

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

**Autoreferát disertační práce**



**Možnosti genetického vyšetření u pacientů  
s feochromocytomem a paragangliomem**

**MUDr. Hana Turková**

**Praha, 2016**

## **Doktorské studijní programy v biomedicíně**

*Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky*

**Obor:** Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

**Předseda oborové rady:** Prof. RNDr. Stanislav Zdražil, DrSc.

**Školicí pracoviště:** 3. interní klinika VFN a 1. LF UK

**Školitel:** Doc. MUDr. Tomáš Zelinka, CSc.

**Konzultant:** Prof. MUDr. Karel Pacák, PhD., DrSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

## **Obsah**

1. Abstrakt	5
2. Abstract	6
3. Úvod	7
3.1 Feochromocytom a paragangliom	7
3.2 Klinické příznaky a projevy FEO/PGL	8
3.3 Vliv nadprodukce katecholaminů na orgány	8
3.3.1 Kardiovaskulární systém	8
3.3.2 Respirační systém	8
3.3.3 Endokrinní orgány a metabolismus	9
3.3.4 Gastrointestinální trakt	9
3.3.5 Nervový systém	9
3.3.6 Urogenitální systém	9
3.3.7 Zrak	9
3.3.8 Multiorgánové selhání	9
3.3.9 Ostatní	10
3.4 Diagnostika FEO/PGL	10
3.4.1 Diferenciální diagnostika FEO/PGL	10
3.4.2 Laboratorní diagnostika	10
3.4.3 Zobrazovací diagnostika	11
3.4.4 Genetické testování	11
3.5 Genetika FEO/PGL	11
3.6 Terapie FEO/PGL	13
3.7 Pooperační sledování + sledování nosičů zárodečné mutace	13
3.8 Maligní FEO/PGL	14
3.8.1 Mutace v genech SDHB, MAX, FH	14
3.8.2 Další nezávislé faktory asociované s maligním/ metastatickým chováním	14
4. Hypotézy a cíle práce	14
5. Materiál a metodika	17
5.1 Měření krevního tlaku:	17
5.2 Diagnostika kardiovaskulárních komplikací	17
5.3 24 hodinový sběr moči	18

5.4	Odběr krve k vyšetření plazmatických metanefrinů	18
5.5	Vyšetření katecholaminů a metanefrinů	18
5.6	Další biochemická vyšetření	18
5.7	Genetické vyšetření FEO/PGL	18
5.8	Lokalizace FEO/PGL	19
5.9	Analýza dat	19
6.	Výsledky	20
7.	Diskuze	21
8.	Závěr	23
9.	Vlastní publikace autora	24
9.1	Publikace <i>in extenso</i> , které jsou podkladem disertační práce	24
9.2	Publikace <i>in extenso</i> , které nejsou podkladem disertační práce	24
b)	bez IF	25
9.3	Abstrakta v časopisech s IF	25
9.4	Prezentace a ocenění	25
10.	Seznam použité literatury	25

## 1. **Abstrakt**

Feochromocytom/ paragangliom (FEO/PGL) může vznikat na podkladě dědičné genetické mutace různých genů, pojí se s vysokým rizikem rozvoje sekundární hypertenze, orgánového postižení a metastatického onemocnění, které může mít fatální následky. Cílem práce bylo zaměřeni na možnosti genetického vyšetření u pacientů s FEO/PGL, zejména u pacientů s maligními tumory. Problematika FEO/PGL se ale týká nejen vyšetření a stanovení rizik z něho vyplývajících, ale i další terapie a sledování včetně vhodných doporučení pro klinickou praxi.

Prokázali jsme 20% incidenci kardiovaskulárních (KV) komplikací již před stanovením definitivní diagnózy FEO/PGL, hlavně arytmiických, následovaných komplikacemi při myokardiální ischemii a akcentací aterosklerózy. Vzestup hladiny vitaminu C a pokles hladiny malondialdehydu (MDA) po úspěšném odstranění tumoru pokázal snížení oxidativního stresu pooperačně. Zjistili jsme, že je možné již brzké pooperační testování hladin plazmatických metanefrinů k potvrzení úspěšnosti chirurgického odstranění FEO/PGL, neboť nebyla prokázána signifikantní korelace mezi hladinami plazmatických metanefrinů a pooperačním vyšetřovacím intervalem. Rozložení četnosti metastatických tumorů s mutacemi v *SDHB* genu a sporadických tumorů (ST) je u dospělých pacientů přibližně stejné, u dětí bylo zjištěno 5x více FEO/PGL s mutacemi v *SDHB* genu, ale s delším přežíváním než u dospělých s touto mutací. Nádory nad 4,5 cm byly častěji primárně metastatické a noradrenergní PGL. Naše data neprokázala větší rozdíly mezi nadprodukcí typu katecholaminů či metanefrinů v souvislosti s věkem, metastatické tumory jsou podobně agresivní jak u dětí, tak u dospělých. U dospělých pacientů je lepší 10-leté přežívání u ST. Výsledky naší práce podporují doporučení pro dlouhodobé sledování pacientů: vyšetření *SDHB* mutace u všech pacientů s FEO/PGL diagnostikovaným v dětství, zvýšení frekvence sledování starších pacientů a pacientů s tumory nad 4,5 cm a celotělová zobrazovací vyšetření u pacientů s *SDHB* mutací pro vysokou pravděpodobnost záchytu metastatického onemocnění v kostech již v době diagnózy.

**Klíčová slova:** feochromocytom, paragangliom, metanefriny, genetická mutace, metastatický tumor, oxidativní stres, přežívání

## **2. Abstract**

Pheochromocytoma/ paraganglioma (FEO/PGL) may be developed on the basis of an inherited genetic mutation of different genes. They are associated with a high risk of developing of secondary hypertension, organ damage and metastatic disease that can be fatal. The aim was to focus on the possibility of genetic testing in patients with FEO/PGL, especially in patients with malignant tumors. The issue FEO/PGL, however, concerns not only the examination and assessment of risks arising therefrom, as well as other therapies and monitoring, including appropriate recommendations for clinical practice.

We demonstrated a 20% incidence of cardiovascular (CV) complications before determining the final diagnosis of FEO/PGL, mainly arrhythmic, followed by complications of myocardial ischemia and accentuate atherosclerosis. Elevated levels of vitamin C and decreased levels of malondialdehyde (MDA) following the successful removal of the tumor demonstrated reduction of oxidative stress postoperatively. We found that early postoperative testing of levels of plasma metanephrines to confirm the success of surgical removal of FEO/PGL is already possible, since there was no significant correlation between plasma levels of metanephrines and postoperative examination interval. Distribution of frequency of metastatic tumors with mutations in *SDHB* gene and sporadic tumors (ST) in adult patients is approximately the same, in children we found 5 times more FEO/PGL with mutations in *SDHB* gene, but with longer survival than in adult patients with this mutation. Tumors greater than 4.5 cm were more primary metastatic and noradrenergic PGL. Our data did not show significant differences between overproduction of different types of catecholamines or metanephrines in connection with age. Metastatic tumors are similarly aggressive in both children and adults. Adult patients with ST have better 10-year survival interval. The results of our study support recommendations for long-term follow up of patients, examination of *SDHB* mutations in all tumors diagnosed in childhood, increase the frequency of follow up in elderly and patients with tumors greater than 4.5 cm, whole body imaging in patients with *SDHB* mutations for a high probability of detection of metastatic disease in bone at the time of diagnosis.

**Key words:** pheochromocytoma, paraganglioma, metanephrines, genetic mutation, metastatic tumor, oxidative stress, survival

### **3. Úvod**

Arteriální hypertenze je hlavním rizikovým faktorem rozvoje kardiovaskulárních nemocí, které jsou nejčastější celosvětovou příčinou úmrtí (Kaplan & Victor, 2009). Esenciální hypertenze představuje 95% hypertenzní populace, sekundární hypertenze tvoří méně než 5%. Odlišení sekundární hypertenze od primární je důležité pro možnosti specifické léčby, která může vést u odstranitelných příčin k vymizení hypertenze nebo jejímu podstatnému zlepšení a tím i ke snížení rizika rozvoje kardiovaskulárních nemocí (Widimsky Jr., et al., 2008). Feochromocytom nebo paragangliom (FEO/PGL), který je vzácnou příčinou sekundární hypertenze, je nádor z chromafinních buněk, který může vznikat na podkladě dědičné genetické mutace různých genů a vyskytovat se v benigní i maligní formě. Krom arteriální hypertenze může vyvolat závažné až život ohrožující stavy, proto je správná a včasná diagnostika tohoto onemocnění předpokladem úspěšné terapie a prevence fatálních komplikací s ohrožením života pacienta. Vzhledem k dědičnosti lze na základě genetických vyšetření aktivně vyhledávat a pravidelně sledovat doposud zdravé jedince s vysokým rizikem vývoje FEO/PGL (Musil, et al., 2012) (Zelinka, 2016).

#### **3.1 Feochromocytom a paragangliom**

Feochromocytomy (FEO) a paragangliomy (PGL) jsou nádory vznikající z chromafinních buněk v dřeni nadledvin nebo extra-adrenálních paragangliích (DeLellis & al, 2004), mohou metabolizovat, skladovat, ale ne vždy vylučovat katecholaminy, 23% tumorů z parasympatických paraganglií vylučují jen dopamin nebo jeho metabolit metoxytyramin (Lehnert, 2004) (van Duinen & al., 2010). FEO/PGL krom projevů symptomů jako hypertenze, tachykardie, bolest hlavy, zčervenání, úzkost a panické ataky aj. mohou mít navíc projevy metabolické jako hyperglykémie, laktátová acidóza a ztráta hmotnosti. Nádory bez hormonální nadprodukce se projevují většinou útlakem a bolestí či jako náhodně zjištěná resistence, tympanické PGL pak tinnitem. Normální krevní tlak nebo dokonce hypotenze jsou běžné u pacientů s PGL produkujících dopamin (Erlic & Neumann, 2009) (Lefebvre & Foulkes, 2014). Výsledky současných studií ukazují přítomnost kauzálních mutací u přibližně 35–40 % FEO/PGL. I když se většina FEO/PGL vyskytuje sporadicky, může se až v 25 % jednat o familiární nádory. Familiární formy jsou často multifokální nebo bilaterální a objevují se v mladším věku než sporadické případy (Karagiannis & al, 2007). FEO/PGL se nejčastěji vyskytují ve věku mezi 40 a 50 roky s mírnou převahou u žen, asi v 85% případů pocházejí z chromafinní tkáně dřene nadledviny a v přibližně 15% případů z extraadrenální chromafinní tkáně (Elder, 2005). FEO bývá často diagnostikován ve 4 – 5% náhodně zjištěných tumorů nadledvin – incidentalomů. Celkový počet takto náhodně objevených FEO/PGL dnes dosahuje až 30% všech těchto diagnostikovaných tumorů (Zelinka, et al., 2007). Dle lokalizace a počtu tumorů v době diagnózy lze FEO/PGL rozdělit na solitární adrenální nebo extraadrenální, adrenální bilaterální, mnohočetné nebo metastatické (Pacak, 2008). Malignita je u FEO/PGL dle WHO klasifikace definována jen při průkazu metastáz v místech, kde se chromafinní tkáň běžně nevyskytuje, nejčastěji do lymfatických uzlin, kostí, jater a plic, ne tedy při lokální invazivitě (DeLellis, 2004). Prevalence malignity u FEO/PGL je v rozmezí od 2% do 26% (John, et al., 1999) (Korevaar & Grossman, 2011), především v závislosti na genetickém pozadí – maligní nádory se

vyskytují především u mutace genu B podjednotky sukcinátdehydrogenázy. FEO/PGL mohou produkovat další hormony a peptidy včetně adrenomedulinu, vazomotorického intestinálního peptidu, adrenokortikotropního hormonu (ACTH), neuropeptidu Y, endotelinu-1, somatostatinu, atrial natriuretického faktoru a paratyroidního hormon-related peptidu. Klinické projevy jejich nadprodukce mohou záviset i na vazokonstrikčních či vazodilatačních schopnostech těchto substancí současně spolu s hyperkatecholaminémií (Manger & Gifford, 1996) (Letizia, et al., 2001) (Sano, et al., 1983) (Nijhoff, et al., 2009) (de Senanayake, et al., 1995) (Oishi, et al., 1994) (Manger & Eisenhofer, 2004).

### **3.2 Klinické příznaky a projevy FEO/PGL**

Typ produkovaných katecholaminů může ovlivňovat klinické projevy – adrenalin více způsobuje záchvatovité příznaky, mezi něž patří triáda bolesti hlavy, pocení a palpitace, které reprezentují klasický klinický komplex projevů u dospělých i dětských pacientů s FEO/PGL (Manger & Gifford, 1996). Mezi další symptomy patří zblednutí, tachykardie a anxieta, ale také ortostatická hypotenze (Pacak, 2008) (Ito, et al., 1992). Extraadrenální tumory mají tendenci predominantně produkovat noradrenalin a dopamin. Pacienti s dopaminergními tumory jsou velmi často normotenzní a tyto tumory jsou pouze extraadrenální (Proye, et al., 1986) (Brown, et al., 1972). Adrenální FEO, převážně asociované s MEN2, primárně secernují adrenalin nebo kombinaci adrenalinu a noradrenalinu. Tumory asociované s VHL onemocněním produkují pouze noradrenalin (Manger & Gifford, 1996). Naopak ale ani přes výrazné významné zvýšení laboratorních hodnot katecholaminů nemusí mít pacient příznaky žádné (Letizia, et al., 2001). Záchvatovité příznaky mohou být vyvolány i různými stimuly, jako je anestézie, přímá či nepřímá manipulace s nádorem, močení. Jsou známy i látky, které přispívají k rozvoji katecholaminové krize: glukagon, histamin, metoclopramid, tricyklická antidepresiva, inhibitory monoaminoxidázy, beta-blokátory nebo antiobezitika (Pacak, 2007), z potravin jsou to ty s vysokými koncentracemi tyraminu, jako sýry, pivo a víno (Manger, 2006) (Manger & Eisenhofer, 2004) (Bittar, 1979).

### **3.3 Vliv nadprodukce katecholaminů na orgány**

#### *3.3.1 Kardiovaskulární systém*

Přítomnost vysoké produkce katecholaminů v organismu a tím aktivace  $\alpha$ - i  $\beta$ - adrenergických receptorů může způsobovat vazokonstrikci koronárních arterií a stimulovat pozitivně inotropní efekt v srdci, což může vést k tachyarytmiím. Dlouhotrvající arteriální hypertenze, chronická myokardiální hypoxie a metabolická myokarditida způsobená hyperkatecholaminémií vedou buď v chronickou hypertofickou, dilatační nebo obstrukční kardiomyopatii nebo k akutní ischemické či tako-tsubo kardiomyopatii (Zelinka, et al., 2012). Chronické působení způsobí periferní arteriální insuficienci, která se projevuje jako bolest ve výrazně bledých končetinách a intermitentní klaudikace (Radtke, et al., 1975).

#### *3.3.2 Respirační systém*

Akutní stavy způsobené katecholaminovou nadprodukcí se mohou projevit jako nekardiální plicní edém nebo syndrom respirační tísně dospělých (ARDS).



### 3.3.3 *Endokrinní orgány a metabolismus*

Prvním projevem FEO/PGL může být i diabetická ketoacidóza, křeče nebo multisystémová krize s laktátovou acidózou (Brouwers, et al., 2006), poruchy metabolismu glukózy až do formy diabetu mellitu vyžadujícího inzulin (La Batide-Alanore, et al., 2003).

### 3.3.4 *Gastrointestinální trakt*

Další z prvních příznaků doposud nediagnostikovaného FEO/PGL může být také zácpa, střevní pseudoobstrukce, paralytický ileus, krvácení do dutiny břišní, megacolon, uzávěr mezenterických žil, střevní ischémie či perforace colon (Salehi, et al., 1996), těžká enterokolitida a peritonitida, cholecystitida, akutní pankreatitida a profuzní průjmy s hypokalémií. Vysoká produkce katecholaminů způsobí spasmus viscerálních arteriol, což způsobí snížený krevní průtok a ischemii viscerálních orgánů (Salehi, et al., 1996) (Carr, et al., 1989).

### 3.3.5 *Nervový systém*

Přítomnost FEO/PGL bývá asociována s neurologickými komplikacemi včetně hypertenzní encefalopatie a cévní mozkové příhody (Kwong, et al., 1987) (Zelinka, et al., 2012). Paroxysmální vzestupy krevního tlaku naopak mohou způsobit hemorrhagickou cévní mozkovou příhodu a posturální hypotenze může vyústit v akutní ischemickou mozkovou příhodu (Lin, et al., 2007). Znamky a symptomy hypertenzní encefalopatie zahrnují bolesti hlavy, edém papily očního nervu, alteraci mentálního statu a také mozkové infarkty (Dinsdale, 1982) (Majic & Aiyagari, 2008).

### 3.3.6 *Urogenitální systém*

Vliv nadprodukce katecholaminů se může prezentovat také jako akutní renální selhání, akutní pyelonefritida a těžká hematurie, které jsou reverzibilní po odstranění tumoru (Fujiwara, et al., 2009). Vazokonstrikce u pacientů s FEO/PGL může způsobit svalovou ischémii a následkem nedostatečného přísunu kyslíku ke kosterním svalům se může rozvinout rhabdomyolýza a akutní tubulární nekróza způsobená myoglobinurií. U těchto pacientů nalézáme vysoké hodnoty kreatin-kinázy a močového myoglobinu (Brouwers, et al., 2003) (Shemin, et al., 1990).

### 3.3.7 *Zrak*

U pacientů s FEO/PGL s arter. hypertenzí může být zjištěna hypertenzní retinopatie způsobená retinální vazokonstrikcí, zvýšenou vaskulární permeabilitou a sekundární arteriosklerózou (Chatterjee, et al., 2002) (Petkou, et al., 2008). Při očním vyšetření bývají zjišťovány retinální mikroaneurysmata, hemorrhagie, „cotton-wool spots“ a venózní krvácení (Schubert, 1998).

### 3.3.8 *Multiorgánové selhání*

Adrenalin-secernující tumory se mohou prezentovat kardiogenním šokem (Bergland, 1989) (Galetta, et al., 2010) (Olson, et al., 2004). Pacienti mohou mít také projevy feochromocytomové multisystémové krize (PMC), která se od kardiogenního šoku liší multisystémovým orgánovým

selháním a horečkou nad 40°C, encefalopatií a závažnou hypertenzí nebo hypotenzí (Pacak, et al., 2005) (Brouwers, et al., 2003) (Newell, et al., 1988).

### 3.3.9 *Ostatní*

Přítomnost vysoké produkce katecholaminů v organismu může vést i k rozvoji subklinického zánětu, jehož hodnoty se po odstranění tumoru normalizují (Zelinka, et al., 2007). Katecholaminy také způsobují chronický oxidační stres (Turkova, et al., 2013). Během těhotenství mohou být projevy při nadprodukcí katecholaminů zaměněny za preeklampsii.

## 3.4 Diagnostika FEO/PGL

Časná diagnóza FEO/PGL je velmi důležitá k prevenci rozvoje četných komplikací a v neposlední řadě i fatálních následků způsobených nadprodukcí katecholaminů. Podezření na FEO/PGL na základě klinických projevů/ příznaků by mělo být potvrzeno biochemickým vyšetřením. Jedinou výjimkou jsou pacienti, u nichž byl nádor zjištěn již při morfologickém vyšetření z jiného důvodu a dále pak pacienti v těžkém stavu, kde může morfologické vyšetření zrychlit diagnostiku FEO/PGL (Lenders, et al., 2014).

### 3.4.1 *Diferenciální diagnostika FEO/PGL*

Spousta klinických příznaků a projevů spojených s hyperkatecholaminemií při přítomnosti FEO/PGL je nespecifických, proto je zapotřebí diferenciatně diagnosticky vyloučit i ostatní onemocnění se stejnými projevy a příznaky (Kantorovich & Pacak, 2010): anxieta a panické ataky, neuroblastom, karcinoid, ganglioneuroblastom, ganglioneurom, hyperplázii dřeně nadledviny, selhání baroreceptorů, tyreotoxikózu, migrénu či cluster headaches, autonomní epilepsii, náhlé vysazení klonidinu, užívání amfetaminů a kokainu, alkoholismus, stravu bohatou na tyramin, užívání inhibitorů monoaminoxidázy, hypoglykémii, hyperglykémii bez diabetu mellitu, paroxysmální tachykardii včetně syndromu posturální tachykardie, autonomní hyperreflexii, anginu pectoris nebo infarkt myokardu, prolaps mitrální chlopně, náhlou příhodu břišní, disekci aorty, kardiální dekompenzaci, nemoci renálního parenchymu nebo renálních arterií, intrakraniální léze, cerebrální vaskulitidu a hemorhagie, menopauzální syndrom, léky indukovanou hypertenzi, hypertenzi v rámci sebepoškozování, Cushingův syndrom, akutní infekční onemocnění, akrodynii i otravu rtuťí, dyskomfort v těhotenství, šok, nevysvětlitelné multiorgánové selhání a laktátovou acidózu, akutní intermitentní porfyrii a familiární dysautonomii (Riley-Day syndrom).

### 3.4.2 *Laboratorní diagnostika*

Základním screeningovým vyšetřením při podezření na FEO/PGL je stanovení metanefrinů v plazmě nebo v moči, které jsou senzitivnější a specifitější než mateřské katecholaminy (Eisenhofer & Peitzsch, 2014). Zvýšení plazmatických koncentrací metanefrinů 4x nad horní mez normy jsou extrémně vzácné u pacientů bez FEO/PGL a objevují se u 70-80% nemocných s tumorem (Lenders, et al., 2002), je toto zvýšení považováno za diagnostické (Eisenhofer, et al., 2003). FEO/PGL produkující dopamin bývají extra adrenální, obvykle se prezentují normotenzí nebo hypotenzí, ale často bývají maligní. Proto je nezbytné vyšetřovat i plasmatické hladiny

metabolitu dopaminu methoxytyraminu k jejich detekci (Eisenhofer, et al., 2005). Velmi vzácně některé FEO/PGL neprodukují ani metanefriny a v těchto případech může dopomoci stanovení chromograninu A, u maligních nádorů pak může být pozitivní i sérová neuron-specifická enoláza (Eisenhofer, et al., 2003). Plazmatické metanefriny jsou měřeny v jejich volné formě, zatímco močové metanefriny jsou měřeny po dekonjugaci. Koncentrace volných plazmatických metanefrinů je nezávislá na renálních funkcích, proto je stanovení plazmatických metanefrinů upřednostňováno v případě chronické renální insuficience, kdy je glomerulární filtrace nižší než 30ml za minutu (Eisenhofer, et al., 2005).

### 3.4.3 Zobrazovací diagnostika

Zobrazovací vyšetření by měla následovat až po dokončení biochemických vyšetření, což neplatí pro nádory již dříve zjištěné nebo nádory biochemicky němé – jak z oblasti hlavy a krku, tak i ty méně diferencované - na podkladě mutace genu B podjednotky.

### 3.4.4 Genetické testování

Vysoká pravděpodobnost přítomnosti dědičných FEO/PGL se vyskytuje v případě pozitivní familiární historie, v přítomnosti syndromových rysů onemocnění a při multifokálních, bilaterálních a metastatických tumorech.

## 3.5 Genetika FEO/PGL

U 35-40% FEO/PGL lze zjistit dědičnou predispozici, mohou se vyskytovat v souvislosti s genetickými syndromy i tzv. non-syndromové formy FEO/PGL (Martins & Bugalho, 2014). Do roku 2015 bylo identifikováno 19 těchto genů (Welander, 2015). Recentně byla identifikovaná další zárodečná mutace v genu pro malát dehydrogenázu 2 - *MDH2* spojená s familiárním výskytem PGL (Cascon, et al., 2015). Sporadické FEO/PGL jsou charakterizovány poněkud vyšším věkem v době diagnózy a menším počtem mnohočetných tumorů než u familiárních případů (Welander, et al., 2011). Souhrnně, zárodečné a/nebo somatické mutace ve známých genech spojených se vznikem FEO/PGL, se vyskytují v přibližně 60% tumorů (Favier, et al., 2015) (Tabulka 1).

Gen	Onem.	Chrom.	Her. + somat.	Bioch. fen.	Projevy	Maligní formy
<b>NF1</b>	Neurofibromatóza 1. typu	17q11.2	AD + somat.	A	neurofibromy, café au lait skvrny, píhy v axile a tříselech, Lischovy uzly, abnormality kostí, gliomy CNS, makrocefalie, kognit. deficit  FEO (bilat.) v cca 5%	11%
<b>RET</b>	Mnohočet. endokrinní neoplázie	10q11.2	AD + somat.	A	Typ A: medulární ca thyroidey, primární hyperparatyreóza, kožní lichenová amyloidóza	< 1-5%

					Typ B: medulární ca thyroidey, mukokutánní neuromy, kostní deformity, změněná kloubní hybnost, myelinizované rohovkové nervy, Hirschprungova choroba  FEO až v cca 50%	
<b>VHL</b>	Syndrom von Hippel-Lindauův	3p25-26	AD  + somat.	NA	Hemangioblastom, retinální angiom, světlobuněčný ca ledviny, neuroendokrinní nádory a serózní cystadenomy pankreatu, tumory saccus endolymfaticus středního ucha, papilární cystadenomy epididymis a širokého vazů  FEO (bilat.) v cca 20%,  PGL vzácně	< 5%
<b>SDHA</b>	PGL5	5p15	AD	?	PGL hlavy a krku, GIST	0-14%
<b>SDHB</b>	PGL4	1p36	AD	NA, DA,  často NS	FEO, PGL hlavy a krku, mediastina, břicha i malé pánve  vzácně ca ledvin a GIST	45-70%
<b>SDHC</b>	PGL3	1q23	AD	NA,  často NS	PGL hlavy a krku, mediastina, břicha i malé pánve  vzácně ca ledvin a GIST	< 5%
<b>SDHD</b>	PGL1	11q23	AD	NA, DA,  často NS	FEO, PGL hlavy a krku, mediastina, břicha i malé pánve  vzácně ca ledvin a GIST	5%
<b>SDHAF2</b>	PGL2	11q13.1	AD	?	PGL hlavy a krku	?
<b>TMEM127</b>	Syndrom familiárních FEO	2q11.2	AD	A	FEO (bilaterální)  vzácně ca ledviny	4%
<b>MAX</b>	-	14q23.3	AD	A, NA	FEO (bilaterální), vzácně PGL	10-25%
<b>HIF2A</b>	Pacák-Zhuangův syndrom	2p21-p16	somat.  zárod.	NA	polycytémie, PGL, FEO  somatostatinom	?
<b>FH</b>	Reedův syndrom	1q42.1	zárod.	?	kožní a děložní leiomyomatóza, ca ledvin, vzácně FEO a PGL	vysoký,  pravděp. jako SDHB
<b>EGLN1</b>	?	1q42.1	zárod.	?	polycytémie	?

					hrudní a břišní PGL	
<b>KIF1B<math>\beta</math></b>	?	1p26.2	zárod.	?	FEO, PGL neuroblastomy	?
<b>BAP1</b>	?	3p21.1	zárod.	?	uveální a maligní kožní melanomy, mesoteliomy PGL	?
<b>MDH2</b>	?	7q11.23	zárod.	NA	hydroxyglutarátovou acidurie, poruchy spánku, FEO, PGL	Ano
<b>H-RAS</b>	?	11p15.5	somat.	?	FEO, PGL tumory kůže	?
<b>K-RAS</b>	?	12p12.1	somat.	?	FEO kolorektální ca	?
<b>IDH1</b>	?	2q33.3	somat.	?	PGL, gliomy	?
<b>TERT</b>	?	5p15.33	somat.	?	FEO, PGL, melanomy	?

**Tabulka 1:** Stručný přehled genů souvisejících s vývojem FEO/PGL.

**Zkratky:** názvy jednotlivých genů budou popsány v textu níže, A = adrenergní, AD = autosomálně dominantní, bioch. Fen. = biochemický fenotyp, ca = karcinom, CNS = centrální nervová soustava, chrom. = chromozom, DA – dopaminergní, GIST = gastrointestinální stromální tumor, her. = heredita (dědičnost), NA = noradrenergní, NS = non-sekretorický (nesecernující, biochemicky němý), onem. = onemocnění, PGL 1-5 = syndrom familiární paragangliomatózy 1-5, somat. = somatický, zárod. = zárodečný (germinální) Upraveno dle (Zelinka, 2016), (Jochmanova, et al., 2014) a (Welander, 2015) (Cascon, et al., 2015).

### 3.6 Terapie FEO/PGL

Zatím jediným kurativním opatřením u FEO/PGL je jeho chirurgické odstranění, které se dnes provádí pomocí minimálně invazivních technik, u nichž rozhoduje zkušenost chirurga, ne samotná velikost nádoru. Medikamentózní terapie má své místo v předoperační přípravě a v případě, kdy je nádor inoperabilní.

### 3.7 Pooperační sledování + sledování nosičů zárodečné mutace

Po úspěšném odstranění nádoru by měli být pacienti dlouhodobě sledováni a to nejen ti s pozitivním genetickým vyšetřením pro riziko možnosti recidivy nebo dokonce i objevení se metastáz. Ihned po chirurgickém výkonu je vhodné provést kontrolní vyšetření plazmatických nebo močových metanefrinů k vyloučení perzistence onemocnění (Zelinka, et al., 2015). Pravidelné sledování je prováděno většinou v 6-12 měsíčních intervalech s cílem časně detekce případné recidivy nebo dokonce metastatického postižení k včasnému odhalení rekurentního nebo metastatického onemocnění (Lenders, et al., 2014).

### 3.8 Maligní FEO/PGL

WHO klasifikace definuje jako jediné akceptovatelné kritérium pro diagnózu maligního/metastatického FEO/PGL přítomnost metastáz, ne však lokální invazivitu (DeLellis, 2004). Metastázy jsou nalézány v místech, kde se chromafinní tkáně běžně nevyskytují, např. v lymfatických uzlinách, kostech, plicích a játrech. Prevalence malignity FEO/PGL je 2% - 26% (John, et al., 1999) (Korevaar & Grossman, 2011), v případě PGL až 36% a více, což závisí na genetickém pozadí tohoto nádoru.

#### 3.8.1 Mutace v genech *SDHB*, *MAX*, *FH*

Mutace v *SDHB* genu jsou považovány jako nejvýznamnější riziko agresivnějšího chování a rozvoje metastatického onemocnění se závažnou prognózou u dětí (Gimenez-Roqueplo, et al., 2012) i dospělých až u 50%-90% FEO/PGL s touto mutací (Eisenhofer, et al., 2004) (Amar, et al., 2005) (Benn & Robinson, 2006) (Brouwers, et al., 2006) (Amar, et al., 2007) (Loriot, et al., 2012) (Ayala-Ramirez, et al., 2011). Mutace v genech *MAX* a *FH* jsou také spojovány s vyšší pravděpodobností výskytu maligních FEO/PGL (Burnichon, et al., 2012) (Letouze, et al., 2013).

#### 3.8.2 Další nezávislé faktory asociované s maligním/metastatickým chováním

Extra-adrenální lokalizace a velikost FEO/PGL nad 5-6cm, přítomnost vysokých hladin metoxytyraminu, přítomnost nekrotických a vysoký mitotický index buněk FEO/PGL jsou dalšími nezávislými faktory asociovanými s metastatickým chováním primárních FEO/PGL (Korevaar & Grossman, 2011) (Agarwal, et al., 2010) (Eisenhofer, et al., 2011) (Zelinka, et al., 2011) (Ayala-Ramirez, et al., 2012). Dalšími zvažovanými nezávislými faktory jsou: vyšší věk v době diagnózy (Eisenhofer, et al., 2011), lokalizace primárních nádorů (Pacak, et al., 2007) (Burnichon, et al., 2009), noradrenergní a/ nebo dopaminergní biochemický fenotyp (Eisenhofer, et al., 2005) (Eisenhofer, et al., 2011) (Zelinka, et al., 2011).

## 4. Hypotézy a cíle práce

Arteriální hypertenze je hlavním rizikovým faktorem rozvoje kardiovaskulárních nemocí, které jsou nejčastější celosvětovou příčinou úmrtí (Kaplan & Victor, 2009). Odlišení sekundární hypertenze od primární je velmi důležité pro možnosti specifické léčby, která může vést u odstranitelných příčin k vymizení hypertenze nebo jejímu podstatnému zlepšení a tím i ke snížení rizika rozvoje kardiovaskulárních nemocí (Widimsky Jr., et al., 2008).

Vzhledem k tak vysokému počtu nemocných s primární a sekundární arteriální hypertenzí a možným fatálním následkům při přítomnosti FEO/PGL, které byly popsány již ve studii v roce 1951 (Graham, 1951), jsme se rozhodli na souboru pacientů ještě před definitivní diagnózou tohoto onemocnění zaměřit na prevalenci kardiovaskulárních a cerebrovaskulárních komplikací.

Přítomnost vysoké produkce katecholaminů v organismu vede nejen k rozdílným kardiovaskulárním komplikacím, zvýšené markry oxidativního stresu jsou rovněž nalézány u pacientů se srdečním selháním, které souvisí s aktivací sympatického nervového systému

vysokými hladinami katecholaminů (Castro, et al., 2003). Odstraněním FEO/PGL dochází k normalizaci hladin katecholaminů a tudíž i hladin metanefrinů, jejichž vysoké hodnoty jsou diagnostické pro přítomnost tohoto tumoru. Zaměřili jsme se na stanovení hladin vybraných markerů oxidativního stresu – vitamínu C, superoxiddismutázy a hladin malondialdehydu, jež je peroxidacním produktem polynenasycených mastných kyselin a současně markerem oxidativního stresu, a jehož hladiny korelují se stupněm lipidové peroxidace buněčných membrán a tím s jejich poškozováním (Nielsen, et al., 1997).

V souvislosti s nutností dlouhodobého sledování pacientů po odstranění FEO/PGL se nabízí otázka, kdy je nejvhodnější provést první kontrolní biochemické vyšetření. Jednotlivá doporučení z různých zdrojů se liší, dle Doporučení Americké endokrinologické společnosti by se vyšetření metanefrinů mělo provádět s odstupem 2 - 4 týdnů od operace po stabilizaci pacienta (Lenders, et al., 2014). V naší práci jsme se zamýšleli také nad compliance pacientů k těmto vyšetřením po operaci a také nad zefektivněním celého pooperačního managementu, neboť 3. interní klinika VFN je terciálním centrem pro pacienty s FEO/PGL a zároveň centrem pro výzkum, diagnostiku a terapii arteriální hypertenze a soustřeďuje tyto pacienty z celé republiky. Proto bylo kontrolní vyšetření hladin metanefrinů provedeno v časném pooperačním období po stabilizaci pacienta po  $7,1 \pm 2,2$  dnech během jedné hospitalizace.

FEO/PGL může vznikat i na podkladě dědičné genetické mutace různých genů a vyskytovat se v benigní i maligní formě. Vzhledem k dědičnosti lze na základě genetických vyšetření aktivně vyhledávat a pravidelně sledovat doposud zdravé jedince s vysokým rizikem vývoje FEO/PGL (Musil, et al., 2012) (Zelinka, 2016). Odlišení benigního od maligního FEO/PGL je velmi obtížné, neplatí totiž pravidla malignity jako u ostatních nádorových onemocnění. V retrospektivní studii jsme se soustředili pouze na pacienty s maligním feochromocytomem diagnostikovaných a léčených v NIH v Bethesdě v USA v období posledních 15 let. Byla vytvořena jedna z největších světových studií pouze s pacienty s maligním FEO/PGL s mutací v *SDHB* genu ve srovnání s pacienty se sporadickými maligními tumory se snahou o aktualizaci a poskytnutí komplexních a aktuálních klinických, genetických a biochemických charakteristik metastazujících FEO/PGL a z toho vyplývajících doporučení.

V první části naší práce jsme se zaměřili na zjištění prevalence závažných kardiovaskulárních komplikací u pacientů s feochromocytomem. Hlavním cílem práce bylo:

- prokázat incidenci kardiovaskulárních komplikací jako arytmií, IM, koronární aterosklerózy a cerebrovaskulárních příhod u pacientů před definitivním potvrzením diagnózy FEO
- zjistit rozdíly v klinických a laboratorních charakteristikách u pacientů s diagnózou s FEO s kardiovaskulárními komplikacemi a bez nich

Ve druhé části jsme zkoumali rozdíly v hladinách markerů oxidativního stresu – vitamínu C, superoxid dismutázy (SOD) a malondialdehydu (MDA) u pacientů s feochromocytomem před a po operaci. Hlavním cílem práce bylo:

- prokázání poklesu parametrů oxidativního stresu po úspěšném chirurgickém odstranění feochromocytomu

Doposud je chirurgické odstranění tumoru zatím jedinou a kurativní metodou FEO/PGL. Vzhledem k jejich nepředvídatelnému klinickému chování je biochemické vyšetření povinné pro potvrzení úspěšnosti chirurgického odstranění nádoru, kterým jsme se zabývali ve třetí části práce. Současně s touto otázkou jsme řešili usnadnění managementu vyšetření a compliance pacienta. Hlavním cílem práce bylo:

- stanovení co nejkratšího, ale již diagnostického intervalu s výpovědní lhůtou o úspěšném operativním odstranění FEO/PGL a tím usnadnění pooperačního managementu
- potvrzení správnosti tohoto intervalu kontrolními vyšetřeními po 6 měsících (kontrola pacientů s elevovanými plasmatickými metanefriny po operaci proběhla do tří měsíců po operaci)

Ve čtvrté části jsme se zabývali rozsáhlým souborem pacientů pouze s maligním FEO/PGL v souvislosti s jejich genetickým pozadím. Je známo, že 10-20% FEO/PGL je metastatických a vyšší metastatický potenciál je pozorován u pacientů s mutacemi v *SDHB* a *FH* genech. V případě *SDHB* mutace až v 70%. Díky lepší dostupnosti biochemických a genetických testů a dostupnosti a častého využívání anatomických a funkčních zobrazovacích vyšetření je v poslední době mnohem vyšší detekce metastatických FEO/PGL. Hlavním cílem práce bylo:

- zjistit rozdíl v četnosti FEO/PGL s mutacemi v *SDHB* genu a sporadických tumorů u dětí a dospělých pacientů
- porovnat pravděpodobnost přežití pacientů s maligními tumory s mutacemi v *SDHB* genu a se sporadickými tumory v závislosti na věku
- zjistit korelaci mezi velikostí nádoru, věkem diagnózy a jeho agresivitou
- porovnat agresivitu *SDHB* tumorů a sporadických FEO/PGL
- zjistit rozdíly v přežití v závislosti na pohlaví
- stanovení doporučení vyplývajících pro diagnostiku a dlouhodobé sledování pacientů s metastatickým FEO/PGL

V závěru práce jsem vložila teoretické články se zaměřením na problematiku FEO/PGL s postupnými v čase doplňovanými doporučeními pro vyšetřování pacientů, diagnostiku, medikamentózní i chirurgickou léčbu a posléze s následným sledováním těchto pacientů, jejichž poznatky jsou využívány v našich výzkumných člancích. S rozvojem poznatků o vzniku FEO/PGL i na podkladě dědičné genetické mutace různých genů se do popředí dostává nutnost genetického vyšetření těchto pacientů, které může předpovědět budoucí chování těchto nádorů a z toho vyplývající doporučení pro přístup k těmto pacientům. Navíc dochází k neustálému objevování dalších genů souvisejích s rozvojem tohoto onemocnění.



## **5. Materiál a metodika**

**I.Vysoká incidence kardiovaskulárních komplikací u feochromocytomu:** Byla provedena retrospektivní studie u 145 pacientů léčených v naší nemocnici v letech 1994 až 2011 pro KV příhody a arytmie před diagnózou FEO.

**II.Feochromocytom a markry oxidativního stresu:** Do studie bylo zařazeno 18 pacientů s feochromocytomem, kteří byli vyšetřeni před a průměrně jeden rok po úspěšném odstranění tumoru. Vyšetření byla prováděna z periferní krve odebrané za standardizovaných podmínek, tj. vleže po celonočním klidu na lůžku.

**III.Biochemická kontrola po odstranění feochromocytomu: jak brzy?** Bylo vyšetřeno 81 pacientů s feochromocytomem před a po chirurgické operaci. Pooperační testování bylo provedeno po stabilizaci stavu pacientů a po jejich přeložení z chirurgické kliniky na interní kliniku, tedy  $7.1 \pm 2.2$  dnů po operaci. Pro diagnostiku feochromocytomu a poté konfirmaci úspěšného odstranění tumoru bylo provedeno vyšetření plazmatických metanefrinů.

**IV.Charakteristiky a výsledky u metastatického *SDHB* a sporadického feochromocytomu/ paragangliomu: studie v NIH:** Byla provedena retrospektivní analýza 132 pacientů (27 dětí a 105 dospělých) s metastatických FEO/PGL, kteří byli diagnostikováni a léčeni během let 2000 až 2014. Soubor pacientů se skládal ze sedmdesáti sedmi (58%) mužů a padesáti pěti (42%) žen; 39 (30%) pacientů zemřelo, bez rozdílu v pohlaví. Sedmdesát tři (55%) pacientů mělo mutaci v *SDHB* genu, 59 (45%) pacientů mělo sporadické tumory (ST). Průměrný věk v době diagnózy primárního tumoru byl u *SDHB* pacientů  $31 \pm 16$  let, u sporadických tumorů  $40 \pm 15$  let.

### **5.1 Měření krevního tlaku:**

Hodnoty klinického krevního tlaku byly získány za použití validovaného oscilometrického tlakoměru (Dinamap, Critikon, Tampa, FL, USA). Krevní tlak byl měřen v poloze vsedě po 5 minutách klidu - ve třech 1-2 minutových intervalech a konečná hodnota krevního tlaku byla vypočtena jako průměr z druhého a třetího měření krevního tlaku. Byla použita manžeta odpovídající velikosti paže dle doporučení Evropské společnosti pro hypertenzi. Jako arteriální hypertenze byl definován krevní tlak  $\geq 140/90$  mmHg. 24-hodinové ambulantní monitorování krevního tlaku bylo provedeno v průběhu hospitalizace pomocí oscilometrického tlakoměru Spacelab (Spacelabs 90207; SpaceLabs Medical, Redmond, WA, USA). Krevní tlak byl měřen dle doporučení ve 20-minutových intervalech v denní době (od 6:00 do 22:00 hodin) a ve 30-minutových intervalech v noci (od 22:00 do 6:00 hodin).

### **5.2 Diagnostika kardiovaskulárních komplikací**

Arytmie byly diagnostikovány pomocí vyšetření EKG křivky včetně 24 hodinového monitorování EKG. Srdeční selhání bylo diagnostikováno při přítomnosti jeho symptomů vyžadujících hospitalizaci a konfirmovaných RTG vyšetření hrudníku. Infarkt myokardu (IM) byl diagnostikován dle definice z roku 2007 jako typ 1 – spontánní IM při ischemii z důvodu koronární aterosklerózy při porušení aterosklerotického plátu (eroze, a/nebo fisury, ruptura nebo disekce aterosklerotických plátů) a typ 2 – sekundární IM při ischemii z důvodu nerovnováhy mezi zásobením a spotřebou

kyslíku. Signifikantní periferní ateroskleróza byla potvrzena andiografií nebo sonograficky, cerebrovaskulární komplikace jako mozková příhoda či tranzitorní ischemická ataka, subarachnoidální krvácení nebo vaskulopatie byly diagnostikovány pomocí magnetické rezonance.

### **5.3 24 hodinový sběr moči**

Ke správnému zhodnocení laboratorního výsledku je nutné znát přesně množství moče vyloučené za 24 hodin. Před započítáním sběru moči se močový měchýř úplně vyprázdní mimo sběrnou nádobu a dále se veškerá moč po dobu 24 hodin sbírá pouze do sběrové nádoby. Po prvním vymočení se přidá do sběrné nádoby stabilizační činidlo: 15 ml 6 M HCl (12,5%). Při každém přidání moče se sběrná nádoba promíchá a nádoba se uchovává v chladu a temnu (např. v ledničce). Po případném naplnění jedné nádoby se přelije část objemu moče do další nádoby (aby bylo zachováno kyselé prostředí v obou sběrných nádobách) a pokračuje se ve sběru moče.

### **5.4 Odběr krve k vyšetření plazmatických metanefrinů**

Vlastní odběr probíhá v poloze vleže, kdy se 15 minut před odběrem pacientovi zavede kanylka. Zkumavky s plnou krví se ihned obloží ledem a co nejrychleji dodá do laboratoře nebo se separuje plazma při  $-20^{\circ}\text{C}$  (centrifugace v chlazené centrifuze). Pro náročnost odběru lze provádět toto vyšetření jen u hospitalizovaných pacientů.

### **5.5 Vyšetření katecholaminů a metanefrinů**

Vyšetřování katecholaminů bylo prováděno v dlouhém období, proto byly používány různé metody pro měření močových či plazmatických katecholaminů či metanefrinů. Dříve vpoužívané fluorimetrické metody byly vystřídány tekutinovou chromatografií s elektrochemickou detekcí (HPLC-ED, Agilent 1100; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

### **5.6 Další biochemická vyšetření**

Rutinní biochemická vyšetření byla provedena automatickými analyzátory. Plazmatický malondialdehyd (MDA) (normální hodnoty 1.5-2.25  $\mu\text{mol/l}$ ) byl stanoven použitím fluorimetrických metod, superoxid dismutázová (SOD) aktivita v erythrocytech (normální hodnoty 0.7-19 U) byla vyšetřovaná pomocí xanthin-xanthin oxidázovým systémem na Genesys 5 spektrofotometru (Thermo Electron Corporation, Marietta, Ohio, USA). Sérum pro analýzu kyseliny askorbové (normální hodnoty 28-86  $\mu\text{mol/l}$ ) bylo připraveno pomocí kyseliny trichloroacetické a zamrazeno až do spektrofotometrické analýzy.

### **5.7 Genetické vyšetření FEO/PGL**

Genetické testování FEO/PGL v hlavních genech zodpovědných za rozvoj těchto tumorů (*SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *VHL*, *RET*, *MAX*, and *TMEM127*) bylo prováděno v NIH; Mayo Medical Laboratories, Rochester, MN; dále v Division of Molecular Diagnostics at the University of Pittsburgh Medical Center; nebo v Department of Genetics of the Children's Hospital of Philadelphia, PA. NF1 byla diagnostikována na základě přítomnosti typických klinických znaků. U *SDHB* genu bylo genetické testování bylo prováděno pomocí PCR založeném na obousměrném sekvenování osmi kódujících exonů a intronů přilehlých oblastí, stejně tak i částí 5'-nepřeložených a 3'-nepřekládané oblasti tohoto genu v Division of Molecular Diagnostics na University of Pittsburgh Medical Center

(Pittsburgh, PA). Genetické testování bylo také prováděno ve spolupráci s Mayo Clinic, Rochester, MN a Department of Genetics, the European Georges Pompidou Hospital, Paříž, Francie.

### 5.8 Lokalizace FEO/PGL

V NIH studii: CT a MR od krku po malou pánev bylo prováděno u všech pacientů. Většina pacientů dále podstoupila PET nebo PET/CT vyšetření s použitím dvou odlišných radiofarmak a/nebo [<sup>123/131</sup>I]-MIBG scintigraphy. CT skeny krku, hrudi, břicha a pánve byly prováděny s využitím nejdříve jednokanálových nebo multikanálových spirálních CT přístrojů (General Electric Healthcare Technologies), od roku 2003 potom byly využívána multikanálová helikální CT zařízení (General Electric Healthcare Technologies, Philips Medical Systems, Siemens Medical Solutions). Skeny MR krku, hrudi, břicha a pánve byly získány pomocí 1.5 or 3 Tesla přístroji (General Electric Healthcare Technologies and Philips Medical Systems). Pro PET a PET/CT vyšetření byl pacientům nejméně 4 hodiny před vyšetřením aplikován intravenózně (i.v.) [<sup>18</sup>F]-fluorodopamin ([<sup>18</sup>F]-FDA) (1 mCi) nebo [<sup>18</sup>F]-fluorodeoxyglukóza ([<sup>18</sup>F]-FDG) (15 mCi). [<sup>18</sup>F]-FDA PET skenování probíhalo do března 2005 pomocí Advance Scanner (General Electric Medical Systems) s 15 cm axiálním zorným polem. Následně byly prováděny skeny s [<sup>18</sup>F]-FDA a [<sup>18</sup>F]-FDG pomocí PET/CT skenerů (Siemens) s 15 cm axiálním zorným polem. Pacienti podstupující vyšetření pomocí [<sup>123/131</sup>I]-MIBG byli snímáni v 24h (a někdy 48h) odstupu po i.v. aplikaci 10 mCi (370 MBq) [<sup>123</sup>I]-MIBG nebo 0.5 mCi (18.5 MBq) [<sup>131</sup>I]-MIBG. Při funkčním vyšetřování pacientů s FEO/PGL v České republice, jejichž soubor byl podkladem k ostatním třem pracem, byl do roku 2012 využíván pro potvrzení diagnózy a vyloučení mnohočetného výskytu tumorů většinou <sup>123</sup>I-metaiodobenzylguanidin. Od roku 2012 se využívá PET s [<sup>18</sup>F]-fluorodopou.

### 5.9 Analýza dat

Data jsou uváděna jako arytmetický průměr nebo střední hodnota  $\pm$  standardní odchylka (SD). Analýza párových hodnot (data před a po operaci) byla provedena pomocí Student's two-sample t-test, Mann-Whitney testu a analýze rozptylu, následně Sidákovým testem pro vícenásobné srovnávání t-testu nebo Wilcoxonova ranksum testu (data s neparametrickou distribucí). Kategorické proměnné byly srovnávány Fisherovým exaktním testem a jeho zobecněním. Velikost tumoru byla uváděna pomocí jeho nejdelšího rozměru. Ke zkoumání vztahu mezi velikostí nádoru a souborem možných prediktorů malignity byl použit lineární regresní model. Kategorické údaje jsou uvedeny jako absolutní a relativní frekvence (v procentech). Pravděpodobnost přežití po chirurgickém odstranění FEO/PGL byla odhadnuta pomocí Kaplan-Meierovy metody a srovnání přežívání bylo testováno pomocí log-rank testu. K posouzení vlivu léčby na přežití byl použit Coxův regresní model. Se všemi statistickými testy bylo zacházeno jako s oboustrannými a byly hodnoceny na hladině významnosti 0,05, která byla považována za signifikantní. Data byla analyzována pomocí statistického software Statistica version 9.1CZ (StatSoft, Tulsa, OK, USA), Stata, verze 9.2 (Statacorp LP, College Station, TX, USA) a software Stata 14 IC (StataCorp, College Station, TX, USA).

## **6. Výsledky**

### **I. Vysoká incidence kardiovaskulárních komplikací u feochromocytomu**

KV komplikace byly přítomny u 28 pacientů. Nebyl rozdíl ve věku, pohlaví, body mass indexu, záchvatovitých symptomech a jejich trvání, velikosti tumoru, katecholaminovém fenotypu, přítomnosti hypertenze a diabetu mezi pacienty s KV komplikacemi a bez nich. Arytmie byly přítomny u 15 pacientů: 2 pacienti měli dva typy arytmií, u 9 pacientů byla zjištěna fibrilace síní, supraventrikulární tachykardie u 3 pacientů a komorová tachykardie u 2 nemocných. Signifikantní bradykardie byla zjištěna u 3 pacientů. Pět pacientů prodělalo srdeční selhání se sníženou systolickou funkcí (takotsubo kardiomyopatie byla diagnostikována ve 2 případech). Jeden pacient trpěl hypertrofickou obstrukční kardiomyopatií. Sedm pacientů prodělalo non-ST-elevation myocardial infarction (NSTEMI), 2 pacienti IM s ST-elevacemi (STEMI), 1 nemocný podstoupil operaci s implantací koronárního bypassu. Dva pacienti trpěli signifikantní periferní aterosklerózou. Mezi cerebrovaskulárními komplikacemi se vyskytla tranzitorní ischemická ataka u 3 pacientů, cévní mozková ischemie byla prokázána u 1 pacienta a subarachnoidální krvácení bylo diagnostikováno u 1 pacienta. Jeden pacient trpěl difúzními neurologickými poruchami při mnohočetných ischemických ložiscích v bílé hmotě mozkové. Naše data prokazují relativně vysokou incidenci KV komplikací (19,3%) u pacientů s FEO. Časná diagnóza FEO je proto nutná pro předcházení závažným kardiovaskulárním komplikacím u těchto pacientů.

### **II. Feochromocytom a markry oxidativního stresu**

Všichni pacienti měli elevované hladiny močového adrenalinu a/nebo noradrenalinu před operací. Hladiny vitamínu C signifikantně vzestoupily po odstranění nádoru z  $61 \pm 27$  na  $77 \pm 20$   $\mu\text{mol/l}$  ( $P=0.02$ ) a MDA signifikantně poklesl po odstranění tumoru z  $2.6 \pm 0.4$  na  $2.0 \pm 0.6$   $\mu\text{mol/l}$  ( $P=0.01$ ). Nebyly pozorovány žádné změny aktivity SOD před a po operaci. Zvýšená produkce katecholaminů u pacientů s feochromocytomem je doprovázená také sníženými hladinami vitamínu C a zvýšenými hladinami MDA, které mohou být považovány za indikátor aktivace oxidativního stresu a pacientů s feochromocytomem. Úspěšná operace s odstraněním tumoru byla spojena se snížením oxidativního stresu, které se projevilo ve změnách hladin obou biomarkerů.

### **III. Biochemická kontrola po odstranění feochromocytomu: jak brzy?**

Všichni pacienti s feochromocytomem měli před operací výrazně zvýšené hladiny plazmatických metanefrinů. Nebyla zjištěna korelace mezi pooperačním intervalem (ne kratším než 3 dny) a hladinami plazmatických metanefrinů. Pooperační hladiny plazmatických metanefrinů se významně nelišily od hodnot vyšetřených s odstupem jednoho roku od operace při pravidelném sledování pacientů. Časná pooperační diagnostická vyšetření plazmatických metanefrinů k verifikaci úspěšného odstranění feochromocytomu je možné a tudíž může zjednodušit další časný pooperační vyšetřovací postup.

#### **IV. Charakteristiky a výsledky u metastatického SDHB a sporadického feochromocytomu/ paragangliomu: studie v NIH**

Soubor pacientů se skládal ze sedmdesáti sedmi (58%) mužů a padesáti pěti (42%) žen; 39 (30%) pacientů zemřelo, bez rozdílu v pohlaví. Sedmdesát tři (55%) pacientů mělo mutaci v *SDHB* genu, 59 (45%) pacientů mělo sporadické tumory (ST). Průměrný věk v době diagnózy primárního tumoru byl u *SDHB* pacientů  $31 \pm 16$  let, u sporadických tumorů  $40 \pm 15$  let ( $P < 0.001$ ). Průměrný metastatický interval klesal se stoupajícím věkem u obou skupin pacientů ( $P = 0.013$  pro *SDHB* i ST). Pouze 16% všech primárních tumorů bylo menších než 4.5 cm. U 11% pacientů byly nádory biochemicky tiché, více ty s *SDHB* mutacemi. Dvacet tři procent pacientů s *SDHB* mutacemi mělo metastatický tumor již v době diagnózy ve srovnání s 15% pacientů se sporadickými tumory. Pět a deseti leté přežití bylo signifikantně lepší u pacientů se sporadickými tumory než u pacientů s *SDHB* mutacemi ( $P = 0.01$ ). Celkové přežití bylo signifikantně rozdílné mezi dětmi a dospělými ( $P = 0.037$ ); více zřetelný rozdíl byl u pacientů s *SDHB* mutacemi, u kterých měly děti statisticky signifikantně delší přežívání než dospělí ( $P = 0.006$ ). Příčina úmrtí u všech pacientů byla z důvodu metastatického FEO/PGL a to hlavně s tumory s noradrenergním fenotypem. U dětí má většina metastatických FEO/PGL mutaci v *SDHB* genu; u dospělých pacientů je rozložení mezi *SDHB* mutacemi a sporadickými tumory přibližně stejné, s lepším 5- a 10-letým přežíváním u pacientů se sporadickými tumory. U pacientů s mutacemi v *SDHB* genu děti přežívají déle než dospělí pacienti. Primárně metastatické tumory se většinou prezentují jako PGL s noradrenergním fenotypem a jsou větší než 4.5 cm u více než 80% pacientů. Frekvence metastatických tumorů u pacientů se sporadickými FEO/PGL stoupá s věkem a současně se zkracuje metastatický interval ve srovnání s *SDHB* tumory. Tyto výsledky podporují několik doporučení pro klinickou praxi, která jsou sesummarizována v Diskusi článku.

#### **7. Diskuze**

Naše práce byla zaměřená na možnosti genetického vyšetření u pacientů s feochromocytomem a paragangliomem. Problematika FEO/PGL je ale natolik široká, že zasahuje do více oborů a zaslouží si interdisciplinární přístup, tedy nejen vyšetření a stanovení rizik z něho vyplývajících, ale i další terapii a sledování včetně vhodných doporučení pro tento postup. FEO/PGL se svým vlivem na většinu tělesných orgánových soustav a potenciální fatálností při nerozpoznané diagnóze si zaslouží zvýšenou pozornost a pečlivost, byť se jedná o onemocnění se sporadickým výskytem. Zároveň je onemocněním dědičným, z čehož plyne nutnost vyšetřování příbuzných jedinců, i když doposud zdravých, u nichž se krom biochemických a zobrazovacích metod bez genetického vyšetření neobejdeme. Tento postup je nutný k prevenci rozvoje morbidit a jejich závažných komplikací, snížení nutnosti hospitalizací a zdlouhavé léčby, k prevenci mortality a v neposlední řadě i k prevenci zhoršení kvality života. Práce byla primárně stavěna na genetickém pozadí FEO/PGL, doplněna je však i o výzkum zabývající se nejen klinickými symptomy a příznaky při přítomnosti FEO/PGL, jež posléze vedou k procesu diagnostiky včetně genetického vyšetřování.

Díky znalosti problematiky vlivu vysokých hladin katecholaminů na organismus a závažnosti kardiovaskulárních komplikací jsme se zaměřili na jejich incidenci u FEO/PGL, která byla zjištěna u téměř 20% pacientů již před stanovením definitivní diagnózy FEO/PGL. Nejčastější komplikace byly arytmiické, následovány komplikacemi při myokardiální ischemii a akcentací aterosklerózy. Nebyly však zjištěny rozdíly mezi pacienty v pohlaví, věku, body mass indexu, krevním tlaku, primární lokalizaci či velikosti tumoru v době diagnózy u pacientů s FEO s kardiovaskulárními komplikacemi a bez nich. Pacienti s KV komplikacemi byli častěji starší, s arteriální hypertenzí a paroxysmálními symptomy a s delší dobou příznaků a symptomů, avšak tyto rozdíly nedosahovaly statistické významnosti. Závažnost KV komplikací stoupá s vědomím, že se mohou objevit u pacienta náhle bez předchozích varovných příznaků a mohou mít až fatální následky. Po odstranění tumoru jako zdroje vysoké produkce katecholaminů jsou některé změny na orgánech kardiovaskulárního systému reverzibilní, proto je nezbytně nutné na možnost diagnózy FEO/PGL pomýšlet.

Oxidativní stres participuje na všech stupních rozvoje aterosklerotických komplikací od lipoproteinové modifikace až k ruptuře plátu. V naší druhé práci jsme se zabývali stanovováním hladin markerů oxidativního stresu – vitamínu C, SOD a MDA a potvrdili zvýšení těchto parametrů u pacientů s FEO/PGL. Po úspěšném odstranění tumoru dochází k jejich poklesu, tedy k vzestupu hladin vitamínu C a poklesu hladin MDA, zatímco hladina SOD zůstala beze změny. Vzhledem k tomu, že katecholaminy mají vliv i na metabolismus glukózy, navíc pacienti byli před operací léčeni antihypertenzivy, nelze vyloučit i tento vliv na hladinu SOD. Výsledek přesto svědčí pro snížení oxidativního stresu u pacientů po úspěšném odstranění FEO/PGL.

Vzhledem k nepředvídatelnému klinickému chování FEO/PGL je biochemické vyšetření hladin katecholaminů povinné pro potvrzení úspěšnosti chirurgického odstranění těchto nádoru. Správné načasování tohoto vyšetření je velice důležité pro vyloučení možnosti falešně pozitivních výsledků, odkládání tohoto vyšetření na pozdější dobu může vést k rozvoji úzkosti pacienta z obav o úspěšném odstranění tumoru. Současně tato problematika v sobě skrývá usnadnění managementu dalších vyšetření pacienta a jeho compliance. V naší retrospektivní studii jsme prokázali, že je možné již brzké pooperační testování hladin plazmatických metanefrinů, které není spojeno s vyšším počtem falešně pozitivních výsledků a tudíž může usnadnit časný pooperační management péče o pacienty po odstranění FEO/PGL. Pouze u 7 pacientů z 81 byla v tomto období zjištěna elevace plazmatických metanefrinů, přičemž u 6 z nich došlo k normalizaci jejich hladin do 2 měsíců od operace a u posledního nemocného byla v tomto období zjištěna jejich další elevace signalizující přítomnost dalšího tumoru. Nebyla zjištěna signifikantní korelace mezi hladinami plazmatických metanefrinů a pooperačním vyšetřovacím intervalem, což bylo potvrzeno srovnáním jejich hladin v časném pooperačním období s kontrolními vyšetřeními po 6-12 měsících od operace (ukázal se pouze nesignifikantní pokles hladin plazmatických metanefrinů).

V nejdůležitější části naší práce jsme se zabývali rozsáhlým souborem 132 pacientů s pouze maligními FEO/PGL, s genetickým pozadím mutace v genu *SDHB* a u sporadických tumorů (ST), kde nebyla prokázána žádná z vyšetřovaných genových mutací. Zjistili jsme, že rozložení četnosti

tumorů s mutacemi v *SDHB* genu a ST je u dospělých pacientů přibližně stejné, u dětí však bylo zjištěno 5x více tumorů s mutacemi v *SDHB* genu než ST. Dospělí pacienti s *SDHB* mutacemi měli statisticky horší přežívání než pacienti s ST, u dětí s *SDHB* mutacemi bylo zjištěno delší přežívání než u dospělých s mutací v tomto genu. Zjistili jsme dále, že velikost a lokalizace tumoru v době diagnózy, jejich genetické pozadí a věk v době diagnózy byli důležitými proměnnými podílejícími se na chování těchto FEO/PGL. U více než 80% pacientů byly nádory větší než 4,5 cm, primárně metastatické FEO/PGL se prezentovaly spíše jako noradrenergní PGL a frekvence metastatických ST stoupala se zvyšujícím se věkem pacienta a zkracujícím se metastatickým intervalem ve srovnání s tumory s *SDHB* mutacemi. V naší studii pacienti s *SDHB* tumory měli častěji biochemicky němý fenotyp nebo kombinovaný noradrenergní a dopaminergní fenotyp, které se pojí s nižší diferenciací těchto tumorů ST častěji secernovaly A a/nebo MN než *SDHB* tumory, buď jako jediné nebo v kombinaci s NA/NMN či DA. Tato data prokázala, že není významnější diference mezi nadprodukcí typu katecholaminů či metanefrinů v souvislosti s věkem, metastatické tumory jsou podobně agresivní jak u dětí, tak u dospělých pacientů. Rovněž se neprokázaly rozdíly mezi biochemickými fenotypy v závislosti na pohlaví a věku. Většina pacientů, kteří zemřeli, měli plazmatický/ močový noradrenergní biochemický fenotyp nebo jejich tumory byly sekrečně němé, většina z nich trpěla PGL. Ze závěru práce vyplývá u dospělých pacientů lepší 5- a 10- leté přežívání se sporadickými tumory s náležitým následným sledováním; cca 75% pacientů s *SDHB* mutacemi a 86% pacientů s ST přežívá 10 let. Celkové přežití u pacientů s *SDHB* mutacemi ale bylo odlišné u dětí a dospělých, děti přežívají statisticky signifikantně déle než dospělí.

## **8. Závěr**

Výsledky naší práce mají svůj význam i pro klinickou praxi a podporují doporučení plynoucí pro ošetřující lékaře pacientů s FEO/PGL:

- 1) pečlivě sledovat a vyšetřovat pacienty, u kterých byl FEO/PGL diagnostikován v dětství, včetně vyšetření všech těchto pacientů na přítomnost mutace *SDHB* genu a jejich dlouhodobého sledování z důvodu možnosti vývoje metastáz desítky let po stanovení primární diagnózy
- 2) zvýšit frekvenci sledování pacientů s tumory většími než 4,5 cm a zvažovat celotělové zobrazovací vyšetření, obzvláště u pacientů s *SDHB* mutacemi, neboť 1/5 pacientů má již v době diagnózy metastatické onemocnění s metastázami hlavně v kostech
- 3) zvýšit frekvenci sledování starších pacientů
- 4) i přes přítomnost metastatického onemocnění ujistit pacienty, že při náležité terapii a následném sledování je 10- leté přežívání 75% resp. 86% pro pacienty s mutacemi v *SDHB* genu resp. pacienty s ST
- 5) následné sledování všech pacientů s FEO/PGL je velmi vhodné preferenčně u specialistů na onkologii i endokrinologii současně.

I přes všechna tato zjištění se předpokládá, že existují další důležité faktory krom *SDHB* mutací včetně dalších genetických a epigenetických mechanismů, které hrají zásadní roli ve vývoji metastáz, obzvláště u dospělých jedinců a které budou cílem dalších výzkumů.

## 9. Vlastní publikace autora

### 9.1 Publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertační práce

a) s IF

**Turková Hana, Petrák Ondřej, Widimský J jr., Zelinka Tomáš.** Pheochromocytoma and markers of oxidative stress; *Physiological Research*. 2013; 62(3): 331-335. (IF 1,56)

---

**Hana Turkova, Tamara Prodanov, Marek Maly, Victoria Martucci, Karen Adams, Jiri Widimsky Jr., Clara C. Chen, Alexander Ling, Electron Kebebew, Constantine Stratakis, Tito Fojo, Karel Pacak.** "Characteristics and outcomes of metastatic pheochromocytoma/paraganglioma: an NIH study". *Endocrine Practice*. 2016; 22(3): 302-314. (IF 2,486)

**T Zelinka, O Petrák, H Turková, R Holaj, B Strauch, M Kršek, A B Vránková, Z Musil, J Dušková, J Kubinyi, D Michalský, K Novák, J Widimský.** High incidence of cardiovascular complications in pheochromocytoma. *Hormone and Metabolic Research*. 2012; 44(5): 379-384. (IF 2,15)

**T Zelinka, O Petrák, B Hamplová, H Turková, P Waldauf, J Rosa, Z Šomlóová, R Holaj, B Štrauch, T Indra, M Kršek, A Brabcová Vránková, Z Musil, J Dušková, J Kubinyi, D Michalský, K Novák, J Widimský.** Biochemical Testing After Pheochromocytoma Removal: How Early? *Hormone and Metabolic Research*. 2015; 47(9): 1-4. (IF 2.04)

---

b) bez IF

**Zelinka T., Turková H., Widimský J.** Pheochromocytoma, *Onkologie*. 2009; 3: 343–347

**Zelinka T, Turková H, Musil Z, Widimský J jr.** Pheochromocytoma – tumor interesting also for cardiologists. *Cor Vasa*. 2011; 53: 454–460.

**Z Musil, A Vícha, T Zelinka, H Turková, T Labudová, M Kohoutová, K Pacák.** [Hereditary pheochromocytoma and paraganglioma]. *Klinická onkologie: časopis České a Slovenské onkologické společnosti*. 01/2012; 25(2): 21-26.

**Zelinka T, Turková H, Hamplová B, Widimský J.** Feochromocytom. *Postgraduální medicína: odborný časopis pro lékaře*. 2013; 15(7): 751-756.

---

### 9.2 Publikace *in extenso*, které nejsou podkladem disertační práce

a) s IF

**Musil Z., Puchmajerová A., Křepelová A., Vícha A., Panczak A., Widimský J., Turková H., Lisý J., Kohoutová M.** Paraganglioma duplicity in a 13-year old girl – novel *SDHB* gene mutation in the family? *Cancer Genet Cytogenet*. 2010; 197(2): 189-192. (IF 1,577)

**Petrák O, Zelinka T, Štrauch B, Rosa J, Šomlóova Z, Indra T, Turková H, et al.** Combination antihypertensive therapy in clinical practice. The analysis of 1254 consecutive patients with uncontrolled hypertension. *J Hum Hypertens*. 2016; 30(1): 35-39. (IF 2.69)

---



**Giubellino A, Bullova P, Nölting S, Turkova H, Powers JF, Liu Q, Guichard S, Tischler AS, Grossman AB, Pacak K.** Combined inhibition of mTORC1 and mTORC2 signaling pathways is a promising therapeutic option in inhibiting pheochromocytoma tumor growth: in vitro and in vivo studies in female athymic nude mice. *Endocrinology*. 2013; 154(2): 646-655 (IF 4,72)

**Uma Shankavaram; Stephanie M. J. Fliedner; Abdel G. Elkahloun; Jenifer J. Barb; Peter J. Munson; Thanh T. Huynh; Joey Matro; Hana Turkova; W. Marston Linehan; Henri J. Timmers; Arthur S. Tischler; James Powers; Ronald de Krijger; Bora E. Baysal; Martina Takacova; Silvia Pastorekova; David Gius; Hendrik Lehnert; Kevin Camphausen; Karel Pacak.** Genotype and Tumour Locus Determine Expression Signature of Pseudohypoxic Phaeochromocytomas and Paragangliomas. *Neoplasia*. 2013, 15(4): 435-447. (IF 5,4)

**Nielsen SR, Sumner AE, Miller BV 3rd, Turkova H, Klein S, Jensen MD.** Free fatty acid flux in African-American and Caucasian adults--effect of sex and race. *Obesity (Silver Spring)*. 2013; 21(9): 1836-1842. (IF 4,39)

#### b) bez IF

**Zelinka, T., Petrák, O., Štrauch, B., Rosa, J., Kršek, M., Turková, H., Šomlóová, Z., Michalský, D., Novák, K., Holaj, R., Widimský, J.** Kardiovaskulární komplikace u pacientů s feochromocytomem. *Cor Vasa*. 2010; 52(9): 576-577.

#### 9.3 Abstrakta v časopisech s IF

**Zelinka, T; Petrak, O; Turkova, H; Holaj, R; Strauch, B; Rosa, J; Skrha, J; Widimsky, J Jr.** Pheochromocytoma and Oxidative Stress. *Journal of Hypertension*. 2010; 28: 305. (IF 4,22)

#### 9.4 Prezentace a ocenění

14.12.2009: Institut Endokrinologie: **Pheochromocytoma and oxidative stress** – aktivní účast

10.5.2012: 13. studentská vědecká konference, Praha: **Klinické, genetické a biochemické charakteristiky a výsledky u pacientů s metastatickým feochromocytomem a paragangliomem** – oceněna mimořádnou cenou

4.-6.10.2012: XXIX. konference ČSH, XXI. konference PS Preventivní kardiologie ČKS, XVII. konference PS Srdeční selhání ČKS, Český Krumlov: **Klinické, genetické a biochemické charakteristiky a výsledky u pacientů s metastatickým feochromocytomem a paragangliomem** – aktivní účast

14.-17.6.2013: 23<sup>rd</sup> European meeting on hypertension and cardiovascular protection – Miláno, Itálie: **Clinical, genetic, and biochemical characteristic and outcomes of patients with metastatic pheochromocytoma and paraganglioma: the National institutes of health study** - aktivní účast

## 10. Seznam použité literatury

- Agarwal, A., Mehrotra, P., Jain, M. & al., e., 2010. Size of the tumor and pheochromocytoma of the adrenal gland scaled score (PASS): can they predict malignancy?. *World J Surg*, Volume 34, p. 3022–3028.
- Amar, L., Baudin, E., Burnichon, N. & al., e., 2007. Succinate dehydrogenase B gene mutations predict survival in patients with malignant pheochromocytomas or paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 92, p. 3822–3828.
- Amar, L., Bertherat, J., Baudin, E. & al., e., 2005. Genetic testing in pheochromocytoma or functional paraganglioma. *J Clin Oncol*, Volume 23, pp. 8812-8818.
- Ayala-Ramirez, M., Feng, L., Habra, M. & al., e., 2012. Clinical benefits of systemic chemotherapy for patients with metastatic pheochromocytomas or sympathetic extra-adrenal paragangliomas: insights from the largest single-institutional experience. *Cancer*, Volume 118, pp. 2804-2812.
- Ayala-Ramirez, M., Feng, L., Johnson, M. & al., e., 2011. Clinical risk factors for malignancy and overall survival in patients with pheochromocytomas and sympathetic paragangliomas: primary tumor size and primary tumor location as prognostic indicators. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 96, pp. 717-725.
- Benn, D. & Robinson, B., 2006. Genetic basis of phaeochromocytoma and paraganglioma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.*, Volume 95, pp. 435-450.
- Bergland, B., 1989. Pheochromocytoma presenting as shock. *Am J Emerg Med*, 7(1), pp. 44-48.
- Bittar, D., 1979. Innovar-induced hypertensive crises in patients with pheochromocytoma. *Anesthesiology*, 50(4), pp. 366-369.

Brouwers, F., Eisenhofer, G., Lenders, J. & Pacak, K., 2006. Emergencies caused by pheochromocytoma, neuroblastoma, or ganglioneuroma. *Endocrinol Metab Clin North Am*, Volume 35, pp. 699-724.

Brouwers, F., Eisenhofer, G., Tao, J. & al, e., 2006. High frequency of SDHB germline mutations in patients with malignant catecholamine-producing paragangliomas: implications for genetic testing. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 91, pp. 4505-4509.

Brouwers, F., Lenders, J., Eisenhofer, G. & Pacak, K., 2003. Pheochromocytoma as an endocrine emergency. *Rev Endocr Metab Disord*, Volume 4, pp. 121-128.

Brown, W., Barajas, L., Waisman, J. & al., e., 1972. Ultrastructural and biochemical correlates of adrenal and extra-adrenal pheochromocytoma. *Cancer*, 29(3), pp. 744-759.

Burnichon, N., Cascon, A., Schiavi, F. & al., e., 2012. MAX mutations cause hereditary and sporadic pheochromocytoma and paraganglioma. *Clin. Cancer Res.*, 18(10), p. 2828-2837.

Burnichon, N., Rohmer, V., Amar, L. & al, e., 2009. The succinate dehydrogenase genetic testing in a large prospective series of patients with paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(8), pp. 2817-2827.

Carr, N., Hulme, A., Sheron, N. & al., e., 1989. Intestinal ischaemia associated with phaeochromocytoma. *Postgrad Med J*, 65(766), pp. 594-596.

Cascon, A. et al., 2015. Whole-exome sequencing identifies MDH2 as a new familial paraganglioma gene. *J Natl Cancer Inst*, 107(5), pp. 1-5.

Castinetti, F., Qi, X., Walz, M. & al., e., 2014. Outcomes of adrenal-sparing surgery or total adrenalectomy in phaeochromocytoma associated with multiple endocrine neoplasia type 2: an international retrospective population-based study. *Lancet Oncol*, 15(6), pp. 648-655.

Castro, P., Greig, D., Perez, O. & al., e., 2003. Relation between oxidative stress, catecholamines, and impaired chronotropic response to exercise in patients with chronic heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, Volume 92, pp. 215-218.

De Jong, W., Eisenhofer, G., Post, W. & al., e., 2009. Dietary influences on plasma and urinary metanephrines: implications for diagnosis of catecholamine-producing tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(8), pp. 2841-2849.

de Senanayake, P., Denker, J., Bravo, E. & al., e., 1995. Production, characterisation, and expression of neuropeptide Y by human pheochromocytoma. *J Clin Invest*, 96(5), pp. 2503-2509.

DeLellis, R., 2004. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. *Lyon: IARC Press*.

DeLellis, R., 2004. *Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs*. Lyon, s.n.

DeLellis, R. & al, e., 2004. World Health Organization classification of tumours. Pathophysiology and genetics of tumours of endocrine organs. *IARC Press*.

Dinsdale, H., 1982. Hypertensive encephalopathy. *Stroke*, 13(5), pp. 717-719.

Đuračková, K., 2010. Some current insights into oxidative stress.. *Physiol Res*, Volume 59, pp. 459-469.

Eisenhofer, G., Bornstein, S., Brouwers, F. & al., e., 2004. Malignant pheochromocytoma: current status and initiatives for future progress. *Endocr Relat Cancer*, Volume 11, pp. 423-436.

Eisenhofer, G., Goldstein, D., Sullivan, P. & al., e., 2005. Biochemical and clinical manifestations of dopamine-producing paragangliomas: utility of plasma methoxytyramine. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 90, pp. 2068-2075.

Eisenhofer, G., Goldstein, D., Walther, M. & al., e., 2003. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: how to distinguish true- from false-positive test results. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 88, pp. 2656-2666.

Eisenhofer, G. et al., 2004b. Distinct gene expression profiles in norepinephrine- and epinephrine-producing hereditary and sporadic pheochromocytomas: activation of hypoxia-driven angiogenic pathways in von Hippel-Lindau syndrome. *Endocr Relat Cancer*, Volume 11, pp. 897-911.

Eisenhofer, G., Lenders, J., Goldstein, D. & al., e., 2005. Pheochromocytoma catecholamine phenotypes and prediction of tumor size and location by use of plasma free metanephrines. *Clin Chem*, Volume 51, pp. 735-744.

Eisenhofer, G., Lenders, J., Linehan, W. & al., e., 1999. Plasma normetanephrine and metanephrine for detecting pheochromocytoma in von Hippel-Lindau disease and multiple endocrine neoplasia type 2. *N Engl J Med*, Volume 340, pp. 1872-1879.

Eisenhofer, G., Lenders, J., Siegert, G. & al., e., 2012. Plasma methoxytyramine: a novel biomarker of metastatic pheochromocytoma and paraganglioma in relation to established risk factors of tumour size, location and SDHB mutation status. *Eur J Cancer*, Volume 48, pp. 1739-1749.

Eisenhofer, G., Lenders, J., Timmers, H. & al, e., 2011. Measurements of plasma methoxytyramine, normetanephrine, and metanephrine as discriminators of different hereditary forms of pheochromocytoma. *Clinical Chemistry*, 57(3), pp. 411-420.

Eisenhofer, G. et al., 2011. Catecholamine metabolomic and secretory phenotypes in phaeochromocytoma. *Endocrine-Related Cancer*, Volume 18, pp. 97-111.

Eisenhofer, G. & Peitzsch, M., 2014. Pheochromocytoma and paraganglioma. *Clin Chem*, 60(12), pp. 1486-1499.

Eisenhofer, G., Timmers, H., Lenders, J. & al., e., 2011. Age at diagnosis of pheochromocytoma differs according to catecholamine phenotype and tumor location. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 96, pp. 375-384.

Eisenhofer, G., Vocke, C., Elkahloun, A. & al., ., 2012. Genetic screening for von Hippel-Lindau gene mutations in nonsyndromic pheochromocytoma: Low prevalence and false-positives or misdiagnosis indicate a need for caution. *Horm. Metab. Res.*, 44(5), pp. 343-348.

Eisenhofer, G., Walther, M., Huynh, T. & al., e., 2001. Pheochromocytomas in von Hippel-Lindau syndrome and multiple endocrine neoplasia type 2 display distinct biochemical and clinical phenotypes. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 86, pp. 1999-2008.

Elder, E. e. a., 2005. Pheochromocytoma and functional paraganglioma syndrome: no longer the 10% tumor.. *J Surg Oncol*, Svazek 89, pp. 193-201.

Elder, E., Elder, G., Larsson, C. & al., e., 2005. Pheochromocytoma and functional paraganglioma syndrome: no longer the 10% tumor. *J Surg Oncol.*, Volume 89, pp. 193-201.

Erlic, Z. & Neumann, H., 2009. Familial pheochromocytoma. *Hormones*, Volume 8, pp. 29-38.

Faggiano, A., Ramundo, V., Circelli, L. & Colao, A., 2013. Hereditary neuroendocrine tumor syndromes. Chapter 1. p. 12.

Favier, J., Amar, L. & Gimenez-Roqueplo, A., 2015. Paraganglioma and phaeochromocytoma: from genetics to personalized medicine. *Endocrinology*, Volume 11, pp. 101-111.

Fitzpatrick, D. et al., 2004. *Neuroscience*. 3rd ed. USA: Sinauer Associates, Inc..

Fujiwara, M., Imachi, H., Murao, K. & al., e., 2009. Improvement in renal dysfunction and symptoms after laparoscopic adrenalectomy in a patient with pheochromocytoma complicated by renal dysfunction. *Endocrine*, 35(1), pp. 57-62.

- Galetta, F., Franzoni, F., Bernini, G. & al., e., 2010. Cardiovascular complications in patients with pheochromocytoma: a mini-review. *Biomed Pharmacother*, 64(7), pp. 505-509.
- Gimenez-Roqueplo, A., Dahia, P., Robledo, M. & al., e., 2012. An update on the genetics of paraganglioma, pheochromocytoma, and associated hereditary syndromes. *Horm Metab Res*, Volume 44, pp. 328-333.
- Graham, J., 1951. Pheochromocytoma and hypertension; an analysis of 207 cases. *Int Abstr Surg*, Volume 92, pp. 105-121.
- Holaj, R., Zelinka, T., Wichterle, D. & al., e., 2009. Increased carotid intima-media thickness in patients with pheochromocytoma in comparison to essential hypertension. *Journal of Human Hypertension*, Volume 23, pp. 350-358.
- Chatterjee, S., Chattopadhyay, S., Hope-Ross, M. & al., e., 2002. Hypertension and the eye: changing perspectives. *J Hum Hypertens*, 16(10), pp. 667-675.
- Ito, Y., Fuimoto, Y. & Obara, T., 1992. The role of epinephrine, norepinephrine, and dopamine in blood pressure disturbances in patients with pheochromocytoma. *World J Surg*, 16(4), pp. 759-763.
- John, H., Ziegler, W., Hauri, D. & al., e., 1999. Pheochromocytomas: can malignant potential be predicted?. *Urology*, Volume 53, pp. 679-683.
- Jochmanova, I., Zelinka, T., Widimsky Jr., J. & Pacak, K., 2014. HIF signaling pathway in pheochromocytoma and other neuroendocrine tumors. *Physiol Res*, 63(2), pp. S251-S262.
- Kantorovich, V. & Pacak, K., 2010. Pheochromocytoma and paraganglioma. *Prog Brain Res*, Volume 182, pp. 343-373.
- Kaplan, N. & Victor, R., 2009. *Kaplan's clinical hypertension*. 10 ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/ Lippincott Williams & Wilkins.
- Karagiannis, A. & al., e., 2007. Pheochromocytoma: an update on genetics and management. *Endocr Relat Cancer*, Volume 14, p. 935-956.
- Korevaar, T. & Grossman, A., 2011. Pheochromocytomas and paragangliomas assessment of malignant potential. *Endocrine*, Volume 40, pp. 354-365.
- Kwong, Y., Yu, Y., Lam, K. & al., e., 1987. CT appearance in hypertensive encephalopathy. *Neuroradiology*, 29(2), p. 215.
- La Batide-Alanore, A., Chatellier, G. & Plouin, P., 2003. Diabetes as a marker of pheochromocytoma in hypertensive patients. *J Hypertens*, Volume 21, pp. 1703-1707.
- Lebuffe, G., Dosseh, E., Tek, G. & al., e., 2005. The effect of calcium channel blockers on outcome following the surgical treatment of pheochromocytomas and paragangliomas. *Anaesthesia*, Volume 60, pp. 439-444.
- Lefebvre, M. & Foulkes, W., 2014. Pheochromocytoma and paraganglioma syndromes: genetics and management update. *Curr Oncol*, 21(1), pp. e8-e17.
- Lehnert, H., 2004. Pheochromocytoma. Pathophysiology and clinical management. *Basel (Switzerland): Karger*, Volume 31.
- Lenders, J., Duh, Q., Eisenhofer, G. & al., e., 2014. Pheochromocytoma and paraganglioma: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 99(6), pp. 1915-1942.
- Lenders, J., Pacak, K., Walther, M. & al., e., 2002. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma. Which is the best?. *JAMA*, Volume 287, pp. 1427-1434.
- Letizia, C., De Toma, G., Caliumi, C. & al., e., 2001. Plasma adrenomedullin concentrations in patients with adrenal pheochromocytoma. *Horm Metab Res*, 33(05), pp. 290-294.
- Letouze, E. et al., 2013. SDH mutations establish a hypermethylator phenotype in paraganglioma. *Cancer Cell*, Volume 23, pp. 739-752.
- Lin, P., Hsu, J., Chung, C. & al., e., 2007. Pheochromocytoma underlying hypertension, stroke, and dilated cardiomyopathy. *Tex Heart Inst J*, 34(2), pp. 244-246.
- Lips, C. et al., 2006. Familial paragangliomas. *Hered Cancer Clin Pract*, Volume 4, pp. 169-176.
- Loriot, C., Burnichon, N., Gadessaud, N. & al., e., 2012. Epithelial to mesenchymal transition is activated in metastatic pheochromocytomas and paragangliomas caused by SDHB gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 97, p. E954-962.
- Magyar, M., Szikszai, Z., Balla, J. & al., e., 2003. Early-onset carotid atherosclerosis is associated with increased intima-media thickness and elevated serum levels of inflammatory markers. *Stroke*, Volume 34, pp. 58-63.
- Majic, T. & Aiyagari, V., 2008. Cerebrovascular manifestations of pheochromocytoma and the implications of a missed diagnosis. *Neurocrit Care*, 9(3), pp. 378-381.
- Makita, S., Nakamura, M. & Hiramori, K., 2005. The association of C-reactive protein levels with carotid intima-media complex thickness and plaque formation in the general population. *Stroke*, Volume 36, pp. 2138-2142.
- Manger, W., 2006. An overview of pheochromocytoma: history, current concepts, vagaries, and diagnostic challenges. *Ann NY Acad Sci*, Volume 1073, pp. 1-20.
- Manger, W. & Eisenhofer, G., 2004. Pheochromocytoma: Diagnosis and management update. *Current Hypertension Reports*, 6(6), pp. 477-484.
- Manger, W. & Gifford, R., 1996. *Clinical and experimental pheochromocytoma*. second ed. Cambridge: Blackwell Science.
- Marek, J., 2004. *Endokrinní hypertenze*. Praha: Galén.
- Martins, R. & Bugalho, M., 2014. Paragangliomas/ Pheochromocytomas: Clinically oriented testing. *International Journal of Endocrinology*, pp. 1-14.
- Musil, Z. et al., 2012. Hereditární feochromocytom a paragangliom. *Klin Onkol*, Volume 25 (Suppl), pp. S21-S26.
- Neumann, H. et al., 2002. Germline mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. *N Engl J Med*, Volume 346, pp. 1459-1466.
- Neumann, H., Pawlu, C., Peczkowska, M. & al., e., 2004. Distinct clinical features of paraganglioma syndrome associated with SDHB and SDHD and gene mutations. *Journal of the American Medical Association*, 292(8), pp. 943-951.
- Newell, K., Prinz, R., Pickleman, J. & al., e., 1988. Pheochromocytoma multisystem crisis a surgical emergency. *Arch Surg*, 123(8), pp. 956-959.
- Nielsen, F., Mikkelsen, B., Nielsen, J. & al., e., 1997. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*, Volume 43, pp. 1209-1214.
- Nijhoff, M., Dekkers, O., Vleming, L. & al., e., 2009. ACTH-producing pheochromocytoma: Clinical considerations and concise review of the literature. *European Journal of Internal Medicine*, 20(7), pp. 682-685.
- O'Riordain, D., Young, W., Grant, C. & al., e., 1996. Clinical spectrum and outcome of functional extraadrenal paraganglioma. *World J Surg*, Volume 20, p. 916-922.
- Oishi, S., Sasaki, M., Sato, T. & al., e., 1994. Elevated immunoreactive endothelin levels in patients with pheochromocytoma. *American Journal of Hypertension*, 7(8), pp. 717-722.

- Olson, S., Deal, L. & Piesman, M., 2004. Epinephrine-secreting pheochromocytoma presenting with cardiogenic shock and profound hypocalcemia. *Ann Intern Med*, 140(10), pp. 849-851.
- Pacak, K., 2007. Preoperative management of the pheochromocytoma patient. *J Clin Endocrinol Metab*, Volume 92, pp. 4069-4079.
- Pacak, K., 2008. *Feochromocytom*. Prague: Galen.
- Pacak, K., Eisenhofer, G., Ahlman, H. & al., e., 2007. Pheochromocytoma: recommendations for clinical practice from the First International Symposium. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, Volume 3, p. 92-102.
- Pacak, K., Keiser, H. & Eisenhofer, G., 2005. Pheochromocytoma. In: *Textbook of endocrinology*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, pp. 2501-2534.
- Petkou, D., Petropoulos, I., Kordelou, A. & al., e., 2008. Severe bilateral hypertensive retinopathy and optic neuropathy in a patient with pheochromocytoma. *Klin Monbl Augenheilkd*, 227(5), pp. 500-503.
- Proye, C., Fossati, P., Fontaine, P. & al, e., 1986. Dopamine-secreting pheochromocytoma: an unrecognized entity? Classification of pheochromocytomas according to their type of secretion. *Surgery*, 100(6), pp. 1154-1162.
- Radtke, W., Kazmier, F., Rutherford, B. & al., e., 1975. Cardiovascular complications of pheochromocytoma crisis. *Am J Cardiol*, 35(5), pp. 701-705.
- Salehi, A., Legome, E., K, E. & al., e., 1996. Pheochromocytoma and bowel ischemia. *J Emerg Med*, 15(1), pp. 35-38.
- Sano, T., Saito, H., Inaba, H. & al, e., 1983. Immunoreactive somatostatin and vasoactive intestinal polypeptide in adrenal pheochromocytoma and immunochemical and ultrastructural study. *Cancer*, 52(2), pp. 282-289.
- Shemin, D., Cohn, P. & Zipin, S., 1990. Pheochromocytoma presenting as rhabdomyolysis and acute myoglobinuric renal failure. *Arch Intern Med*, 150(11), pp. 2384-2385.
- Schubert, H., 1998. Ocular manifestations of systemic hypertension. *Curr Opin Ophthalmol*, 9(6), pp. 69-72.
- Turkova, H., Petrak, O., Skrha, J. & al., e., 2013. Pheochromocytoma and markers of oxidative stress. *Physiol Res*, Volume 62, pp. 331-335.
- van Duinen, N. & al., e., 2010. Increased urinary excretion of 3-methoxytyramine in patients with head and neck paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(1), pp. 209-214.
- Welander, J., 2011. Genetics and clinical characteristics of hereditary pheochromocytoma and paraganglioma. *Endocrine Related Cancer*, Volume 18, pp. 253-276.
- Welander, J., 2015. Linköping(Sweden): LiU-tryck.
- Welander, J., Soderkvist, P. & Gimm, O., 2011. Genetics and clinical characteristics of hereditary pheochromocytomas and paragangliomas. *Endocr Relat Cancer*, Volume 18, pp. R253-276.
- Widimsky Jr., J., Cifkova, R., Filipovsky, J. & al., e., 2008. *Hypertenze*. 3rd ed. Praha: Triton.
- Zelinka, T., 2016. Feochromocytom a paragangliom. In: *Neuroendokrinní nádory*. Praha(Czech Republic): Maxdorf s.r.o., p. 370.
- Zelinka, T., Eisenhofer, G. & Pacak, K., 2007. Pheochromocytoma as a catecholamine producing tumor: implications for clinical practise. *Stress*, 10(2), pp. 195-203.
- Zelinka, T., Musil, Z., Duskova, J. & al., e., 2011. Metastatic pheochromocytoma: does the size and age matter?. *Eur J Clin Invest*, Svazek 41, pp. 1121-1128.
- Zelinka, T., Petrak, O., Hamplova, B. & al., e., 2015. Biochemical testing after pheochromocytoma removal: How early?. *Horm Metab Res*, Volume 47, pp. 633-636.
- Zelinka, T., Petrak, O., Strauch, B. & al., e., 2007. Elevated inflammation markers in pheochromocytoma compared to other forms of hypertension. *Neuroimmunomodulation*, Volume 14, pp. 57-64.
- Zelinka, T., Petrak, O., Turkova, H. & al., e., 2012. High incidence of cardiovascular complications in pheochromocytoma. *Horm Metab Res*, Volume 44, pp. 379-384.
- Zelinka, T. & Widimsky Jr., J., 2010. Příprava pacienta před operací feochromocytomu. *Urologie pro praxi*, 11(2), pp. 86-89.
- Zelinka, T. & Widimsky Jr., J., 2016. Jak postupovat při podezření na feochromocytom/ paragangliom?. *Hypertenze a kardiovaskulární prevence*, pp. 6-8.