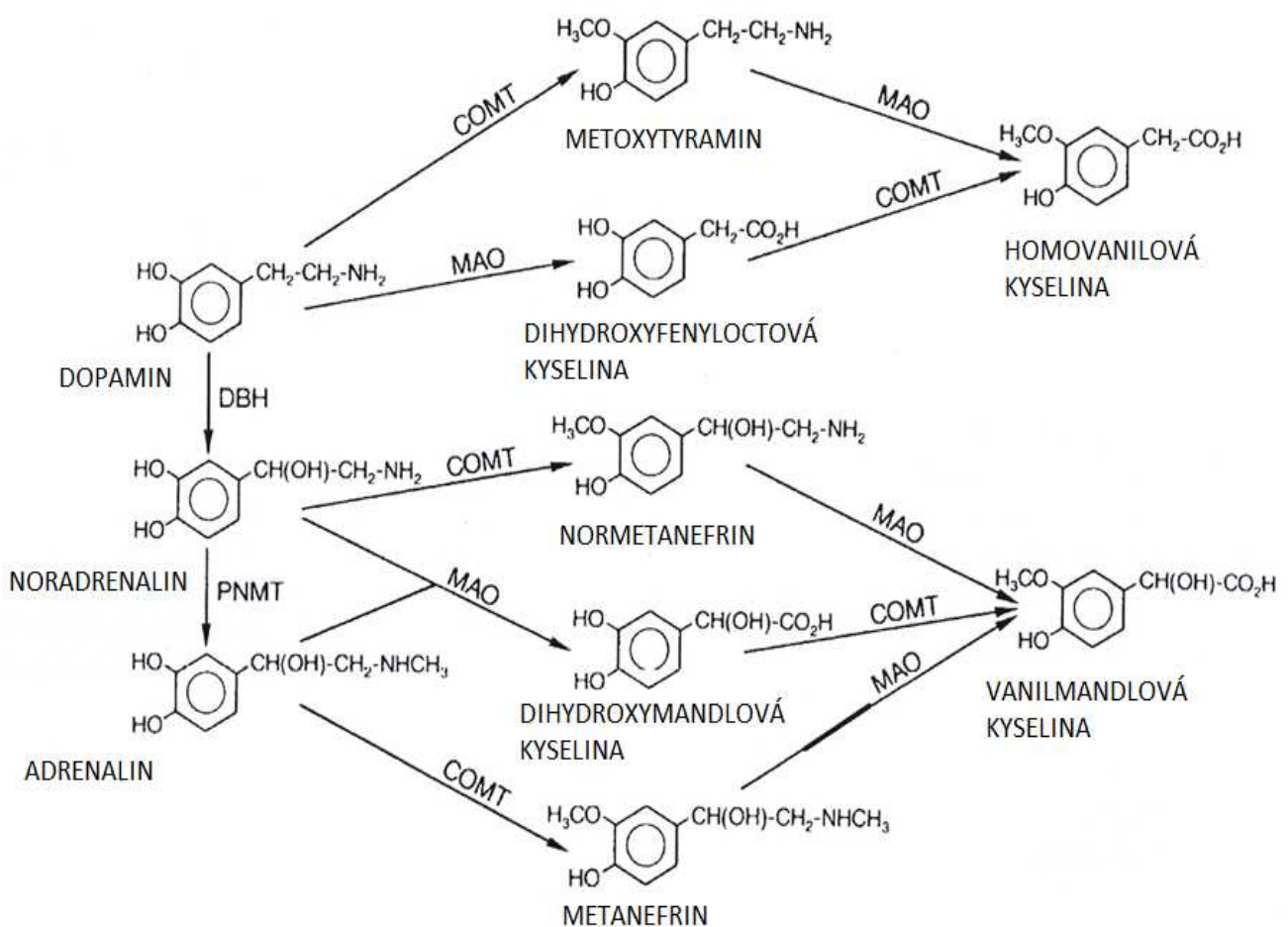
CgA je kyselý hydrofobní protein skládající se ze 439 aminokyselin o molekulové hmotnosti 48 kDa. Kódující gen je uložen na 14. chromozomu. CgA je produkován endokrinními i neuroendokrinními buňkami obsahujícími chromafinní sekreční granule. CgA se používá jako cirkulující marker, protože je ukládán i secernován společně s peptidickými hormony vznikajícími v neuroendokrinních buňkách. Hlavním zdrojem sekrece je dřeň nadledvin, ale vyskytuje se i v jiných orgánech (centrální nervová soustava, příštítná tělíska, exokrinní buňky pankreatu, buňky produkující inzulín a glukagon). K výhodám CgA patří jeho poměrně vysoká klinická senzitivita (83%) a specificita (96%) u FEO (Pirker et al. 1998). CgA je vhodný tam, kde hladina katecholaminů kolísá. Hladina CgA zhruba koreluje s nádorovou masou, CgA je nezávislým prediktorem přežití a také u něj nebývá problém s interferencí způsobenou léky. Naopak není vhodný pro vyšetření u těhotných žen. Placenta během těhotenství produkuje CgA, a proto je jeho vyšší hladina zcela běžná. Diagnostika pomocí CgA v kombinaci s vyšetřením hladin katecholaminů zvýší o 50-100% prediktivitu tumoru (Eriksson et al. 2000). Koncentrace CgA je závislá na účinnosti terapie, lze tedy sledovat odpověď pacienta na zvolenou léčbu (Bajetta et al. 1999).

## 6.2 SYNTÉZA A DEGRADACE KATECHOLAMINŮ

FEO jsou nádory známé produkcí, metabolizováním a ukládáním katecholaminů a jejich metabolitů. Katecholaminy patří mezi látky obsahující ve své struktuře katecholové jádro a etylaminovou skupinu připojenou na uhlík 1. Nejvýznamnějšími metabolity jsou metanefrin, normetanefrin, kyselina vanilmandlová a kyselina homovanilová. V krátkodobých stresových situacích má významnou roli hlavně adrenalin. Místo syntézy pro A se nachází

v dělení nadledvin a pro NA a DA v neuronech. Všechny katecholaminy jsou degradovány dvěma enzymatickými systémy, jedná se o systém s katechol-O-methyltransferázou (COMT) a systém s monoaminoxidázou (MAO). MAO je vázaná na vnější stranu mitochondriální membrány. COMT katalyzuje metylaci OH skupiny v poloze meta. Degradací A a NA vzniká 3-methoxy-4-hydroxymandlová kyselina (VMA), která je považována za jejich finální metabolit (obr. č. 1).

Obr. č. 1: Degradace katecholaminů



Upraveno podle [http://www.kbmpi.hu/diagnosztika/korleveledek/korl2003/vizkatekol\\_20090410.html](http://www.kbmpi.hu/diagnosztika/korleveledek/korl2003/vizkatekol_20090410.html)

A a NA se řadí mezi mateřské aminy v těle pacienta a jejich zvýšená hladina se tak může v oběhu objevit i v důsledku prožitého stresu, nízké hladiny glukosy v krvi, zvýšené



fyzické zátěže a vlivem dalších podnětů. Díky tomu je mnohem výhodnější stanovovat diagnózu pouze podle hladin jejich metabolitů MN a NMN.

Plazmatické nefriny jsou měřeny ve své volné formě. Močové nefriny jsou naopak měřeny v dekonjugované formě, tj. sulfokonjugáty nefrinů se převádí kyselou hydrolyzou v prostředí kyseliny chlorovodíkové při zvýšené teplotě (90 °C) na nekonjugované nefriny. V roce 2002 Lenders, Pacák *et al.* prezentovali své výsledky několikaletého výzkumu (1994-2001), kdy testovali velké množství subjektů (214 pacientů s potvrzeným FEO a 644 s vyloučeným FEO). Jejich výsledky potvrdily do té doby zveřejněné vědecké články, které jednoznačně preferovaly měření nefrinů v moči či plazmě před měřením katecholaminů. Nefriny nabízejí vyšší citlivost pro diagnostiku než katecholaminy a díky tomu dokážou lépe potvrdit či vyvrátit FEO. (Lenders & Pacak 2002)

Měření volných plazmatických nefrinů (MN, NMN) bylo vyhodnoceno jako úspěšnější v porovnání s konjugovanými nefriny stanovovanými v moči při určování diagnózy, a to navzdory podobně vysokým hodnotám klinické senzitivity. Hodnota specificity u nekonjugovaných nefrinů v moči je ovšem nižší než u volných nefrinů v plazmě (tab. č. 3).

Tabulka č. 3

	Senzitivita (%)		Specifita (%)	
	Hereditární	Sporadický	Hereditární	Sporadický
<b>PLAZMA</b>				
Volné nefriny	97	99	96	82
Katecholaminy	69	92	89	72
<b>MOČ</b>				
Konjugované nefriny	96	97	82	45
Katecholaminy	79	91	96	75
Nefriny	60	88	97	89
Kyselina vanilmandlová	46	77	99	86

Upraveno podle (Lenders & Pacak 2002)

Výsledné rozdíly jsou však zanedbatelné v porovnání s nevýhodami testování mateřských katecholaminů. Níže uvedená tabulka (tab. č. 4) shrnuje faktory, které by měly být brány v úvahu při rozhodování se o způsobu diagnostikování FEO/PGL (Lenders & Pacak 2002).

Tabulka č. 4

<b>Separované nefriny – moč</b>	<b>Volné nefriny - plazma</b>
Měření probíhá po dekonjugaci	Měření reflektuje volné nefriny produkované nádorovými buňkami
Dlouhodobě zavedený a snadno dostupný test	Relativně nový test s rostoucí dostupností
Díky koncentraci v moči (200-2000 nmol/l) relativně snadná analýza	Nízká koncentrace v plazmě (0,1-0,5 nmol/l), analýza může být obtížnější
Snadná realizace s minimálním zatížením pro zdravotnický personál	Odběr krve již vyžaduje zatížení zdravotnického personálu
24hodinové sběry moči mohou být pro pacienta nepohodlné	Odběr krve je relativně pohodlnější pro pacienty
Potenciální problém s neúplností sběrů moči během testu	Sběr a zpracování krevních vzorků může být provedeno rychle a spolehlivě
Je obtížné kontrolovat vlivy každodenního života na adrenální funkce a stravovací návyky během testu	Stravovací návyky a adrenální funkce se během testu kontrolují snáze
U dětí může být problém s interpretací výsledků 24-hodinového sběru moči bez věkově odpovídajícího referenčního intervalu	U dětí může být odběr stresující záležitostí, ale výsledky jsou snadněji interpretovatelné bez věkově odpovídajícího referenčního intervalu
Test není vhodný pro pacienty s kolabujícími ledvinami	Test může být použit i u pacientů s kolabujícími ledvinami

Upraveno podle ( Pacak et al. 2007)

### 6.3 METODY ANALÝZY

Poznání, že klinické projevy FEO jsou do značné míry důsledkem nadměrné sekrece katecholaminů, se stalo základem prvních biochemických diagnostik zahrnujících fluorimetrické stanovení obsahu katecholaminů v moči. Dále používané kolorimetrické testy pomohly k detekci VMA a MN v moči a označily je jako další možné diagnostické markery u FEO (Engel & Euler 1950). Relativně zastaralé kolorimetrické testy stanovení VMA v moči se k nádorové diagnostice používají i dnes. V roce 1964 Crout a Sjoerdsma prezentovali výsledky pozorování metabolismu katecholaminů. Poukázali na fakt, že u pacientů s FEO dochází k degradaci katecholaminů ještě před vyplavení do oběhu (Crout & Sjoerdsma 1964). Význam těchto výsledků byl do jisté míry ignorován, pravděpodobně kvůli rozvoji imunoanalytických metod. Tyto testy se totiž ukázaly dostatečně citlivými se spolehlivou

detekcí vhodnou pro stanovování hladiny katecholaminů (Bravo & Tarazi 1979). Vývoj radiologických a genetických metod výrazně zpřesnil diagnostiku FEO. Obzvláště testování hladin NMN a MN v moči nebo plazmě má vysokou vypovídací hodnotu. V této kapitole bych ráda představila nejdůležitější metody, které se při stanovení FEO využívají.

### 6.3.1 RADIOIMUNOANALYTICKÉ METODY

Jako radioimunoanalytické metody jsou označovány metody, kde je analytický signál generován radionuklidem kovalentně vázaným na radioligand. Imunoanalýza umožňuje stanovení hladiny biologicky významných látek o velmi nízkých koncentracích v tělních tekutinách (krev, moč), a to na základě využití přirozených vlastností protilátek. Pro kompetitivní metody je používáno označení "radioimunoanalýza" (RIA) a pro nekompetitivní metody bylo zavedeno označení "imunoradiometrická analýza" (IRMA).

U CgA se nejčastěji využívá imunoradiometrická metoda, jejímž principem je interakce mezi polyvalentním antigenem a imobilizovanou primární protilátkou v nadbytku a sekundárně značenou protilátkou také v nadbytku. Výsledkem je vytvoření komplexu (sendviče) složeného z primární imobilizované protilátky, CgA jako antigenu a sekundární protilátky, která je značená tak, aby generovala analytický signál. Obě protilátky musí být v takovém nadbytku, aby pokrývaly veškeré patofyziologické koncentrace stanovovaného antigenu (v tomto případě CgA). Naproti tomu se katecholaminy stanovují pomocí kompetitivní radioimunoanalytické analýzy, jejímž principem je soutěž mezi značeným a neznačeným antigenem o limitovaný počet vazebných míst specifické protilátky. RIA využívá imunochemickou reakci mezi antigenem (Ag), specifickou protilátkou (Ab), a Ag značený radioizotopem. Jedná se o RIA v klasickém uspořádání, které je známé již od roku 1959, kdy ji popsali Berson a Yalowová. Později za tento zásadní objev obdrželi Nobelovu cenu. Výběr radioizotopu je závislý na charakteru látky, kterou chceme určit. Nejvíce používaným je radioizotop  $^{125}\text{I}$  nebo  $^3\text{H}$ . Nevýhodou RIA nebo IRMA mohou být zkřížené reakce s látkou podobnou stanovovanému Ag (interferenty), které mohou ovlivnit výsledek testu. Určitou nevýhodou je vyšší pořizovací cena kitu pro stanovení jak nefrinů, tak i CgA.

### 6.3.2 HPLC S ELEKTROCHEMICKOU DETEKČÍ (ED)

Při této metodě se využívá propojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s elektrochemickým detektorem. Elektrochemický detektor měří proud, který vzniká při průchodu látky měrnou celou. Jedná se o destruktivní typ detektoru, kdy se detekovaný analyt v průběhu detekce nevratně mění. Výhodou metody je relativně vysoká citlivost a rychlost odezvy. Nevýhodou je vysoká teplotní závislost při měření a omezená životnost elektrod. Pro stanovení hladin metabolitů katecholaminů v plazmě není tento postup dostatečně citlivý.

### 6.3.3 HPLC S HMOTNOSTNÍ DETEKČÍ (LC-MS)

V posledních letech nastal velký pokrok v oblasti přímého spojení separačních a spektrálních technik typu chromatografie a hmotnostní spektrometrie (MS). V prvním kroku se směs látek chromatograficky rozdělí a ve druhém kroku se výstup z chromatografu ionizuje. Vzniklé ionty stanoveného analytu se potom detegují pomocí MS. Výhodou MS je možnost získat další strukturní informace o analytu na základě fragmentace iontu (Holčápek 1998). Principem LC-MS je separace iontů podle poměru  $m/z$ , kdy  $m$  znamená hmotu iontu a  $z$  označuje náboj iontu, při pohybu v magnetickém nebo elektrickém poli. Nebo se měří čas, za který iont o daném poměru  $m/z$  proletí v důsledku napěťového impulzu přesně definovanou drahou v hmotnostním spektrofotometru. Výhoda LC-MS je jeho univerzálnost a citlivost a oproti imunoanalýzám i jeho téměř 100% analytická specifita. Jeho nevýhodou je možná interference s matricí, která může vést k potlačení ionizace analytu. Nevýhodou je také vysoká pořizovací cena přístroje a provozní náklady.

## 7. LÉČBA

Správná klinická léčba o pacientů s FEO se opírá o úzkou spolupráci mezi specialisty působícími v různých lékařských oborech, jako je endokrinologie, kardiologie, neurologie a další. V okamžiku potvrzení FEO některým z biochemických testů se musí co nejdříve přistoupit k lokalizaci tumoru.

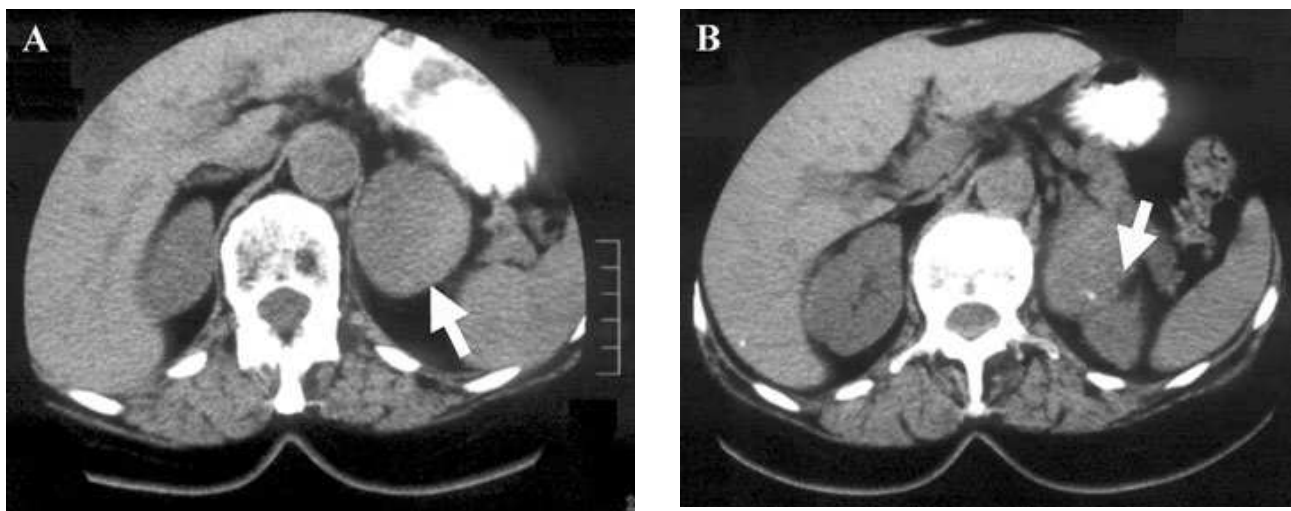
### 7.1 LOKALIZACE

K detekci FEO/PGL se používá některá z anatomických zobrazovacích metod (výpočetní tomografie, nukleární magnetická rezonance) a ve většině případů také funkční zobrazovací metody (zobrazení pomocí metyljodobenzylguanidinu, pozitronová emisní tomografie).

#### 7.1.1 ANATOMICKÉ ZOBRAZOVACÍ METODY

Výpočetní tomografie (CT) je radiologická zobrazovací metoda, která využívá rentgenové záření. Vyšetření je uskutečňováno pomocí tomografu, který vytváří řezy napříč tělem. CT umí lokalizovat 95% nádorů o velikosti >1 cm v oblasti nadledvin a 90% nádorů o velikosti >2 cm v extraadrenální oblasti (Maurea & Cuocolo 1996). Mezi výhody CT patří jeho dostupnost, cena vyšetření a menší výskyt pohybových artefaktů.

Obr. č.



CT břišní dutiny vykazující tumor o velikosti 4,5 cm (šipka na obr. 1). Na horním pólu levé ledviny je patrná kalcifikace (šipka na obr. B). Nebyl použit žádný kontrastní materiál.

Převzato a upraveno podle (Zianni & Tzanela 2004)

Magnetická rezonance (MRI) je dražší typ zobrazovací metody, která ale nezatěžuje pacienta  $\gamma$  zářením a její klinická senzitivita u adrenálních nádorů je 93-100%, tj. porovnatelná s CT. V porovnání s CT je však úspěšnější v lokalizaci extraadrenálních nádorů (90%), proto se využívá především u vyšetření s podezřením na PGL. Dále se MRI používá u pacientů s alergií na jodovou kontrastní látku, u pacientů s pokročilou renální insuficiencí a u těhotných (Hönigschnabl et al. 2002). Ačkoliv je klinická senzitivita CT a MRI vysoká, jejich specifita není dostačující. Proto je vhodně doplnit tato vyšetření ještě některou z funkčních metod zobrazení.

### 7.1.2 FUNKČNÍ ZOBRAZOVACÍ METODY

Funkční zobrazovací metoda se používá v případě negativního výsledku CT nebo MRI, nebo při potřebě stanovení rozsahu onemocnění včetně důkazu přítomnosti metastáz.

Pro návratný, metastazující, či na neobvyklém místě se nacházející tumor je nejvhodnějším způsobem lokalizace pomocí radioaktivně značeného MIBG. Jedná se o látku podobnou NA, která se po radioaktivním označení (nejčastěji  $^{123}\text{I}$ , nebo  $^{131}\text{I}$ ) využívá k detekci katecholaminových váček, do kterých se umí aktivně přenést. Cílem  $^{123}\text{I}$ -MIBG scintigrafie je funkční potvrzení nádorové tkáně, která byla lokalizovaná pomocí CT/MRI. Klinická specifita této metody je velmi vysoká (95-100%) nicméně její senzitivita je výrazně nižší (77-90%), proto je nutné v případě nejasného výsledku provést zpřesňující vyšetření pomocí pozitronové emisní tomografie (PET) (Ilias & Pacak 2004).

PET zobrazení se provádí během několika minut nebo hodin po injekci krátkodobých pozitron-emitujících látek. Nízká hodnota ozáření a lepší prostorové rozlišení patří mezi hlavní výhody PET, naopak vysoké náklady a omezená dostupnost radiofarmak stále limituje jeho širší využití. Radionuklidy užívané při PET jsou  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$  a  $^{18}\text{F}$ . Nejčastěji používaným radiofarmakem je 18-fluorodeoxyglukóza ( $^{18}\text{F}$ -FDG). Jedná se o molekulu, která se od glukózy liší tím, že kyslík na pozici 2 je nahrazen  $^{18}\text{F}$ . Toto vyšetření se používá hlavně u maligních tumorů s podezřením na metastáze do kostí.

## 7.2 PŘEDOPERAČNÍ TERAPIE

U většiny pacientů lze tumor odstranit chirurgickou cestou. Nebezpečím ale je vystavení pacientů vysokým úrovním cirkulujících katecholaminů v průběhu operace, což může způsobit hypertenzní krizi a arytmií, a to i u asymptomatických a normotenzních pacientů. Je proto doporučováno, aby pacienti s FEO/PGL podstoupili předoperační terapii,

kteřá by zablokovala účinky uvolněných katecholaminů. Tuto terapii je nutno nastoupit minimálně 14 dní před operací a dávky léků se musí pomalu zvyšovat tak, aby vrcholu bylo dosaženo den před operací.

Základním lékem předoperační terapie je nekompetitivní antagonist  $\alpha$ -receptorů fenoxibenzamin, který je používán již od 50. let 20. století. Mezi přednosti tohoto léku patří jeho dlouhodobá účinnost založená na nekompetitivní blokádě  $\alpha$ -receptorů, která umožňuje jeho orální užití pouze dvakrát denně. Má však i značné nevýhody. Především se jedná o jeho selektivitu. Fenoxibenzamin blokuje pouze  $\alpha_2$ -adrenergní receptory a to zejména na membráně adrenergních neuronů, které jsou součástí zpětné smyčky regulující uvolňování NA. Dále pak jeho nekompetitivní kovalentní vazba vede k nevratnému bloku, jenž způsobuje problémy se zpětným vychytáváním izotopů. S výše zmíněnými problémy mohou souviset některé z pooperačních projevů u pacientů (únava, ospalost, bolest hlavy) (Hull 1986).

Pro blokaci  $\alpha_1$ -receptorů se předepisují především léky Prazosin a Doxazosin. Prazosin není už od svých počátků objevení příliš oblíben. Jedním z důvodů může být jeho rychlá metabolizace a exkrece. Musí být také podáván ve vyšší dávce než Doxazosin (Cubeddu & Zarate 1982), který má vysokou biologickou dostupnost (70%), neproniká snadno přes hematoencefalickou bariéru, a doba trvání účinku umožňuje orální užití tohoto léku pouze jednou za den (Prys-Roberts & Farndon 2002).

$\beta$ -blokátory mohou být nasazeny až po účinném nasazení  $\alpha$ -blokátorů, jinak by mohly vyvolat vazokonstrikci s výrazným zvýšením krevního tlaku. Blokace  $\beta$ -receptorů je převážně využívána k léčbě tachykardie a subventrikulární arytmie. Hypertenzní krize jsou upravovány například pomocí nitroglycerinu, phentolaminu a urapidilu (Ryan et al. 1993).

## 8. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo shrnout dosud získané informace o onemocnění zvaném feochromocytom a upozornit na nepříznivé důsledky, které mohou nastat v případě pozdní diagnostiky, nebo při špatné léčbě. Během posledního století došlo k převratným a důležitým poznatkům v diagnostice, genetice a léčbě pacientů s feochromocytomem. Byl prokázán vliv zvýšené hladiny katecholaminů na klinické příznaky feochromocytomu. K těm nejvýraznějším patří hypertenze, bolesti hlavy, pocení. Také správné dodržení postupů používaných při laboratorní diagnostice pacientů je velmi důležité pro klinickou diagnózu tohoto onemocnění. Samotná biochemická analýza zaznamenala v minulých letech převratné objevy. Mnohem přesnější a více vypovídající výsledky jsou získány při měření koncentrací, O-metylovaných metabolitů katecholaminů místo katecholaminů samotných. Dále se výzkumy zabíraly porovnáním mezi laboratorní diagnostikou volných nefrinů v plazmě a vázaných nefrinů v moči. Klinická senzitivita a specifická byla výrazně vyšší u testů založených na stanovení plazmatických nefrinů. Pro tato stanovení se využívají radioimunoanalytické metody (RIA, IRMA). Významu nabývají v poslední době i metody založené na propojení HPLC s elektrochemickým nebo hmotnostním detektorem. Nejvyšší citlivost při stanovení plazmatických nefrinů vykazuje radioimunoanalýza a to i přes vysoké ceny kitů a z analytického hlediska přes značnou existenci zkřížených reakcí vykazujících falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky. V posledních letech se také zvýšil zájem o vliv genetických mutací a jejich dědičnosti. Pro lékaře se stala hereditarita mutací velmi důležitým poznatkem při diagnostikování tohoto onemocnění. Objevení nových genů v minulých letech jen potvrzuje, že tato oblast ještě není úplně prozkoumaná a poskytuje prostor pro další výzkumy řešící tuto problematiku.



## 9. ZDROJE

- Armstrong, McMillan & Shaw, 1957. 3-Methoxy-4-hydroxy-D-mandelic acid, a urinary metabolite of norepinephrine. *Biochimica et biophysica acta*, 25(2), pp. 422-423
- Bajetta, E. et al., 1999. Chromogranin A., neuron specific enolase, carcinoembryonic antigen, and hydroxyindolacetic acid evaluation in patients with neuroendocrine tumors. *Clinical Cancer* pp.858–865.
- Bravo, E. & Tarazi, R., 1979. Circulating and urinary catecholamines in pheochromocytoma. Diagnostic and pathophysiologic implications. *The New England Journal of Medicine*, 301 (13), pp.682-686
- Bravo, E., Tarazi, R. & Fouad, F., 1981. Clonidine-suppression test: a useful aid in the diagnosis of pheochromocytoma. *The New England Journal of Medicine*, 305 (11), pp. 623-626
- Brouwers, F.M. et al., 2006. High frequency of SDHB germline mutations in patients with malignant catecholamine-producing paragangliomas: implications for genetic testing. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 91(11), pp.4505–4509.
- Buffet, A., Venisse, A. & Nau, V., 2012. A Decade (2001-2010) of Genetic Testing for Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Hormone and Metabolic Research*, 44(5), pp. 359-366
- Burnichon, N., Cascón, A & Schiavi, F, 2012. MAX mutations cause hereditary and sporadic pheochromocytoma and paraganglioma. *Clinical Cancer*.18(10), pp. 2828-2837
- Chen, F. et al., 1995. Germline mutations in the von Hippel–Lindau disease tumor suppressor gene: correlations with phenotype. ... *Human mutation*, 5(1), pp. 66-75
- Comino-Méndez, I. et al., 2011. Exome sequencing identifies MAX mutations as a cause of hereditary pheochromocytoma. *Nature genetics*, 43(7), pp.663–667..
- Crout, R. & Sjoerdsma, A., 1964. Turnover and Metabolism of Catecholamines in Patients with Pheochromocytoma, *Journal of Clinical Investigation*, 43(1), pp.94–102.
- Cubeddu, L. & Zarate, N., 1982. Prazosin and propranolol in preoperative management of pheochromocytoma. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, pp.156-160
- Elder, E.E., Elder, G. & Larsson, C., 2005. Pheochromocytoma and functional paraganglioma syndrome: no longer the 10% tumor. *Journal of surgical oncology*, 89(3), pp.193–201.
- Engel, A. & Euler, U. Von, 1950. Diagnostic value of increased urinary output of pheochromocytoma. *Lancet*, 2(6630), pp.387
- Eriksson, B., Öberg, K. & Stridsberg, M., 2000. Tumor markers in neuroendocrine tumors. *Digestion*, 62(1), pp. 33-38
- Euler, U. Von, 1951. Increased urinary excretion of noradrenaline and adrenaline in cases of pheochromocytoma. *Annals of surgery*, 134(6), pp.929–933
- Gerlo, E. a & Sevens, C., 1994. Urinary and plasma catecholamines and urinary catecholamine metabolites in pheochromocytoma: diagnostic value in 19 cases. *Clinical chemistry*, 40(2), pp.250–6
- Gimenez-Roqueplo, A-P, 2012. An update on the genetics of paraganglioma, pheochromocytoma, and associated hereditary syndromes. *Hormone*, 44(5), pp.328–33

- Greene, L. & Tischler, A., 1976. Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. *Proceedings of the National*, 73(7), pp.2424–8
- Grodski, S. et al., 2006. Pheochromocytoma in pregnancy. *Internal medicine journal*, 36(9), pp.604–6
- Havekes, B. et al., 2008. Detection and treatment of pheochromocytomas and paragangliomas: current standing of MIBG scintigraphy and future role of PET imaging. , 52(4), pp.419–429.
- Holčapek, M., 1998. SPOJENÍ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE A HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE ( HPLC / MS ). , 286, pp.278–286.
- Hull, C., 1986. Pheochromocytoma: diagnosis, preoperative preparation, and anaesthetic management. *British journal of anaesthesia*, 58(12), pp. 1453-1468
- Hönigschnabl, S., Gallo, S. & Niederle, B., 2002. How accurate is MR imaging in characterisation of adrenal masses: update of a long-term study. *European journal of ...*, 41(2), pp.113–122
- Ilias, I. & Pacak, K., 2004. Current Approaches and Recommended Algorithm for the Diagnostic Localization of Pheochromocytoma. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(2), pp.479–491
- Jouhilahti, E.-M. et al., 2011. The Pathoetiology of Neurofibromatosis 1. *The American journal of pathology*, 178(5), pp.1932–9
- Khairy, R. & Dexter, R., 1975. Mucosal neuroma, pheochromocytoma and medullary thyroid carcinoma: multiple endocrine neoplasia type 3. *Medicine*, 54(2), pp. 89-112
- Khorram-Manesh, a et al., 2004. Mortality associated with pheochromocytoma in a large Swedish cohort. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, 30(5), pp.556–9.
- Labrosse, E., Axelrod, J. & Kety, S., 1958. O-Methylation, the principal route of metabolism of epinephrine in man. *Science*, (7), pp.593–594
- Lenders, J. & Pacak, K., 2002. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma. *JAMA*, 287(11), pp.1427–1434
- Lenders, J.W.M. et al., 2005. Pheochromocytoma. *Lancet*, 366(9486), pp.665–75.
- Lund, A. & Møller, K., 1951. Noradrenalin in blood in pheochromocytoma. *Ugeskrift for laeger*, 113(32), 1068
- Maher, E., Iselius, L. & Yates, J., 1991. Von Hippel-Lindau disease: a genetic study. *Journal of medical treatment*, pp.443–447.
- Manger, W., 2004. Pheochromocytoma: diagnosis and management update. *Current hypertension reports*, 6(6), pp.477-84
- Maurea, S. & Cuocolo, A., 1996. Diagnostic imaging in patients with paragangliomas. Computed tomography, magnetic resonance and MIBG scintigraphy comparison. *The quarterly journal Nuclear Medicine*, 40(4), pp. 365-71
- McBride, W., Ferrario, C. & Lyle, P. a, 2003. Hypertension and medical informatics. *Journal of the National Medical Association*, 95(11), pp.1048–56
- Modigliani, E. & Vasen, H., 1995. Pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2: European study. *Journal of internal Medicine*

- Mulligan, L. et al., 1994. Specific mutations of the RET proto-oncogene are related to disease phenotype in MEN 2A and FMTC. *Nature*, pp.70–74.
- Musil, Zdenek & Puchmajerová, A., 2010. Paraganglioma in a 13-year-old girl: a novel SDHB gene mutation in the family? *Cancer genetics and Treatment*, 197(2), pp.189–92.
- Neumann, H. & Berger, D., 1993. Pheochromocytomas, multiple endocrine neoplasia type 2, and von Hippel-Lindau disease *England Journal of Medicine*, 329(21), pp.1531–1538.
- Neumann, H.P., Bausch, B. & Mcwhinney, S.R., 2002. Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. *The New England journal of Medicine*, 347(11), pp.854–5
- Pacak, Karel et al., 2007. Pheochromocytoma: recommendations for clinical practice from the First International Symposium. October 2005. *Nature clinical practice. Endocrinology & metabolism*, 3(2), pp.92–102
- Park, J. et al., 2011. Predictive characteristics of malignant pheochromocytoma. *Korean journal of urology*, 52(4), pp.241–6.
- Pasquali, D. & Matteo, F. Di, 2011. Multiple endocrine neoplasia, the old and the new: a mini review. *Il Giornale di ...*, 33(December), pp.370–373
- Pirker, R., Pont, J. & Pöhl, R., 1998. Usefulness of chromogranin A as a marker for detection of relapses of carcinoid tumours. *Clinical chemistry and Treatment*, 372
- Proye, C., Vix, M. & Goropoulos, A., 1992. High incidence of malignant pheochromocytoma in a surgical unit. 26 cases out of 100 patients operated from 1971 to 1991. *Journal of Medicine*, pp.142-146
- Prys-Roberts, C., 2001. Phaeochromocytoma-recent progress in its management. *British journal of anaesthesia*, 86(4), pp.594–5
- Prys-Roberts, C. & Fardon, J.R., 2002. Efficacy and safety of doxazosin for perioperative management of patients with pheochromocytoma. *World journal of surgery*, 26(8), pp.1037–42
- Qin, Y. et al., 2010. Germline mutations in TMEM127 confer susceptibility to pheochromocytoma. *Nature ...*, 42(3), pp.229–233
- Reisch, N. et al., 2006. Pheochromocytoma: presentation, diagnosis and treatment. *Journal of hypertension*, 24(12), pp.2331–9
- Ryan, T., 1993. Use of transoesophageal echocardiography to manage beta-adrenoceptor block and assess left ventricular function in a patient with phaeochromocytoma. *British journal of Medicine*, pp.134-37
- Sheps, S., Jiang, N. & Klee, G., 1988. Diagnostic evaluation of pheochromocytoma. *Endocrinology and metabolism* pp.120-122
- Strauch, B. et al., 2003. Prevalence of primary hyperaldosteronism in moderate to severe hypertension in the Central Europe region. *Journal of human hypertension*, 17(5), pp.349–52.
- Takahashi, M. & Cooper, G., 1987. ret transforming gene encodes a fusion protein homologous to tyrosine kinases. *Molecular and cellular biology*, 7(4), pp.1378–1385.
- Vicha, A., Musil, Z & Pacak, K., 2013. CURRENT OPINION Genetics of pheochromocytoma and paraganglioma syndromes: new advances and future treatment options. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* , pp.19-22

- Whalen, R., Althausen, A. & Daniels, G., 1992. Extra-adrenal pheochromocytoma. *The Journal of urology*, pp. 203-205
- Yeo, H. & Roman, S., 2005. Pheochromocytoma and functional paraganglioma. *Current opinion in oncology*, 137-42
- Zelinka, T., 2007. Pheochromocytoma as a catecholamine producing tumor: implications for clinical practice. *Stress: The International*, pp.195–203.
- Zelinka, T., Eisenhofer, G & Pacak, K., 2007. Pheochromocytoma as a catecholamine producing tumor: implications for clinical practice. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 10(2), pp.195–203.
- Zhuang, Z. et al., 2012. Somatic HIF2 $\alpha$  gain-of-function mutations in paraganglioma and somatostatinoma associated with polycythemia. , 367(10), pp.922–930.
- Zianni, D. & Tzanela, M., 2004. Symptomatic pheochromocytoma with normal urinary catecholamine metabolites. *HORMONES*, 3(2), pp.132–137.
- Štrauch, M.B. & Zelinka, Tomáš, 2009. Feochromocytom – klinické aspekty. , 6(5), pp.249–253.

### **Další zdroje:**

- Pacák, K. *Feochromocytom*. 1. vydání. Praha : Galén, 2008. ISBN 978-80-7262-519-2
- Trojan, S. et al. *Lékařská fyziologie*. 4. vydání. Praha : Grada Publishing a.s., 2003. ISBN 80-247-0512-5
- [http://www.kbmpi.hu/diagnosztika/korleveledek/korl2003/vizkatekol\\_20090410.html](http://www.kbmpi.hu/diagnosztika/korleveledek/korl2003/vizkatekol_20090410.html)