

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

LARA PEZDIR

DIPLOMSKA NALOGA
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

LARA PEZDIR

**KLINIČNI POMEN DOLOČANJA KATEHOLAMINOV PRI
FEOKROMOCITOMU**

**CLINICAL SIGNIFICANCE OF DETERMINING
CATECHOLAMINES IN PHEOCHROMOCYTOMA**

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo sem opravljala na Inštitutu za klinično kemijo in biokemijo v Kliničnem centru v Ljubljani pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biok.

Zahvaljujem se prof. dr. Jošku Osredkarju, ker mi je omogočil izvedbo diplomske naloge in za pomoč pri pisanju.

Zahvala gre tudi moji mami Vidi in sestri Maji za potrpljenje in moralno podporo med študijem in pri izdelavi diplomske naloge. Prav tako se zahvaljujem vsem ostalim, ki so mi z nasveti pomagali pri izdelavi diplomske naloge.

Izjava

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

KAZALO

1. UVOD.....	1
1.1 ENDOKRINI SISTEM.....	1
1.2 NADLEDVIČNA ŽLEZA.....	2
1.3 MOTNJE V DELOVANJU NADLEDVIČNIH ŽLEZ.....	3
1.3.1 TUMORJI SKORJE NADLEDVIČNE ŽLEZE.....	4
1.3.2 TUMORJI SREDICE NADLEDVIČNE ŽLEZE.....	5
1.4 KATEHOLAMINI (<i>hormoni sredice nadledvične žleze</i>).....	6
1.4.1 SPLOŠNO.....	6
1.4.2 OSNOVNA STRUKTURA ADRENALINA IN NORADRENALINA.....	7
1.4.3 BIOSINTEZA ADRENALINA IN NORADRENALINA.....	9
1.4.4 URAVNAVANJE IZLOČANJA.....	10
1.4.5 METABOLIZEM ADRENALINA IN NORADRENALINA.....	12
1.4.6 UČINKI ADRENALINA IN NORADRENALINA (delovanje na periferna tkiva).....	14
1.4.7 POMEN DOLOČANJA ADRENALINA IN NORADRENALINA.....	19
1.4.8 DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA PRI FEOKROMOCITOMU.....	20
1.5 FEOKROMOCITOM.....	23
1.5.1 DEFINICIJA.....	23
1.5.2 KLINIČNA SLIKA IN SIMPTOMI.....	25
1.5.3 BIOKEMIČNI KAZALCI.....	26
1.5.4 DIAGNOZA.....	27
1.5.5 LOKALIZACIJA FEOKROMOCITOMA.....	32
1.5.6 ZDRAVLJENJE.....	33
1.5.7 POTEK IN PROGNOZA.....	36
2. NAMEN DELA.....	37
3. EKSPERIMENTALNI DEL.....	38
3.1 OPIS SKUPINE PACIENTOV.....	38
3.2 OPIS ZBIRANJA VZORCEV.....	38
3.3 METODE IN MATERIALI ZA DOLOČANJE KREATININA.....	39
3.3.1 DOLOČANJE KREATININA V URINU.....	39
3.3.1.1 PRINCIP JAFFEJEVE REAKCIJE.....	39
3.3.2 INSTRUMENTI IN MATERIALI.....	40
3.3.2.1 REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE.....	40
3.3.2.2 KALIBRACIJA.....	40
3.3.2.3 PODOJANJE REZULTATOV.....	41
3.3.2.4 VZDRŽEVANJE SISTEMA.....	41
3.3.2.5 VALIDACIJA IN ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI.....	41
3.4 METODE IN MATERIALI ZA DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA.....	42
3.4.1 DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA S HPLC.....	42
3.4.1.1 PRINCIP METODE HPLC.....	42
3.4.1.2 PRINCIP ELEKTROKEMIJSKEGA DETEKTORJA ZA DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA.....	43
3.4.2 INSTRUMENTI IN MATERIALI.....	44
3.4.2.1 REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE.....	44
3.4.2.2 KALIBRACIJA.....	45

3.4.2.3	PRIPRAVA KONTROL ZA HPLC	45
3.4.2.4	DELOVNI POSTOPEK.....	46
3.4.2.5	PODAJANJE REZULTATOV	47
3.4.2.6	VZDRŽEVANJE SISTEMA	48
3.4.2.7	VALIDACIJA IN ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI	48
4.	REZULTATI	49
4.1	REZULTATI MERITEV ADRENALINA IN NORADRENALINA V 24- URNEM URINU S HPLC METODO	49
4.2	OBDELAVA REZULTATOV.....	49
4.2.1	OBDELAVA REZULTATOV PACIENTOV, KI SO BILI OBRAVNAVANI NA KO ZA ENDOKRINOLOGIJO in NA KO ZA HIPERTENZIJO	50
4.2.2	OBDELAVA REZULTATOV PACIENTOV, KI SO BILI OBRAVNAVANI NA KO ZA ENDOKRINOLOGIJO	53
4.2.3	OBDELAVA REZULTATOV PACIENTOV, KI SO BILI OBRAVNAVANI NA KO ZA HIPERTENZIJO	55
4.2.4	OBDELAVA REZULTATOV PRI BOLNIH PACIENTIH S KO ZA ENDOKRINOLOGIJO IN S KO ZA HIPERTENZIJO	57
4.2.5	SPECIFIČNOST IN OBČUTLJIVOST METODE ZA DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA	61
5.	RAZPRAVA.....	65
6.	SKLEP	74
7.	LITERATURA	76
8.	PRILOGA.....	1

KAZALO SLIK

Slika 1: Pomembnejše endokrine žleze	2
Slika 2: Nadledvična žleza	3
Slika 3: Osnovna struktura adrenalina in noradrenalina.....	7
Slika 4: Struktura adrenalina in noradrenalina	8
Slika 5: Biosinteza adrenalina in noradrenalina	9
Slika 6: Metabolizem adrenalina in noradrenalina	13
Slika 7: Oksidacija kateholnega obroča	22
Slika 8: Leva stran nadledvične žleze je prizadeta s heterogenim tumorjem	33
Slika 9: Struktura fenoksibenzamina.....	34
Slika 10: Aparat Dimension® Xpand	40
Slika 11: HPLC sistem Surveyor proizvajalca Thermo Finnigan	44

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Adrenergični receptorji: prisotnost v organih in odgovori.....	16
Preglednica II: Delovanje adrenalina in noradrenalina na organe in presnovne procese	18
Preglednica III: Laboratorijske vrednosti adrenalina in noradrenalina	22
Preglednica IV: Laboratorijske vrednosti metanefrina in normetanefrina	23
Preglednica V: Občutljivost in specifičnost biokemijskih testov	27
Preglednica VI: Občutljivost in specifičnost določanja adrenalina in noradrenalina ter metanefrina in normetanefrina v 24-urnem urinu.....	29
Preglednica VII: Učinkovine, ki motijo določanje adrenalina, noradrenalina, metanefrina in normetanefrina	31
Preglednica VIII: Prikaz izračunane mediane adrenalina in noradrenalina pri zdravih in bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na obeh oddelkih	51
Preglednica IX: Prikaz testa normalnosti za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti, ki so bili obravnavani na obeh oddelkih.....	52
Preglednica X: Mann-Whitney test za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti, ki so bili obravnavani na obeh oddelkih	52
Preglednica XI: Prikaz izračunane mediane adrenalina in noradrenalina pri zdravih in bolnih pacientih s KO za endokrinologijo	53
Preglednica XII: Prikaz testa normalnosti za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti s KO za endokrinologijo.....	54
Preglednica XIII: Mann-Whitney test za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti s KO za endokrinologijo	55
Preglednica XIV: Prikaz izračunane mediane adrenalina in noradrenalina pri zdravih in bolnih pacientih s KO za hipertenzijo	55
Preglednica XV: Prikaz testa normalnosti za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti s KO za hipertenzijo	56
Preglednica XVI: Mann-Whitney test za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti s KO za hipertenzijo	57
Preglednica XVII: Prikaz obravnavanih bolnih pacientov	58
Preglednica XVIII: Pogostost normalnih in povišanih vrednosti adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih.....	59

Preglednica XIX: Prikaz izračunane mediane adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih s KO za endokrinologijo in s KO za hipertenzijo	59
Preglednica XX: Prikaz testa normalnosti za adrenalin in noradrenalin pri bolnih pacientih s KO za endokrinologijo in s KO za hipertenzijo.....	60
Preglednica XXI: Mann-Whitney test za adrenalin in noradrenalin pri bolnih pacientih s KO za endokrinologijo in s KO za hipertenzijo	61
Preglednica XXII: Izračun občutljivosti in specifičnosti za adrenalin	63
Preglednica XXIII: Izračun občutljivosti in specifičnosti za noradrenalin	63

POVZETEK

Feokromocitom je redek tumor kromafinih celic sredice nadledvične žleze, ki izloča čezmerne količine adrenalina in noradrenalina, ki spadata med kateholamine. Kateholamini so hormoni sredice nadledvične žleze, ki povzročijo zvišanje krvnega tlaka in vrsto drugih bolezenskih znakov. Značilna klinična slika feokromocitoma je kombinacija hipertenzije, glavobola, palpitacij, potenja in bledice. Pravilna diagnoza je izjemno pomembna, saj je hipertenzija lahko ustrezno regulirana, če jo pravočasno odkrijemo. V letu 2010 smo na *Kliničnem oddelku za endokrinologijo* in na *kliničnem oddelku za hipertenzijo v Kliničnem centru v Ljubljani*, zbrali podatke o 421 pacientih, ki smo jim izmerili koncentracijo adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu. Koncentracijo adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu smo določali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti z elektrokemijskim detektorjem, ki je ena izmed najpomembnejših metod za kvantitativno določanje adrenalina in noradrenalina. Diagnoza feokromocitoma iz laboratorijskega vidika je bila potrjena pri 32 pacientih (**tj. bolni pacienti**) (19 pacientov je bilo s *kliničnega oddelka za endokrinologijo* in 13 pacientov s *kliničnega oddelka za hipertenzijo*), kar predstavlja 7,6 %. 389 pacientov pa ni imelo potrjene diagnoze feokromocitoma (**tj. zdravi pacienti**). Skupino pacientov smo razdelili na skupino zdravih in bolnih pacientov. S statističnimi metodami smo primerjali rezultate meritev adrenalina in noradrenalina pri zdravih in bolnih pacientih. Bolni pacienti so imeli statistično značilno višje vrednosti adrenalina in noradrenalina. Občutljivost določanja adrenalina je bila 28,1 % in specifičnost 100 %, medtem ko je bila občutljivost noradrenalina 31,3 % in specifičnost 99,2 %. Preučevali smo, ali so izmerjene vrednosti adrenalina in noradrenalina statistično značilno višje pri bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na *kliničnem oddelku za endokrinologijo*, v primerjavi s *kliničnim oddelkom za hipertenzijo*. Na *kliničnem oddelku za endokrinologijo* smo imeli paciente, ki jim je bil feokromocitom na novo odkrit, medtem ko smo imeli na *kliničnem oddelku za hipertenzijo* paciente, ki so že bili vključeni v ustrezno predoperativno pripravo na kirurško odstranitev feokromocitoma. Po pričakovanju smo določili večjo pogostost prisotnosti povišanih vrednosti adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih s *kliničnega oddelka za endokrinologijo*, vendar pri izračunu median za adrenalin in noradrenalin ni bilo očitnih razlik med oddelkoma. Tudi s statističnim testom smo ugotovili, da med *kliničnim oddelkom za endokrinologijo* in *kliničnim oddelkom za hipertenzijo* NI statistično značilnih razlik v vrednosti adrenalina in noradrenalina, izmerjenega v vzorcu urina pri bolnih pacientih.

ABSTRACT

Pheochromocytoma is a rare cancer of chromaffin cells of the adrenal gland centre, which secretes excessive amounts of adrenalin and noradrenalin, which are among the catecholamines. Catecholamines are hormones of the adrenal gland centre, which cause increasing blood pressure and lots of other symptoms. The typical clinical picture of pheochromocytoma is a combination of hypertension, headache, palpitations, sweating and paleness. The right diagnosis is extremely important, because hypertension can be regulated, when detected pheochromocytoma in time. In the year 2010 we collected data on 421 patients at the *department for endocrinology* and the *department for hypertension in University Medical Centre Ljubljana*, which we measured the concentration of adrenalin and noradrenalin in their 24-hours urine. We determined the concentration of adrenalin and noradrenalin in the 24-hours urine with a high definition fluid chromatography with an electrochemical detector, which is one of the most important methods for quantitative determination of adrenalin and noradrenalin. The pheochromocytoma diagnosis from the laboratory point of view was confirmed in 32 patients (ie. **sick patients**) (19 patients from the *department for endocrinology* and 13 from the *department for hypertension*), which represents 7,6 %. 389 patients did not have a confirmed diagnosis of pheochromocytoma (ie. **healthy patients**). The patient group was then divided into healthy and sick patients groups. With statistical methods we compared results of adrenalin and noradrenalin measures at healthy and sick patients. Sick patients had statistically significant higher values of adrenalin and noradrenalin. The sensitivity of adrenalin determination was 28,1 % and the specific 100 %, while the sensitivity of noradrenalin determination was 31,3 % and the specific 99,2 %. We analyzed if the measured values of adrenalin and noradrenalin are statistically significantly higher in sick patients, treated in the *clinical department for endocrinology* in comparison to those in the *clinical department for hypertension*. In the *clinical department for endocrinology* we had patients with a newly discovered pheochromocytoma, while in the *clinical department for hypertension* we had patients, which were already under preoperative preparations for a surgical removal of the pheochromocytoma. Like expected we defined a higher attendance frequency of increased adrenalin and noradrenalin values in sick patients from the *clinical department for endocrinology*, whereas the calculation of median values for adrenalin and noradrenalin did not show significant differences between the departments. Even with the statistical test we found out, that there are NO statistically significant differences between adrenalin and noradrenalin values, measured in a urine sample in sick patients in the *clinical department for endocrinology* and the *clinical department for hypertension*.

SEZNAM OKRAJŠAV IN KRATIC

- AD** – aldehydna dehidrogenaza
AR – aldehydna reduktaza
ATP – adenzin trifosfat
cAMP – ciklični adenzin monofosfat
COMT – katehol-O-metil-transferaza
CT – računalniška tomografija
CŽS – centralni živčni sistem
DAG – diacil glicerol
df – stopinje prostosti
DHMA - 3,4-dihidroksi mandljeva kislina
DHPG - 3,4-dihidroksifenilglikol
DOPGAL - 3,4-dihidroksifenilglikolaldehid
ECD – elektrokemijski detektor
EDTA – etilendiaminotetraocetna kislina
Gi – inhibitorna $G\alpha$ podenota
GIT – gastrointestinalni trakt
Gs – stimulatorna $G\alpha$ podenota
HPLC – tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
IP₃ – inositol trifosfat
is – interni standard
KO – klinični oddelek
L-DOPA – L-dihidroksifenilalanin
MAO – monoamino oksidaza
MAO-A – monoamino oksidaza tipa A
MAO-B - monoamino oksidaza tipa B
MEN – multipla endokrina neoplazija
MHPG - 3-metoksi-4-hidroksi fenilglikol
MRI – slikanje z magnetno resonanco
MVS – minutni volumen srca
PET – pozitronska emisijska tomografija
PIP₂ - fosfatidilinozitol 4,5-bifosfat

PNMT – N-metil transferaza

s – stabilizacijski reagent

Sig. - signifikanca

SDHB – sukcinat dehidrogenaza tipa B

TCA – triciklični antidepresiv

VMA – vanilin mandljeva kislina

¹³¹I-MIBG – scintigrafija z označenim meta-jodo-benzil gvanidinom

1. UVOD

1.1 ENDOKRINI SISTEM

Endokrini sistem sestavlja skupina organov (žleze z notranjim izločanjem), ki tvorijo hormone s pomočjo katerih naš organizem nadzoruje fiziološka dogajanja, potrebna za vzdrževanje homeostaze. Endokrini sistem vsebuje enote za proizvodnjo prenašalcev signalov (endokrine celice in endokrine nevrone), prenašalce signalov (kemične glasnike – hormone) ter prejemnike (celice različnih tkiv, ki vsebujejo ustrezne receptorje) (1). Najpomembnejši organi endokrinega sistema so hipotalamus, hipofiza, ščitnica, obščitnice, otočki v trebušni slinavki, nadledvični žlezi, modi in jajčnika. Hipotalamus sprošča številne hormone, ki spodbujajo ali zavirajo sproščanje hipofiznih hormonov. Hipofizo imenujemo tudi nadrejena žleza, saj usmerja delovanje mnogih drugih endokrinih žlez.

Tako žleze z notranjim izločanjem, ki jim pravimo endokrine žleze, kot tudi številni organi, ki niso del endokrinega sistema, izločajo hormone ali hormonom podobne snovi (2). To so kemični medcelični glasniki, ki uravnavajo delovanje sosednjih ali oddaljenih celic (3). Po krvi potujejo do celic, kjer povzročijo značilen učinek. Njihova značilnost je, da imajo že v majhni količini velik učinek. Vežejo se na receptorje, ki so na površini ali v notranjosti. Delovanje celice se pod vplivom vezanega hormona pospeši, upočasni ali kako drugače spremeni (2). Hormoni se tvorijo v endokrinih celicah, ki se lahko združujejo v žleze ali pa so razpršene po različnih tkivih (1). Nadzorujejo telesno rast in razvoj, reprodukcijo in spolne lastnosti ter vplivajo na koncentracijo soli in glukoze v krvi (2).

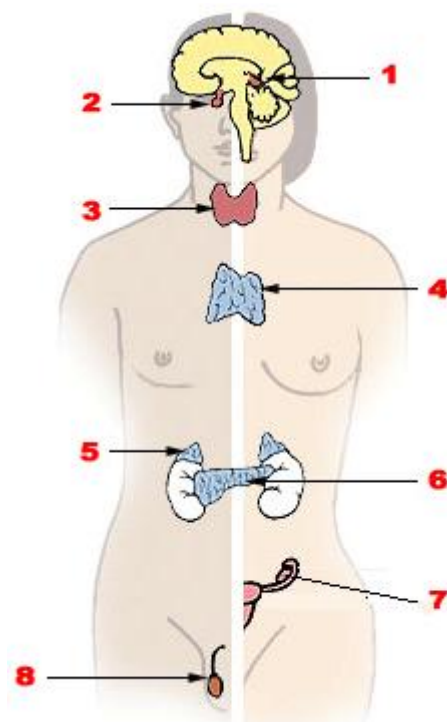
Hormone glede na mesto nastanka in način delovanja delimo v štiri skupine:

- nevrosekrecijski,
- žlezni,
- zunajžlezni in
- mediatorji.

Po kemijski zgradbi pa jih delimo na:

- steroidne (aldosteron, kortizol, estradiol, progesteron, testosteron ...),
- aminokislinske hormone in amine (adrenalin, noradrenalin, tiroksin, trijodotironin),

- peptidne (adrenokortikotropni hormon, angiotenzin II, holecistokinin, eritropoetin, gastrin, inzulin, somatostatin, oksitocin ...) in
- proteinske (folikle stimulirajoči hormon, luteotropni hormon ...) (3).



Slika 1: Pomembnejše endokrine žleze (moški na levi, ženske na desni strani) 1. čušerika, 2. hipofiza, 3. ščitnica, 4. priželjc, 5. nadledvična žleza, 6. trebušna slinavka, 7. jajčnik, 8. testis (4)

1.2 NADLEDVIČNA ŽLEZA

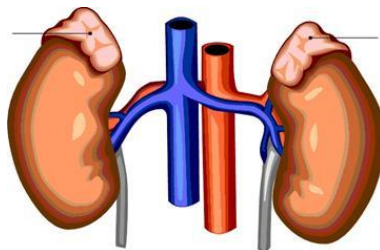
Nadledvični žlezi sta parni organ in ležita ekstraperitonealno nad zgornjima deloma ledvic v višini enajstega prsnega vretenca do prvega ledvenega vretenca. Vsaka žleza tehta v povprečju od 4 do 5 g, sestavljena pa je iz skorje (lat. cortex) mezenhimalnega izvora in sredice (lat. medulle) nevroektodermalnega izvora.

Skorja predstavlja 90 % žlezne mase in je prostor sinteze steroidnih hormonov iz holesterola. Sestavljajo jo **glomerulozna cona**, kjer nastajajo mineralokortikoidi, ter **prepletajoči se fascikularna in retikularna cona**, ki sta prostor nastajanja glukokortikoidov in spolnih hormonov.

Sredica nadledvične žleze pa sintetizira in izloča adrenalin, noradrenalin in nekatere vazoaktivne amine.

Nadledvična žleza glede na svojo velikost spada med najbolj prekrvljene organe. Sredica nadledvične žleze je središče žleze, obdane s skorjo. Je del nevroendokrinega sistema. Vsebuje dve vrsti parenhimskih celic: **kromafine celice**, ki tvorijo **kateholamina adrenalin in noradrenalin**, ter ganglijske celice (simpatični sistem), ki so razpršene po tkivu sredice. Izločanje adrenalina in noradrenalina nadzorujejo preganglionarni (holinergični) simpatični nevroni.

Kromafine celice so urejene v gnezda in stebričke, celična jedra so velika in blede obarvana. Prisotna je bogata kapilarna mreža. Zaradi vsebnosti kateholaminov se adrenalna sredica intenzivno rjavo obarva, če je izpostavljena zraku ali močnim oksidirajočim sredstvom, kot je kalijev dikromat. Ob oksidaciji aminov se namreč tvori rjav pigment. To je tudi osnova za ime- kromafine celice. Celice nadledvične sredice sintetizirajo in hranijo svoje peptidne hormone ter jih sproščajo zgolj v majhnih količinah. Ob stresu pa se ti hormoni pod vplivom avtonomnega živčevja izločajo v velikih količinah (5).



Slika 2: Nadledvična žleza (5)

1.3 MOTNJE V DELOVANJU NADLEDVIČNIH ŽLEZ

Notranji del žleze (sredica) izloča **adrenalin in noradrenalin**. Delovanje obeh je podobno delovanju simpatičnega živčnega sistema. Z izločanjem adrenalina in noradrenalina nadledvična žleza regulira odgovor organizma na stres.

Zunanji del (skorja) izloča več različnih hormonov, npr.: kortikosteroide, androgene (moški spolni hormoni), glukokortikoide (uravnavajo metabolizem ogljikovih hidratov) in mineralokortikoide, ki uravnavajo krvni tlak ter raven soli in kalija v telesu.

Če je delovanje endokrinih žlez moteno, se v kri sprošča premalo ali preveč hormonov. Raven vsakega hormona je uravnavana v zelo ozkih mejah in že najmanjši odstop je za telo odločilen. Nadledvične žleze izločajo več hormonov, ki med seboj delujejo po principu povratne zanke. Hipotalamus tvori kortikotropin sproščujoči hormon, ki spodbuja izločanje kortikotropina iz hipofize, slednji pa vpliva na izločanje kortikosteroidov iz nadledvičnih žlez. Če hipofiza ali hipotalamus ne izločata dovolj hormonov, lahko nadledvični žlezi tudi prenehata delovati. Zaradi zmanjšane ali pretiranega izločanja hormonov nadledvičnih žlez lahko pride do resnega obolenja. Tumorji osrednjega živčevja so relativno redki, predstavljajo le 2 % vseh tumorjev pri odraslih (2, 3).

1.3.1 TUMORJI SKORJE NADLEDVIČNE ŽLEZE

Pri tumorjih skorje nadledvične žleze je vzrok obolenja nepoznan, prevalenca obolenja ženskega spola pa je izrazitejša kot pri tumorjih sredice nadledvične žleze. Tumorji so lahko:

- **adenomi**, ki jih pogosto najdemo pri Cushingovem sindromu. Delimo jih na hormonsko aktivne in na hormonsko neaktivne;
- **karcinomi** so običajno veliki tumorji, 4 do 15 cm v premeru. Lahko predirajo kapsulo in se širijo v bližnja tkiva. So zelo agresivni, pogosto metastazirajo v pljuča, jetra in možgane.

Zgodnji znaki bolezni so odvisni predvsem od vrste tumorja, ali je tumor hormonsko aktiven (okoli 50 %) ali ne, od vrste hormonske aktivnosti ter od razširjenosti bolezni. *Hormonsko neaktivne tumorje* običajno najdemo pri odraslih, ki so izgubljali na teži, imajo subfebrilno temperaturo (37–37,5 °C) in ledveno bolečino. Ti tumorji so običajno pozno odkriti, ker nastopijo bolečine, ko je tumor že velik. Prvi znak bolezni so lahko tudi simptomi, ki jih povzročajo metastaze v pljučih, jetrih ali možganih.

Hormonsko aktivni tumorji skorje nadledvične žleze izločajo kortikosteroide vključno s kortizolom, aldosteronom, androgeni in estrogeni, zato lahko povzročajo (6):

- virilizacijo,
- ginekomastijo pri moških,
- prezgodnjo puberteto,

- Cushingov sindrom z netolerantnostjo do glukoze, hipokaliemijo in blažjo hipertenzijo,
- Connov sindrom (primarni aldosteronizem) s hipertenzijo, hipokaliemijo in znižanjem renina v krvi.

1.3.2 TUMORJI SREDICE NADLEDVIČNE ŽLEZE

Med tumorje sredice nadledvične žleze spadajo:

- **Ganglionevromi**, ki so redki ter se pojavljajo pri otrocih in mlajših odraslih. Običajno jih najdemo slučajno pri pregledu nadledvične žleze in so skoraj izključno grajeni iz zrelih ganglijskih celic. Rastejo počasi in povzročajo blage lokalne simptome, ki se povečujejo z njihovo velikostjo.
- **Feokromocitomi** so tumorji sredice nadledvične žleze celic. Te celice proizvajajo hormonske mediatorje, zato so tumorji iz takšnih tkiv lahko hormonsko aktivni. Pojavljajo se v vseh starostnih obdobjih. Imajo enak način metastaziranja kot tumorji skorje nadledvične žleze, vendar metastazirajo tudi v kosti. Metastaze običajno nimajo hitre rasti, vendar so pogosto letalne, ker povzročajo kardiovaskularne zaplete. Feokromocitom izloča kateholamina (adrenalin in noradrenalin), kar lahko daje klinično sliko hipertenzije s hipertenzivnimi krizami s ostalimi pridruženimi kliničnimi znaki. Simptome lahko tudi izzove fizični napor, čustveni pretres, zaužitje alkohola ... Zelo pogoste so tudi hiperglikemije. Zdravljenje je operativno in je ob zgodnji diagnostiki zelo uspešno. V urinu so povišane koncentracije adrenalina, noradrenalina, metanefrina, normetanefrina in vanilin-mandljeve kisline (VMA).
- **Nevroblastomi** so najpogostejši tumorji nadledvičnic in predstavljajo 1/10 vseh otroških tumorjev. Je smrtna maligna bolezen, ki jo povzroči tumor živčnega sistema. Pogosto se pojavljajo ob rojstvu in 1/3 jih je diagnosticiranih v prvem letu življenja. Večinoma se pojavljajo sporadično. Izzovejo različne zelo nejasne simptome: abdominalne bolečine, GIT-motnje, nevrološke simptome, hipertenzijo, respiratorne disfunkcije, povečane bezgavke, bolečine v sklepih in kosteh. Približno 90 % teh tumorjev proizvaja in izloča kateholamina (adrenalin in noradrenalin), podobno kot feokromocitom, vendar pa ni sekundarne hipertenzije. Lahko so

izjemno majhni (ti so ponavadi dobro omejeni in inkapsulirani), lahko pa zrastejo do izjemnih razsežnosti in se vraščajo v sosednje organe, kot so jetra, ledvice

- **Mešani (ganglionevroblastomi)** so tumorji nevralnega grebena in nekoliko bolj pogosti kot ganglionevromi ter dajejo podobno simptomatiko kot neuroblastomi (6).

1.4 KATEHOLAMINI (hormoni sredice nadledvične žleze)

1.4.1 SPLOŠNO

Farmakološko najpomembnejši kateholamini so *adrenalin*, *noradrenalin* in *dopamin*. V diplomski nalogi pa bomo obravnavali samo kateholamina **adrenalin** in **noradrenalin**.

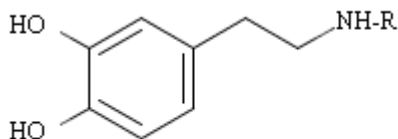
Vključena sta v uravnavanje številnih fizioloških funkcij, zlasti v reakcije organizma na stresne dejavnike, ki bi drugače porušili homeostatsko ravnovesje organizma.

Adrenalin in noradrenalin se sproščata v krvni obtok kot odgovor na fizični ali čustveni stres. Stanje v okolju ali v organizmu, ki potencialno ali dejansko ogroža življenje organizma, imenujemo stres. Hipotalamus neposredno aktivira simpatični živčni sistem, ki pripravi telo za akcijo ali umik. Ta odziv so poimenovali odziv za boj ali beg. Prek vzdraženja nevronov, ki oživčujejo sredico nadledvičnice, se iz te začeta izločati adrenalin in noradrenalin. Učinkujeta na živčni sistem, kardiovaskularni sistem, metabolizem, gladke mišice in na telesno temperaturo. Imata aktivno vlogo v simpatičnem in parasimpatičnem sistemu. Noradrenalin je glavni neurotransmitter v CŽS in deluje lokalno (organ, tkivo), šele 10-kratne bazalne vrednosti v plazmi privedejo do pomembnejših hemodinamičnih in presnovnih učinkov. Medtem ko adrenalin deluje kot hormon, ker deluje tudi v distalnih delih krvnega obtoka (7).

Kemijsko sta adrenalin in noradrenalin derivata aminokislina tirozina. Noradrenalin je živčni prenašalec simpatičnega živčevja in hormon, ki ga izloča sredica nadledvične žleze. Nastaja v možganih, kromafinih tkivih, v sredici nadledvične žleze in v živčnih končičih CŽS, ki so prisotni v skoraj vseh tkivih. Medtem ko adrenalin nastaja le v kromafinih celicah. (10).

Delujeta na α - in β -adrenergične receptorje v ciljnih tkivih in sta vključena v številne regulatorne procese. Adrenalin ima do adrenergičnih receptorjev večjo afiniteto. Sodelujeta pri regulaciji odziva na stres, vplivata na psihomotorično aktivnost, na čustvene procese, spanje, učenje in na spomin. Poleg tega sodelujeta pri nadzoru številnih presnovnih procesov, kot npr. pospešujeta glikogenolizo in lipolizo. Delujeta zelo hitro in v zelo nizkih koncentracijah dosežeta močne učinke. Imata kratko razpolovno dobo, zato v glavnem določamo njune metabolite v urinu (8).

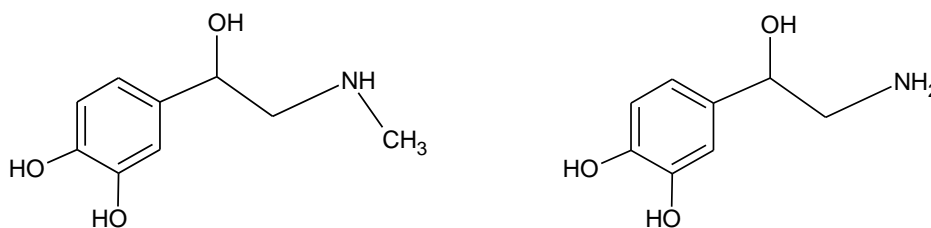
1.4.2 OSNOVNA STRUKTURA ADRENALINA IN NORADRENALINA



Slika 3: Osnovna struktura adrenalina ($R = \text{CH}_3$) in noradrenalina ($R = \text{H}$)
(catehol s stransko aminsko skupino) (9)

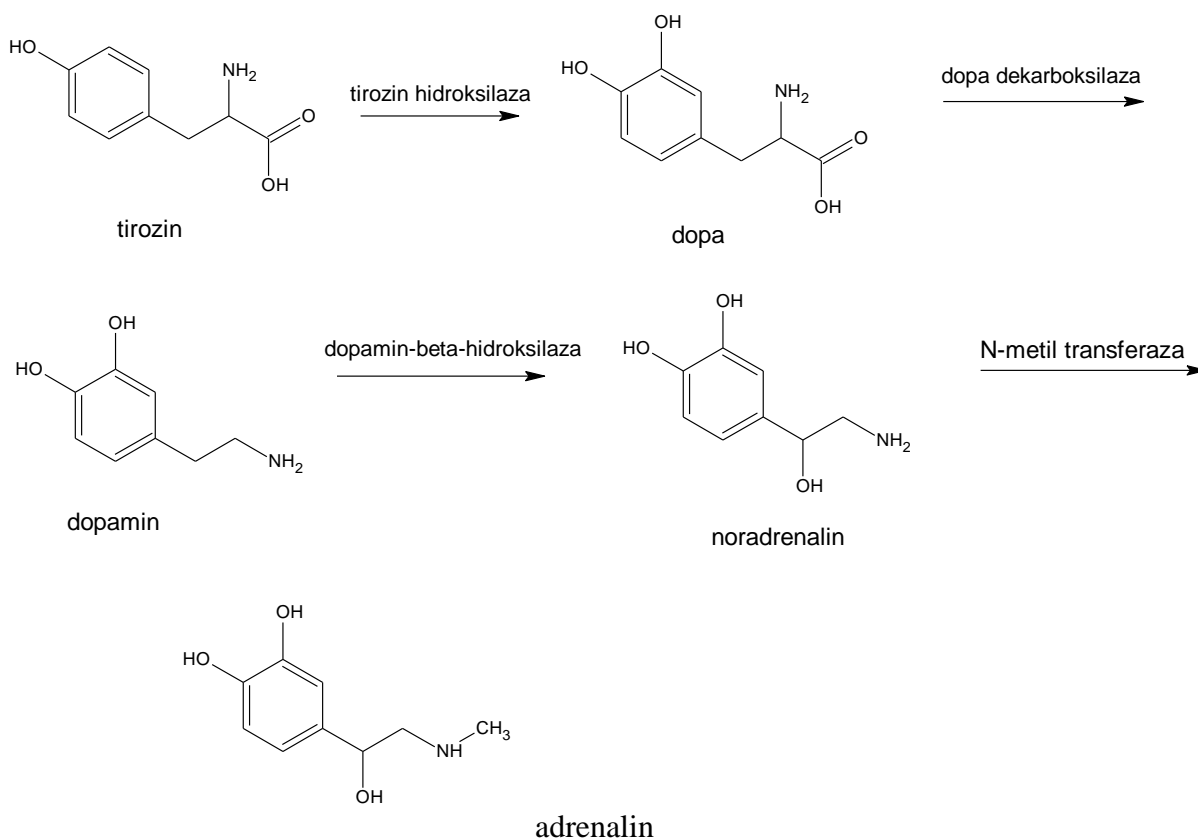
- Osnovna struktura adrenalina in noradrenalina je kateholni obroč (o-dihidroksibenzen) s stransko etilaminsko skupino;
- aromatski obroč in aminska skupina morata biti narazen za 2 C atoma. S tem dosežemo povečano aktivnost na adrenergičnih receptorjih;
- zaradi prisotne amino skupine je približna pKa vrednost adrenalina in noradrenalina 8,5-10;
- s substitucijo stranske verige na β mestu s hidroksilno skupino, ki mora biti v R absolutni konfiguraciji, dosežemo maksimalno aktivnost in zmanjšamo delovanje znotraj CŽS zaradi slabe lipofilnosti;
- benzenov obroč je na mestu 3,4-disubstituiran z hidroksilno skupino (cateholni obroč). Ta substitucija zagotavlja ustrezno aktivnost na α - in β -receptorjih, vendar imata adrenalin in noradrenalin slabo peroralno biorazpoložljivost, ker je kateholni obroč hidrofilen in zaradi prisotnih hidroksilnih skupin je boljši substrat za COMT (catehol-O-metil-transferaza), zato adrenalin in noradrenalin delujeta kratek čas;

- amino skupina na stranski verigi pri noradrenalinu ni substituirana, pri adrenalinu pa je substituirana z metilno skupino. Substituente na stranski amino skupini opredeljujejo α in β aktivnost. Aktivnost na α - in β -receptorjih je največja, ko je amino skupina substituirana z metilno skupino (kot pri adrenalinu). Aktivnost na α -receptorjih se zmanjša, če je amino skupina substituirana z prostornejšo alkilno verigo;
- adrenalin in noradrenalin na mestu α na stranski verigi nista substituirana. Če bi bilo to mesto substituirano z krajšo alkilno skupino (metilno ali etilno), bi to upočasnilo metabolizem z MAO. Vendar zaradi substitucije benzenovega obroča z hidroksilno skupino, sta adrenalin in noradrenalin substrata za metabolizem z COMT. To pomeni, da substitucija na α -mestu nima bistvenega vpliva na delovanje adrenalina in noradrenalina (10).



Slika 4: Struktura adrenalina (levo) in noradrenalina (desno) (11, 12)

1.4.3 BIOSINTEZA ADRENALINA IN NORADRENALINA



Slika 5: Biosinteza adrenalina in noradrenalina (13)

Biosinteza adrenalina in noradrenalina poteče iz L-tirozina (Slika 5), ki je v zadostni količini prisoten v plazmi in tkivih ter nastaja iz fenilalanina v jetrih ali pa ga dobimo s hrano. L-tirozin se pretvori v L-dopo (L-dihidroksifenilalanin) s pomočjo specifičnega encima tirozin hidroksilaze (nahaja se v citoplazmi), ki oksidira tirozin na mestu 3. v L-dopo. Aktivnost encima tirozin hidroksilaze je skrbno nadzorovana in potrebuje za svoje delovanje kofaktor tetrahydrobiopterin. Če tega kofaktorja ni dovolj, se zmanjša biosinteza. Z dekarboksilacijo L-dope z encimom dopa dekarboksilaza v prisotnosti različnih kofaktorjev nastaja dopamin (dihidroksifeniletilamin). Encim dopa dekarboksilaza je neselektiven citoplazmatski encim, ki lahko dekarboksilira številne aromatske aminokisljine. Aktivnost encima je odvisna od prisotnosti kofaktorja piridoksal fosfata. Dopamin je prekursor noradrenalina in adrenalina, ter je tudi pomemben neurotransmiter v CŽS. Z aktivnim transportom preide v granulirane vezikle, ki se nahajajo v bližini

adrenergičnih nevronov. V teh veziklih, encim β -hidroksilaza stereospecifično uvede hidroksilno skupino na β -mesto v stranski verigi in pri tem nastane noradrenalin. Encim β -hidroksilaza je metaloencim, ki za svojo aktivnost potrebuje bakrov ion in kofaktor askorbinsko kislino. Noradrenalin je v visokih koncentracijah shranjen v sinaptičnih veziklih postganglionarnih sinaptičnih nevronov skupaj z ATP, kromograninom in dopamin- β hidroksilazo. V adrenergičnih vlaknih se noradrenalin nahaja skupaj z ATP v razmerju 1:4 v posebnih granuliranih veziklih. Z vezavo metilne skupine na dušikov atom amino skupine nastane adrenalin. Tu sodeluje encim N-metil transferaza (PNMT), ki se nahaja le v citosolu celic sredice nadledvične žleze, v kromafinih celicah in njegovo aktivnost lahko povečajo glukokortikoidi. Kofaktor je S-adenozil-L-metionin, ki donira metilno skupino. Adrenalin je končni metabolit biosinteze. Biosinteza je povečana pod vplivom stresnih situacij ali bolezni (feokromocitom) (10, 14).

Adrenalin in noradrenalin imata zelo kratko življenjsko dobo. Njuna razpolovna doba je v povprečju od 1 do 3 minut in njun presnovni očistek je v povprečju od 2 do 6 l/min. Presnovni očistek adrenalina in noradrenalina se lahko še poveča z aktivacijo β -adrenergičnih receptorjev. Samo 2 do 3 % adrenalina in noradrenalina se izloči v urin v nespremenjeni obliki. Normalni dnevni izloček je okoli 50 μ g, od tega je 20 % adrenalina in 80 % noradrenalina. Okoli 40 % adrenalina in noradrenalina se izloči kot metabolit VMA in 40 % kot metabolita metanefrin in normetanefrin (15).

1.4.4 URAVNAVANJE IZLOČANJA

Dokler sta shranjena v posebnih granulah v sredici nadledvične žleze nista aktivna. Sprostita se v stresnih situacijah ali pod vplivom fizičnih sprememb. Simpatični živčni sistem nenehno izloča majhno količino noradrenalina v kri. S stimulacijo simpatičnega živčnega sistema pa se njuno izločanje poveča.

Upravljanje izločanja adrenalina in noradrenalina lahko razdelimo v dve skupini (7):

- lokalno na nivoju sproščanja: noradrenalin prek presinaptičnih α_2 -receptorjev zaviralno vpliva na lastno sproščanje;

- centralno: stimulusi iz centralnega živčevja kot posledica integracije različnih vplivov prek simpatičnega živčevja povzročijo sproščanje adrenalina in noradrenalina v efektorne organe.

Na sproščanje adrenalina in noradrenalina vpliva simpatični živčni sistem. Noradrenalin se sprosti neposredno iz simpatičnih ganglijev, medtem ko se adrenalin sprosti iz sredice nadledvične žleze pod vplivom stimulacije simpatičnega živčnega sistema.

Noradrenalin je shranjen v granuliranih veziklih in tam ostane, dokler se ne sprosti v sinaptično špranjo med prenosom signala. Ko električni signal po nevronu doseže aksonske končiče, se membrana depolarizira in to sproži odprtje napetostno odvisnih Ca-kanalčkov, kar povzroči dotok kalcijevih ionov. Depolarizacija membrane povzroči lokalno povečanje Ca^{2+} ionov. Sinaptični mehurčki z neurotransmitterjem noradrenalinom se premaknejo k presinaptični membrani in se z njo združijo. Neurotransmitter noradrenalin nato difundira iz sinaptičnih mehurčkov in se veže na adrenergične receptorje na postsinaptični membrani. Z reverzibilno vezavo na α - in β -adrenergične receptorje na efektornih celicah, sproži biokemično kaskado katere rezultat je fiziološki odziv.

Poleg receptorjev na postsinaptični membrani, obstajajo tudi α_2 -adrenergični receptorji, ki se nahajajo na presinaptičnem nevronu. Samo sproščanje noradrenalina je regulirano z negativno povratno zanko preko presinaptičnih α_2 -receptorjev, ki inhibirajo adenilatno ciklazo in preko znižanja cAMP preprečijo odprtje napetostno odvisnih Ca-kanalčkov. Posledica je zmanjšano sproščanje noradrenalina.

Sredica nadledvične žleze pa vsebuje kromafine celice, ki so modificirani postganglijski nevroni simpatičnega živčnega sistema. Preganglijski nevroni pa so splanhični simpatikus, ki izločajo acetilholin. Acetilholin depolarizira kromafine celice, kar povzroči odprtje napetostno odvisnih Ca-kanalčkov. Ca^{2+} ioni pa povzročijo eksocitozo veziklov z adrenalinom. Adrenalin se nato veže na α - in β -adrenergične receptorje v različnih tkivih po telesu in sproži vrsto učinkov (10, 17).

1.4.5 METABOLIZEM ADRENALINA IN NORADRENALINA

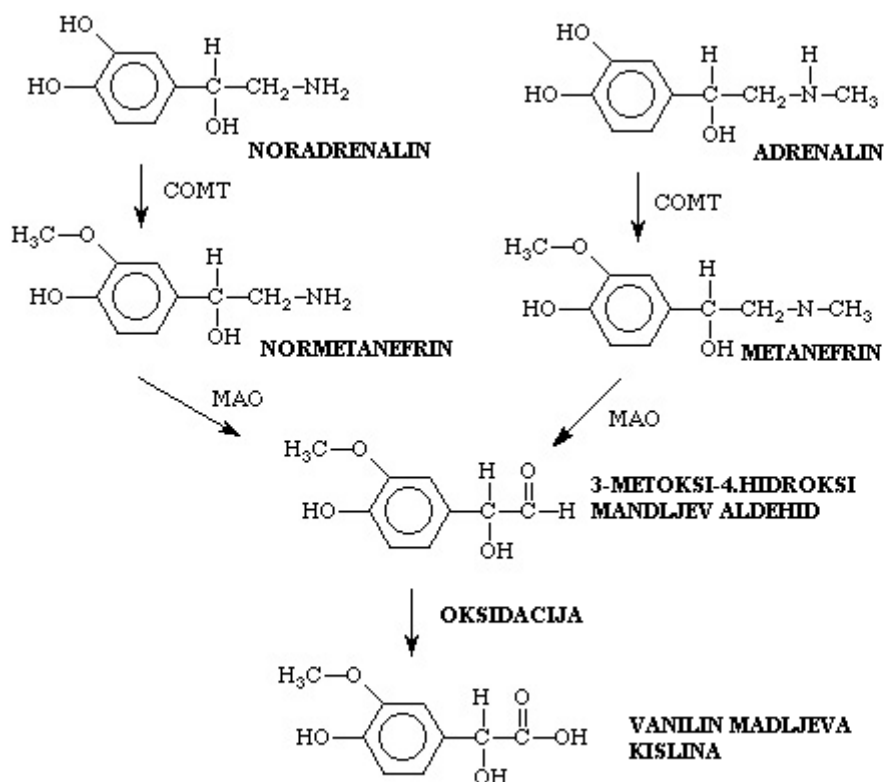
Delovanje adrenalina in noradrenalina se konča s ponovnim privzemom v nevron ali v druga tkiva ali z metabolizmom v neaktivne metabolite z encimoma MAO (monoamino oksidaza) ter COMT (katehol-O-metil-transferaza). Odstranjevanje adrenalina in noradrenalina na periferiji poteka s privzemom-1 (uptake 1) v nevron in s privzemom-2 (uptake 2) v druga tkiva (v efektorske celice). Noradrenalin ujame transportni sistem 1 (privzem-1), ki je nameščen na živčnem tkivu in je najbolj učinkovit, saj se do 95 % sproščenega noradrenalina s tem mehanizmom vrne nazaj v presinaptični nevron v granularne vezikle. Medtem ko je adrenalin bolj odvisen od privzema-2, ki ga najdemo v gladkih mišicah, v srčni mišici in endoteliju. Privzem-2 je manj učinkovit privzem, saj deluje v številnih drugih celicah in samo v prisotnosti visokih koncentracij adrenalina in noradrenalina. Proces metabolizma je zelo hiter, tako da se adrenalin in noradrenalin zelo kratko zadržujeta v krvi.

Del noradrenalina, ki se vrne nazaj v presinaptični nevron se metabolizira do 3,4-dihidroksifenilglikolaldehida (DOPGAL) z intranevronskega encimom MAO. Encim MAO katalizira oksidativno deaminacijo amina v nevronih in pri tem nastane reaktiven aldehyd, ki se z encimom AR (aldehydna reduktaza) ali AD (aldehydna dehidrogenaza) pretvori do alkohola ali kisline. Aldehydna dehidrogenaza katalizira pretvorbo DOPGAL-a do DHMA (3,4-dihidroksi mandljeva kislina) in aldehydna reduktaza katalizira pretvorbo DOPGAL-a do DHPG (3,4-dihidroksifenilglikol). Encim MAO je flavoprotein, ki se nahaja intracelularno, pripet na zunanjo stran mitohondrijske membrane in je prisoten skoraj v vseh delih telesa, predvsem pa v jetrih, gastrointestinalnem traktu in v centralnem živčnem sistemu. Poznamo dva tipa, in sicer MAO-A in MAO-B. Zaviranje MAO-A povezujejo z antidepresivi. MAO-A sodeluje pri razgradnji serotonina, noradrenalina in dopamina, medtem ko oblika MAO-B sodeluje zgolj pri razgradnji dopamina.

Del adrenalina in noradrenalina, ki se z privzemom-2 vrneta nazaj v efektorske celice, se z encimom COMT (katehol-O-metil-transferaza) metilirata v O-metilirane farmakološko neaktivne metabolite (**metanefrin in normetanefrin**). COMT spada v naddružino encimov metiltransferaz. Je znotrajcelični encim, ki je razporejen po celem telesu, največ ga je v jetrih in ledvicah. Katalizira prenos metilne skupine iz S-adenozil metionina, ki je kofaktor, na hidroksilno skupino kateholnega obroča. Reakcija poteka v prisotnosti Mg^{2+} .

V telesu približno 93 % metanefrina in 25-40 % normetanefrina nastane pri metabolizmu adrenalina in noradrenalina z encimom COMT v sredici nadledvične žleze.

Končni produkt metabolizma adrenalina in noradrenalina je **VMA (vanilin mandljeva kislina; 3-metoksi-4-hidroksi mandljeva kislina)**, ki se izloči z urinom. Z encimom MAO poteče oksidativna deaminacija metanefrina in normetanefrina (10, 16).



Slika 6: Metabolizem adrenalina in noradrenalina (17)

1.4.6 UČINKI ADRENALINA IN NORADRENALINA (delovanje na periferna tkiva)

Simpatični živčni sistem ima pomembno vlogo pri uravnavanju krvnega tlaka. Deluje s pomočjo adrenalina in noradrenalina, ki delujeta na adrenergične receptorje. Adrenalin in noradrenalin se na nivoju celic vežeta na membranske receptorje, ki jih delimo na α - in β -adrenergične receptorje. Vsakega od teh receptorjev delimo na vsaj dve podskupini. **Adrenoreceptorji** pripadajo družini receptorjev povezanih z G-proteinom. Receptorji, povezani z G-proteini so transmembranski receptorji, ki jih sestavlja sedem transmembranskih heliksov. Receptorje aktivirajo signalne molekule, kot so hormoni in nevrottransmiterji. G-proteine delimo na dve skupini: heterotrimere in monomere. Prve sestavljajo tri različne podenote: α , β in γ . Po vezavi signalne molekule pride do konformacijske spremembe receptorja, kar omogoči aktivacijo trimernih G-proteinov. V neaktivnem stanju je na G-protein prednostno vezan GDP, v aktivnem stanju pa GTP. Protein se loči na α podenoto in $\beta\gamma$ kompleks. Obstaja več $G\alpha$ podenot: stimulatorna (G_s) in inhibitorna (G_i). Stimulatorna deluje na adenilat-ciklazo in fosfolipazo C, inhibitorna pa na adenilat-ciklazo. Receptorji, povezani z G-proteinom, aktivirajo nastajanje sekundarnih obveščevalcev: cAMP, IP_3 in DAG.

α -adrenergični receptorji delujejo v simpatičnem živčnem sistemu, kjer omogočajo vezavo noradrenalina in v manjši meri tudi adrenalina. Delimo jih na α_1 in α_2 receptorje.

- α_1 -receptorji: po vezavi aktivirajo fosfolipazo C (encim, ki je na citosolni strani membrane). Fosfolipaza C katalizira hidrolizo fosfatidilinozitol 4,5-bifosfata (PIP_2), ki se nahaja na notranji strani membrane, na inozitol-1,4,5-trifosfat (IP_3) in na 1,2-diacilglicerol (DAG). IP_3 in DAG imata vlogo sekundarnega prenašalca. IP_3 se nato veže na Ca-kanalčke na endoplazmatskem retikulumu, kar omogoči prehod kalcijevih ionov v citosol. Posledica tega je kontrakcija gladke muskulature, razen mišic v GIT. α_1 -receptorje najdemo predvsem v gladkih mišicah arteriol, črevesja, žil, kot tudi v nekaterih drugih vrstah celic (žleze slinavke).
- α_2 -receptorji: so presinaptični receptorji. Inhibirajo adenilat-ciklazo (povezani so z G_i -proteinom) in tako vplivajo na padeč koncentracije cAMP v celici. S tem je inhibirano

izločanje neurotransmiterja noradrenalina. Sproži se krčenje gladkih mišic, inhibirano je izločanje inzulina in pospeši se agregacija trombocitov.

β -adrenergični receptorji so povezani z Gs-proteinom in stimulirajo adenilat-ciklazo ter povečajo koncentracijo cAMP v celici. Adenilat-ciklaza je encim, ki katalizira pretvorbo adenozin trifosfata (ATP) v ciklični adenozin monofosfat (cAMP). Nastali cAMP je sekundarni prenašalec, ki znotraj celice prenaša sporočilo primarnega obveščevalca, t.j. hormona. Njegova glavna naloga je aktivacija protein-kinaze A, ki se imenuje tudi od cAMP odvisna protein-kinaza. Protein-kinaza ima več funkcij v celici, vključno z uravnavanjem metabolizma glikogena, sladkorjev in presnove maščob. β -adrenergične receptorje delimo na:

- β_1 -receptorje, ki jih pretežno najdemo v ledvicah in srcu, kjer delujejo pozitivno ionotropno (povečajo moč kontrakcije) in pozitivno kronotropno (povečajo srčno frekvenco),
- β_2 -receptorje, ti povzročajo bronhodilatacijo in vazodilatacijo, relaksacijo gladkih mišic in povečajo jetrno glikogenolizo,
- β_3 receptorje, ki so odgovorni za lipolizo in termogenezo v skeletnih mišicah in maščevju (10).

Preglednica I: Adrenergični receptorji: prisotnost v organih in odgovori (10)

Organ ali tkivo	Receptor	Učinek aktivacije	Fiziološki učinek
Srce	β_1	Kontrakcija	Povečanje srčne moči in frekvence
Gladke mišice arteriol	α_1, α_2	Kontrakcija gladkih mišic	Konstrikcija arteriol in zvečanje krvnega pritiska
Gladke mišice arteriol	β_2	Dilatacija	
Pljuča (bronhialne gladke mišice)	β_2	Relaksacija gladkih mišic	Dilatacija in sprostitvev dihalnih poti
Jetra	α_1, β_2	Aktivacija encimov, ki metabolizirajo glikogen, in inhibicija encima, ki sintetizira glikogen	Razgradnja glikogena do glukoze; povečana glikogenoliza in glukoneogeneza
GIT	α_1, β_2	Relaksacija	Zmanjšana peristaltika
Ledvica	β_1	Povečanje izločanje renina	Povišanje krvnega pritiska, zmanjšanje pretoka skozi ledvice
Maščobne celice	α_1, β_3	Aktivacija lipaz	Razgradnja maščob (lipoliza)
Maternica	α_1	Kontrakcija	
Maternica	β_2	Relaksacija	
Oči	α_1	Kontrakcija	Midriaza zenice

Aktivacija simpatičnega živčnega sistema povzroči znan odziv imenovan kot »boj ali beg«. Psihološki stres preko hipotalamusa in simpatičnega živčnega sistema spodbudi sredico nadledvične žleze, pri čemer se v krvni obtok sproščata adrenalin in noradrenalin, ki

delujeta na α - in β -adrenoreceptorje. Z učinkom na α - in β - adrenoreceptorje adrenalin in noradrenalin povzročata značilne učinke. Pride do sprememb v srčno-žilni funkciji in neuroendokrini funkciji, ki povečajo dotok energije do mišic, srca in možganov ter zmanjšajo dotok krvi do notranjih organov in prebavnega sistema. Adrenalin ima visoko afiniteto do α - in β - adrenoreceptorjev, medtem ko ima noradrenalin afiniteto do α - in β_1 - adrenoreceptorjev in relativno nizko afiniteto do β_2 - receptorjev. Najpomembnejši učinki adrenalina in noradrenalina so na:

- **CŽS:** ekscitacija, nemir, budnost, strah in tremor;
- **KARDIOVASKULARNI SISTEM:** povečata moč kontrakcije srca (pozitivni ionotropni učinek) in srčno frekvenco (pozitivni kronotropni učinek), kar vodi do povečanja minutnega volumna srca in povečanje krvnega tlaka. Srce začne pod vplivom adrenalina hitreje in močne je utripati, saj mora v mišice pognati kri, ki je obogatena s kisikom in hranilnimi snovmi;
- **OKO:** znižata intraokularni tlak (zdravljenje glavkoma). Simpatična stimulacija α_1 -adrenergičnih receptorjev povzroči krčenje mišice širilke in posledično razširitev (midriazo) zenice;
- **DIHALA:** adrenalin deluje na prisotne β_2 -receptorje v bronhialnih gladkih mišicah in povzroča bronhodilatacijo (zdravljenje astme in anafilaksije); medtem ko ima noradrenalin šibkejšo delovanje na β_2 -receptorje. Zaradi razširjenih sapnic, ki so predvsem posledica delovanja adrenalina, zrak lažje, a tudi hitreje vstopa v pljuča in iz njih izstopa. Dihanje je pospešeno in globlje;
- **SKELETNE MIŠICE:** kri preusmerita iz visceralnih organov v mišice;
- **LEDVICA:** stimulirata izločanje renina;
- Glukoza in maščobe se začno pospešeno sproščati iz telesnih zalog sladkorja in maščob, kar je posledica delovanja adrenalina in noradrenalina na jetra in maščobno tkivo. Te oskrbijo telo s potrebno energijo;
- **PRESNOVO:** ↓ izločanje inzulina, ↑ izločanje glukagona, ↑ glikogenolizo (mišice, jetra), ↑ lipolizo, ↑ glukoneogenezo;
- Prebavni sistem, ledvice in koža zmanjšajo svoje delovanje, zaradi zoženja žil. Posledica zoženja žil je slabša prekrvavitev teh organov (18).

Preglednica II: Delovanje adrenalina in noradrenalina na organe in presnovne procese (3)

	Adrenalin	Noradrenalin
Srce in krvne žile	Dilatira koronarne žile; dilatira arteriole v skeletnih mišicah in drobovju; poveča moč in frekvenco srčnih utripov ter poveča porabo kisika v miokardu, poveča tudi kontraktilnost srca	Dilatira koronarne žile; krči žile v drugih organih; poveča moč in frekvenco srčnih utripov
Krvni tlak	Poviša sistolični krvni tlak zaradi povečanega utripa srca in rahlo zniža diastolični krvni tlak zaradi vazodilatacije na periferiji (β_2 učinek)	Poviša krvni tlak zaradi periferne vazokonstrikcije (α_1 učinek), poveča sistolični in diastolični tlak
Mišičje	Zavira krčenje gladkih mišic prebavil in povzroča njihovo sproščanje; širi dihalne poti (bronhodilatacija - β_2 učinek); zmanjšuje utrujenost skeletnih mišic; pospeši dihanje	Sprošča gladke mišice v prebavilih
Metabolizem	Pospeši glikogenolizo v mišicah in jetrih (sprostitev glukoze iz glikogena); posledica je povišana koncentracija glukoze v krvi in mlečne kisline v mišicah; poveča vnos kisika; zavira sproščanje inzulina iz trebušne slinavke; poveča	Poveča lipolizo (sproščanje prostih maščobnih kislin iz maščevja) in glikogenolizo

	lipolizo (sprostitvev prostih maščobnih kislin iz maščobnih celic); omogoča preskrbo skeletnih mišic z maščobnimi kislinami; omogoča preskrbo skeletnih mišic in centralnega živčnega sistema z glukozo v stresu	
Ledvice	Zmanjša pretok krvi skozi ledvice	Poveča sproščanje renina (povečanje krvnega tlaka kot posledica povečanja izločanja aldosterona, ki povzroča zadrževanje Na ⁺ ionov in zmanjšuje izločanje tekočin iz ledvic)

1.4.7 POMEN DOLOČANJA ADRENALINA IN NORADRENALINA

Določamo ju pri diagnostiki feokromocitoma in neuroblastoma, kjer diagnoza temelji na biokemičnem dokazu čezmernega in/ali avtonomnega izločanja adrenalina in noradrenalina in njihovih metabolitov v urinu ali plazmi. Občasno ju uporabljamo tudi pri odkrivanju ortostatske hipotenzije in pri nekaterih drugih bolezenskih stanjih.

Z merjenjem koncentracije adrenalina in noradrenalina v plazmi ali urinu lahko diagnosticiramo feokromocitom, ne moremo pa določiti, kje se tumor nahaja in ali je benigni/maligen. Količina adrenalina in noradrenalina ni povezana z velikostjo tumorja. Normalno sta adrenalin in noradrenalin ter njuni metaboliti prisotni v telesu v majhnih količinah in njihovo izločanje se poveča ob stresnih situacijah.

1.4.8 DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA PRI FEOKROMOCITOMU

Izbira diagnostičnega testa je odvisna od prisotnih kliničnih znakov feokromocitoma. Biokemični testi temeljijo na določanju sproščene količine adrenalina in noradrenalina in njihovih metabolitov v urinu ali plazmi in jih uporabljamo rutinsko pri pacientih, ki imajo hipertenzijo oziroma ostale prisotne klinične znake, značilne za feokromocitom (19).

Adrenalin in noradrenalin redko določamo v plazmi zaradi komplikacij pri jemanju vzorcev. Merjenje v plazmi nima nobenih prednosti pred merjenjem v urinu. Pri interpretaciji rezultatov moramo biti pozorni na dejavnike, ki lahko vplivajo na lažno pozitivne rezultate. Ti dejavniki so lahko stres, zdravila ali hrana (čaj, kava, alkohol). Na povečano sproščanje adrenalina in noradrenalina lahko vplivajo tudi nikotin, hipoglikemija, mraz in bolečina. Tudi nekatera bolezenska stanja lahko vplivajo na povečano izločanje: akutna stanja (miokardni infarkt, diabetična ketoacidoza ali sepsa) in kronična stanja (anemija, hipotiroidizem ...). Lažno zvišanje vrednosti adrenalina in noradrenalina lahko povzročijo tudi nekatera zdravila: paracetamol, α -metildopa, L-DOPA, labetalol, triciklični antidepresivi, etanol, sotalol, amfetamini, benzodiazepini in klorpromazin. Za zmanjšanje lažno pozitivnih rezultatov, je potreben poseben režim priprave bolnika pred odvzemom vzorca. Obstajajo pa tudi učinkovine, ki vplivajo na zmanjšanje vrednosti adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu; sem spadajo metiltirozin (ki je inhibitor tirozin hidroksilaze), rezerpin in klonidin (20).

Vzorca, v katerih določamo adrenalin in noradrenalin, sta urin in plazma. Za samo analizo zbiramo 24-urni urin. Zbiramo ga v polietilenske posodice, kjer vzorcem dodamo 20 ml 25 % HCl, ki deluje kot konzervans. Vzorce hranimo na 4 °C zaščiteno pred svetlobo. Test se mora izvesti v roku 14 dni. Če morajo biti vzorci shranjeni za dlje časa, moramo uravnati pH vrednost na 1–2 in jih zamrznemo na –20 °C. Stabilnost tako pripravljenih vzorcev je do enega leta. Če vzorce odtalimo in ponovno zamrznemo, lahko pride do povečane razgradnje adrenalina in noradrenalina in temu se moramo izogibati (21). Z določanjem koncentracije kreatinina v urinu preverimo ustreznost zbiranja vzorcev. Če je delež kreatinina v urinu <5 mmol/dan, je to lahko povezano z neustreznim zbiranjem vzorca

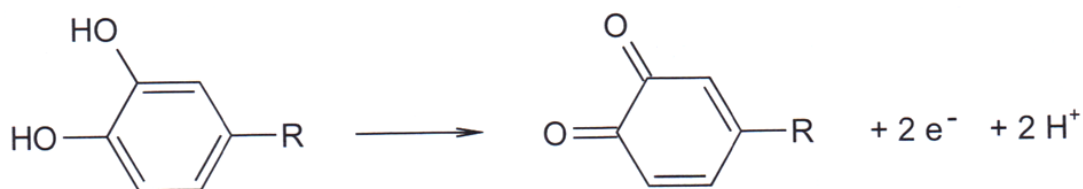
urina (previsok pH, neustrezna temperatura, nezaščiten pred svetlobo). V tem primeru, če ne moremo postaviti diagnoze feokromocitoma, je potrebno ponovno jemanje in zbiranje vzorca urina. Če je vrednost kreatinina med 7–17 mmol/dan, lahko sklepamo na ustreznost ravnanja z vzorci. 5 dni pred vzorčenjem pacienti ne smejo kaditi in uživati čokolade, kave, banan, hrane, ki vsebuje vanilijo, citrusov in zdravil (aspirina, α -metildopa, propranolola ...). Ta režim priprave pacientov in način priprave ter shranjevanja vzorcev velja za merjenje adrenalina in noradrenalina in njihovih metabolitov v 24-urnem urinu (22).

Prav tako lahko adrenalin in noradrenalin določamo tudi v plazmi. Posebnosti pri odvzemu krvi se pojavljajo pri določanju, kjer ima priprava preiskovanca in postopek odvzema zelo velik vpliv na rezultat. Na plazemsko koncentracijo poleg časa odvzema vplivajo še stresni dogodki, ki zvišajo vrednost. Pred odvzemom vzorca krvi mora biti bolnik vsaj 30 minut v ležečem položaju, ker so vrednosti, odvzete v stoječem položaju 2–3-krat večje. Hkrati pa moramo upoštevati tudi cirkadialni ritem (maksimalni je dopoldan). Ker lahko venska punkcija poviša vrednosti adrenalina in noradrenalina, kri odvezamo s predhodno vstavitvijo kanile/katetra. Odvzeto kri damo v ohlajeno epruveto skupaj z antikoagulantom heparinom ali EDTA. Plazmo ločimo od vzorca s centrifugiranjem in tako pripravljeno plazmo prenesemo na led v 30 minutah po odvzemu. Preden plazmo zamrznemo na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, dodamo še 50 μl 0,26 M Na-metabisulfitu, ki je reducent. Vzorce analiziramo 1 teden po odvzemu (21).

Metode, ki se najpogosteje uporabljajo za merjenje koncentracije adrenalina in noradrenalina in njihovih metabolitov, so HPLC z ECD, masna spektrometrija, kapilarna elektroforeza, radioencimska metoda (kjer se meri β -sevanje) in druge. Tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti z elektrokemijsko detekcijo danes najpogosteje uporabljamo, ker je zanesljiva in dovolj občutljiva metoda za določanje koncentracije adrenalina in noradrenalina ter njihovih metabolitov v urinu ali plazmi. Občutljivost merjenja metanefrinov in normetanefrinov v plazmi s HPLC metodo je 100 %, medtem ko je občutljivost metanefrinov in normetanefrinov v urinu 89 %. V študiji so bili metanefrini in normetanefrini v plazmi določeni z HPLC metodo, v urinu pa s spektroskopsko metodo (23). Masna spektrometrija je postopoma postala tudi bolj pogosta metoda zaradi svoje strukturne specifičnosti. Bila je tudi uporabna v številnih študijah adrenalina in noradrenalina (farmakokinetika, biokemija, farmakologija). Z masno spektrometrijo se

določa struktura molekul in izmeri njihova molekulska masa. Je učinkovita tehnika za identifikacijo snovi na osnovi analize ionov, nastalih iz osnovne molekule in je zelo občutljiva analizna metoda, s katero lahko zaznamo vsebnost spojine v območju od pg do ng. Z njo merimo koncentracijo adrenalina in noradrenalina in njunih metabolitov v človeških tekočinah in tkivu, kot je urin, plazma, možgani ... (24).

Ena izmed najpomembnejših tehnik, s katero določamo adrenalin in noradrenalin in njune metabolite, je predvsem metoda HPLC z elektrokemijsko detekcijo. Kateholni obroč (benzenov obroč z dvema sosednjima hidroksilnima skupinama) se z oksidacijo pretvori v kinonsko obliko. Ta prenos elektronov se lahko meri elektrokemijsko. Elektrokemijski detektor meri oksidirane produkte. Tok, ki nastane med prenosom elektronov, se spremeni v ustrezen signal, ki je bil poslan na integrator. Odgovor detektorja je proporcionalen koncentraciji adrenalina in noradrenalina (13).



Slika 7: Oksidacija kateholnega obroča

Merjenje metanefrinov in normetanefrinov ima najvišjo stopnjo občutljivosti (100 %) in specifičnosti (94%) v primerjavi z merjenjem VMA (občutljivost je 72 % in specifičnost 96 %) in adrenalina ter noradrenalina (občutljivost je 84 % in specifičnost 99 %) v urinu s HPLC metodo (25). Adrenalin in noradrenalin ter njune metabolite se lahko določa tudi s kapilarno elektroforezo, ki je relativno preprosta metoda. Prednost te metode je, da se lahko uporabljajo zelo majhni vzorci (povprečna prostornina je nekaj nl) (13).

Preglednica III: Laboratorijske vrednosti adrenalina in noradrenalina (26)

	Plazma	Urin
Noradrenalin	do 3,54 nmol/l	do 66,1 nmol/mmol kreatinina
Adrenalin	do 0,55 nmol/l	do 13,9 nmol/mmol kreatinina

Preglednica IV: Laboratorijske vrednosti metanefrina in normetanefrina (26)

	Plazma	Urin
Normetanefrin	do 200 ng/l	do 400 nmol/mmol kreatinina
Metanefrin	do 90 ng/l	do 200 nmol/mmol kreatinina

1.5 FEOKROMOCITOM

1.5.1 DEFINICIJA

Feokromocitom je redek tumor kromafinih celic sredice nadledvične žleze. Pojavlja se pri manj kot 0,1 % bolnikov s hipertenzijo. Ker je zelo redek (razširjenost je približno 2–8 na 1.000.000 odraslih) in zaradi svoje spremenljive klinične slike, je njegova diagnostika zelo težka. Bolniki so lahko povsem brez simptomov. Pojavlja se pri obeh spolih približno v enakem razmerju, vrh pojavljanja je med 40. in 50. letom starosti. Feokromocitom je po navadi unilateralen, 10 % je bilateralnega in 10–15 % ekstra-adrenalnega (27). Približno 10 % je odkritega naključno in enak delež se lahko pojavi tudi pri otrocih. Pri otrocih je 25 % feokromocitoma prisotnega bilateralno in 25 % zunaj sredice nadledvične žleze (28). *Feokromocitom sintetizira, shranjuje, presnavlja in izloča adrenalin in noradrenalin, ki sta odgovorna za tipično klinično sliko.* Tumorji, lokalizirani v nadledvični žlezi, izločajo običajno več adrenalina kot noradrenalina, tumorji zunaj nadledvične žleze pa obratno. Diagnostika feokromocitoma je izredno pomembna, saj lahko pride v primeru spregledanih kliničnih znakov tudi do smrtnega izida. Diagnoza temelji na biokemijskem določevanju nivoja adrenalina in noradrenalina ter njihovih metabolitov v urinu ali plazmi. Nediagnosticiran feokromocitom lahko povzroči smrtno nevaren porast krvnega tlaka ali motnjo srčnega ritma. Hkrati pa lahko pravilna in pravočasna diagnoza omogoča zgodnje odkrivanje malignega tumorja. Običajno zraste iz celic sredice nadledvične žleze (80 %), lahko pa tudi iz celic simpatičnega živčnega sistema (20 %). V tem primeru ga imenujemo paragangliom. Paragangliom je največkrat lociran v trebuhu, vratu, lahko pa tudi drugod po telesu (28, 40).

Feokromocitom se pojavlja večinoma sporadično (80 %), lahko pa tudi v sklopu različnih avtosomno dominantnih dednih sindromov (20 %), kot so (29):

- dominantno dedovana multipla endokrini neoplazija II: *MEN IIa* (medularni karcinom ščitnice, paratiroidna hiperplazija in bilateralni feokromocitom) ter *MEN IIb* (medularni karcinom ščitnice, bilateralni feokromocitom, multipli mukozni ganglionevromi na ustnicah, jeziku, vekah ter spremembe na skeletu);
- dominantno prenašan feokromocitom ali familiarni feokromocitom, ki se javlja bilateralno brez ostalih znakov *MEN-a*;
- neurofibromatoza von Recklinghausen tipa 1 (pogostost feokromocitoma 1 % do 25 %);
- von Hippel-Lindau sindrom s cerebelarnim hemangioblastomom, retinalnimi angiomi in policitemijo (25 % feokromocitoma) in različni familiarni sindromi z mutacijami gena za sukcinatno dehidrogenazo.

O malignem feokromocitomu govorimo, ko potrdimo prisotnost feokromocitomskih celic na mestih, kjer običajno ni kromafinega tkiva (npr. v kosteh – zasevki). Na osnovi patohistološkega izvida ni moč ločiti med malignim in benignim feokromocitomom (1).

Rakavih je samo 10 odstotkov feokromocitomov v nadledvičnih žlezah in kar 30 odstotkov tistih, ki nastanejo zunaj njih. Pri malignem feokromocitomu so metastaze razširjene v kosti, jetra, ledvice in pljuča. Ko diagnosticiramo tumor, je pomembno razlikovati med malignim in benignim, saj je maligni težje ozdravljiv oziroma ima slabo prognozo. Metastaze se po navadi razširijo v prvih dveh letih in se lahko pojavijo tudi 40 let po diagnozi. Mutacija gena *SDHB* je najpogostejši vzrok malignega tumorja. Recidivnost malignosti je 5–10 %. Večja verjetnost recidiva je pri tumorjih, katere celice vsebujejo več DNK, in pri paragangliomu. Zato je treba pri teh bolnikih izvajati redne postoperativne kontrole (30).

Ker so feokromocitomi navadno zelo majhni (v povprečju 100 g), največkrat ne pritiskajo na okoliško tkivo; zdravnik jih tudi ne otipa. Kljub temu še tako majhen feokromocitom lahko izloča dovolj adrenalina in noradrenalina, da sprožita številne težave (7).

1.5.2 KLINIČNA SLIKA IN SIMPTOMI

Feokromocitom se lahko kaže asimptomatsko in se lahko diagnosticira šele pri obdukciji. Večina simptomov in znakov je posledica presnovnih in/ali hemodinamskih učinkov čezmernega trajnega ali občasnega avtonomnega izločanja adrenalina in/ali noradrenalina. **Glavna lastnost oz. klinični znak je povišan krvni tlak**, ki pa lahko nastopa v različnih oblikah. Pri približno tretjini bolnikov je stalen in se ne razlikuje od esencialne hipertenzije. Stabilno hipertenzijo ima približno 60 % bolnikov, od katerih ima polovica tudi tipične paroksizme. Hipertenzija je zelo izrazita in odporna na terapijo. Ostalih 40 % bolnikov ima samo karakteristične napade. **Povišan krvni tlak je nujno merilo za diagnozo feokromocitoma** (31).

Feokromocitom lahko proizvaja adrenalin, čeprav večina sintetizira noradrenalin. Pri paragangliomu, tumorju, ki se nahaja zunaj nadledvične žleze, se izloča samo noradrenalin, ker ni prisotnega encima N-metil transferaza, ki noradrenalin pretvarja v adrenalin. Ta encim se nahaja le v citosolu celic sredice nadledvične žleze; v kromafinih celicah. Pri feokromocitomu je samo izločanje adrenalina redkeje, pojavlja se le pri *MEN*-sindromu. Tipični feokromocitomski napadi lahko trajajo od nekaj sekund do nekaj ur in se pojavljajo v različnih intervalih (32).

Pri opisu klasičnih simptomov feokromocitomskega napada lahko uporabimo anglosaški mnemotehnični pripomoček o »5 P«.

- Visok krvni tlak (Pressure)

Stimulacija β_1 -receptorjev povzroči povečanje MVS in periferno vazokonstrikcijo. To povzroči povišanje krvnega tlaka, ki je lahko zelo visok. Pri približno polovici bolnikov je paroksizmalen, pri polovici pa stalen. Med obdobji paroksizmalnih napadov je lahko krvni tlak zvišan ali normalen. Tudi trajne oblike zvišanega krvnega tlaka pogosto nihajo. Krvni tlak bolnikov se giblje od normalnih vrednosti do diastoličnih vrednosti čez 140 mm Hg. V povprečju znaša sistolični tlak 185 ± 5 mm Hg in diastolični 116 ± 4 mm Hg.

- Glavobol (Pain)

Zanj je značilno, da nastopa v paroksizmah, običajno je obojestranski, zatilni in/ali čelni in se od glavobolov drugega izvora razlikuje le po sočasnosti drugih znakov, ki jih tudi najdemo pri feokromocitomu. Pojavlja se pri 90 % bolnikov.

- Palpitacije, hiter in močan srčni utrip (Palpitation)
- Čezmerno znojenje (Perspiration).

Je izredno močno, običajno močnejše v zgornjem delu telesa. Kot vidnejši znak ga navaja okoli 60 do 70 % bolnikov.

- Bledica (Pallor)

Je bistveno pogostejša od rdečice (10 %).

Tahiaritmije so prisotne pri dobri tretjini bolnikov in sestavljajo skupaj z glavobolom in znojenjem tipično klinično sliko, ki mora pri bolniku s hipertenzijo takoj vzpodbuditi sum na feokromocitom. Drugi manj specifični znaki so lahko še omotičnost pri stanju, zardevanje, hladna in lepljiva koža (zaradi izrazite α -periferne vazokonstrikcije), bolečine v prsnem košu in zgornjem delu trebuha, slabost, bruhanje, tresenje, povišana telesna temperatura, izguba telesne teže, sladkorna bolezen, srčno popuščanje, motnje vida, ščemenje v prstih in zaprtje (33). Bolniki opisujejo, da imajo med napadi tudi občutek groze in tesnobe. Še pogosteje pa ti hujšajo in imajo težave z vidom in utrujenostjo (40 do 50 %). Napadi so najpogosteje spontani, lahko pa jih sprožijo psihični pretresi, nekatera živila (alkohol, sir), zdravila (nitroglicerini, zaviralci beta receptorjev) ali določena sprememba lege telesa. Pri večini bolnikov zasledimo pri kliničnem pregledu ortostatično hipotenzijo (padec sistolnega tlaka stoje za več kot 20 mm Hg spremljanega z vrtoglavico in slabostjo). To je posledica zmanjšane količine znotrajcelične tekočine in slabše reaktivnosti žilja na dodatno povišanje koncentracij adrenalina in noradrenalina pri pokončnem položaju. Pri daljši trajajočih visokih koncentracijah plazemskih koncentracij adrenalina in noradrenalina se namreč zmanjša število adrenergičnih receptorjev (»down regulation«) (1).

1.5.3 BIOKEMIČNI KAZALCI

Motnje presnove ogljikovih hidratov in zvišane koncentracije prostih maščobnih kislin so rezultat metabolne aktivnosti adrenalina in noradrenalina. Pogosto opazujemo nekoliko povečane koncentracije hemoglobina, večinoma kot posledico hemo-koncentracije, včasih pa tudi kot posledico povečanega izločanja eritropoetina. Adrenalin in noradrenalin povzročata tudi prerazporeditev med marginalnim in cirkulirajočim delom belih krvnih

telesc, kar se pokaže kot nevtrofilna levkocitoza. Prostornina plazme in celotne krvi je pri večini bolnikov zmanjšana kot posledica periferne vazokonstrikcije (7).

1.5.4 DIAGNOZA

Diagnoza sloni le na hormonskem ali biokemičnem dokazu čezmernega in/ali avtonomnega izločanja adrenalina in noradrenalina. V diagnostičnem postopku moramo najprej potrditi feokromocitom, nato pa ga še lokalizirati. Uporabljamo določitve plazemskih prostih metanefrinov in normetanefrinov, ki so najbolj občutljivi (boleznici ne moremo spregledati), vendar manj specifični (več je lažno pozitivnih rezultatov). V potrditvene namene pa določamo adrenalin in noradrenalin ter njune metabolite (metanefrin, normetanefrin in VMA) v 24-urnem urinu (20). Noben test nima 100 % občutljivosti (izključitev diagnoze v primeru negativnega rezultata) in 100 % specifičnosti (potrditev diagnoze v primeru pozitivnega rezultata). Objavljene so bile analize vseh biokemijskih testov na večjem številu bolnikov s feokromocitomom in brez njega. V teh analizah so s kombinacijo občutljivosti in specifičnosti ocenili diagnostično vrednost biokemijske diagnoze feokromocitoma (34).

Preglednica V: Občutljivost in specifičnost biokemijskih testov (25, 34, 35)

Test	Občutljivost			Specifičnost		
	Raber et al., 2000	Lenders et al., 2002	Boyle et al., 2007	Raber et al., 2000	Lenders et al., 2002	Boyle et al., 2007
Plazma						
Adrenalin in noradrenalin	82 %	84 %	76 %	100 %	81 %	88 %
Metanefrin in normetanefrin	100 %	99 %	96 %	100 %	89 %	92 %
Urin						
Adrenalin in noradrenalin	82 %	86 %	84 %	94 %	88 %	99 %
Metanefrin in normetanefrin	94 %	92 %	100 %	95 %	94 %	94 %

VMA	79 %	64 %	72 %	84 %	86 %	85 %
-----	------	------	------	------	------	------

Občutljivost določanja metanefrinov in normetanefrinov v 24-urnem urinu je 92–100 % v primerjavi z občutljivostjo adrenalina in noradrenalina v urinu 82–86 % in VMA, ki je 64–79 %. Merjenje prostih nekonjugiranih metanefrinov in normetanefrinov v urinu je priporočljiv test za detekcijo feokromocitoma zaradi njegove dobre občutljivosti in specifičnosti (94–95 %). Tudi določanje metanefrinov in normetanefrinov v plazmi ima dovolj visoko občutljivost (96–100 %), vendar ima malo slabšo specifičnost (89–100 %).

Kot nekakšen mnemotehnični pripomoček o kliničnih, patoloških in histoloških lastnostih feokromocitomov služi t. i. » približno pravilo 10« (1):

- 10 % feokromocitoma je familiarnih,
- 10 % je obojestranskih,
- 10 % je malignih,
- 10 % je multiplih,
- 10 % jih je zunaj nadledvičnih žlez,
- 10 % feokromocitoma imajo otroci.

Pri pacientih z visokim tveganjem, ki imajo persistentno hipertenzijo ali so doživeli napad hipertenzije, še posebej pri tistih, ki imajo gensko predispozicijo feokromocitoma (*MEN IIa*, *MEN IIb*, neurofibromatoza, družinska anamneza), določamo plazemske proste metanefrine in normetanefrine in s tem zagotovimo najvišjo možno občutljivost (96–100 %). Ta preiskava je uporabna zaradi visoke občutljivosti in je upravičena kljub nižji specifičnosti (89–100 %) (36).

Medtem ko pri pacientih z manjšim tveganjem in z incidentalom nadledvične žleze, uporabimo za presojanje določitev koncentracije adrenalina in noradrenalina ter njihovih metabolitov v 24-urnem urinu. Ta test ima največjo specifičnost (do 98 %) in ima sprejemljivo občutljivost (okoli 90 %). Z merjenjem adrenalina in noradrenalina v urinu merimo celotno količino hormonov, ki se sprostijo v 24 urah. Med 24-urnim zbiranjem vzorcev urina se lahko nivo hormonov zelo spreminja, kar lahko z urinskim testom tudi izmerimo. Pri preiskavi krvi gre le za enkratno odvzem vzorca in zato teh sprememb hormonov ne moremo izmeriti (posledica je lahko, da postavimo napačno diagnozo). VMA

ima najslabšo specifičnost in ima delež lažno pozitivnih rezultatov večjo od 15 % (37). Pomembno je tudi, da feokromocitom izloča običajno večje količine metanefrina in normetanefrina, ker se adrenalin in noradrenalin v celicah tumorja metabolizirata že pred sproščanjem. Proizvodnja O-metiliranih metabolitov je neodvisna od sproščanja adrenalina in noradrenalina. Če je tumor malignen, je povečana koncentracija dopamina v plazmi, medtem ko je v urinu povečana koncentracija VMA. V poštev pride tudi določanje kromogranina A (monomerni protein), ki se zaradi nizke občutljivosti in specifičnosti ne uporablja več za diagnostiko. Kromogranin se sprošča iz različnih nevroendokrinih izločevalnih veziklov, zato je povečana koncentracija pri neoplaziji. Določevanje nivoja kromogranina A je pomembna predvsem pri diagnozi malignega feokromocitoma (32).

Adrenalin, noradrenalin, metanefrin in normetanefrin najpogosteje določamo v 24-urnem urinu.

Preglednica VI: Občutljivost in specifičnost določanja adrenalina in noradrenalina ter metanefrina in normetanefrina v 24-urnem urinu (38)

24-urni urin	Občutljivost	Specifičnost
Adrenalin	75,4 %	89,3 %
Noradrenalin	87,7 %	82,3 %
Metanefrin in normetanefrin	94,7 %	92,6 %

Iz podatkov v Preglednici VI vidimo, da je največja občutljivost in specifičnost pri določanju prostih metanefrinov in normetanefrinov v 24-urnem urinu v primerjavi z merjenjem koncentracije adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu.

Med zbiranjem vzorcev urina bolnik ne sme biti pod vplivom stresa, fizičnega napora in ne sme jemati zdravil, ki lahko vplivajo na lažno pozitivne rezultate. Pri bolnikih s paroksizmalno hipertenzijo je potrebno zbiranje urina začeti takoj, ko se napad začne. Pri vrednotenju rezultatov moramo biti pozorni na vplive nekaterih zdravil (metildopa, levodopa, labetalola, nifedipina, propranolola, TCA, antipsihotikov, fenoksibenzamina, inhibitorjev MAO, antagonistov kalcija, dihidropiridina in paracetamola). Najbolj je treba biti pazljiv pri jemanju zdravil za zdravljenje visokega krvnega pritiska. Metildopa in

nifedipin lahko zvišata koncentracijo adrenalina in noradrenalina ter metanefrina in normetanefrina v seču, medtem ko propranolol lahko zniža koncentracijo. Ta zdravila lahko povzročijo lažno pozitivne rezultate tudi do dva tedna po prenehanju jemanja. Endogene vrednosti adrenalina in noradrenalina so lahko povečane tudi kot posledica hipoglikemije, fizičnega napora, stresa ali zaradi hitre prekinitve terapije s klonidinom (20).

Preglednica VII: Učinkovine, ki motijo določanje adrenalina, noradrenalina, metanefrina in normetanefrina (33)

Učinkovine, ki motijo merjenje adrenalina, noradrenalina, metanefrina in normetanefrina	Učinki
TCA	Blokirajo ponovni privzem noradrenalina. Posledica tega je povišana koncentracija noradrenalina v plazmi in povišana koncentracija noradrenalina, normetanefrina in VMA v urinu.
Fenoksibenzamin	Blokira α_2 -adrenergične receptorje, kar ima za posledico povišanje plazemske koncentracije noradrenalina in povišanje koncentracije noradrenalina, normetanefrina in VMA.
Inhibitorji MAO	Blokirajo deaminacijo, kar povzroči do 5x povečanje koncentracije metanefrina v plazmi in urinu.
Levodopa	Presnavlja se z encimi, ki sodelujejo tudi pri adrenalinu in noradrenalinu.
α -metildopa	Presnavlja se z encimi, ki sodelujejo tudi pri adrenalinu in noradrenalinu.
Stimulanti (kava, nikotin)	Povečajo izločanje adrenalina in noradrenalina v plazmi in urinu.
Simpatomimetiki (amfetamini, efedrin)	Povečajo izločanje adrenalina in noradrenalina v plazmi in urinu.
Ca-antagonisti (dihidropiridin)	Zaradi simpatične aktivacije poviša koncentracijo adrenalina in noradrenalina v plazmi.

Rezultat biokemičnega testa je dvomljiv pri približno 1/3 bolnikov z visokim tveganjem. V tem primeru lahko naredimo *supresijski test s klonidinom*. Ob spremljanju plazemskih koncentracij adrenalina in noradrenalina blokiramo s klonidinom centralno stimulacijo

simpatičnega sistema. Pacientom damo 0,3 mg/70 kg telesne teže klonidina peroralno 2–3 ure pred odvzemom vzorca. Pri bolnikih, ki imajo zmerno povišane koncentracije adrenalina in noradrenalina, se vrednosti lahko znižajo in rezultat je lahko lažno negativen. Lažno pozitivni rezultat se lahko dobi pri bolnikih, ki jemljejo diuretike in TCA (39).

Pri normotenzivnih bolnikih, pri katerih sumimo na feokromocitom z občasnim izločanjem adrenalina in noradrenalina, pa lahko naredimo tudi *stimulacijski test z glukagonom*. Intravensko vbrizgavanje glukagona pri zdravih ljudeh ne privede do pomembnega zvišanja plazemskih koncentracij adrenalina in noradrenalina. Test z glukagonom je relativno nevaren in ne omogoča pomembnih informacij, zato se ne uporablja več tako pogosto (40).

1.5.5 LOKALIZACIJA FEOKROMOCITOMA

Po biokemijski diagnozi feokromocitoma sledijo lokalizacijske preiskave, in sicer zaradi možnosti, da ima en bolnik istočasno več tumorjev (tumor zunaj nadledvičnic ali metastatski feokromocitom – približno 10 %). 90 % feokromocitoma je lokaliziranega v sredici nadledvične žleze in se ga lahko odkrije z eno od treh najpogostejših metod: **CT (računalniška tomografija)**, **MRI (slikanje z magnetno resonanco)** ali s **scintigrafijo z označenim meta-jodo-benzil-gvanidinom (131I-MIBG)**. Kadar je feokromocitom lociran zunaj sredice nadledvične žleze, je v 95 % primerih lociran v abdomnu. Pri nosečnicah, otrocih, dojenčkih in kadar je tumor lokaliziran na vratu, lahko uporabimo tudi **ultrazvočno preiskavo**. CT in MRI so visoko občutljive metode in niso dobro specifične, ker z njimi lahko lokaliziramo marsikateri tumor ali poškodbo. CT lahko pokaže tumor, ki je večji od 1 cm, s 87–100 % občutljivostjo. MRI je bolj učinkovita v razlikovanju tumorjev nadledvične žleze od feokromocitoma in nam prikaže boljšo sliko feokromocitoma v T-2 sekvenci. MRI je tudi bolj specifična in z njo lahko odkrijemo metastaze, še posebno v jetrih in v limfnih žlezah. Občutljivost MRI- (93-100 %) pa ni nič večja od občutljivosti CT-preiskave. Obe metodi zaznavata predvsem morfološke spremembe (41). Glede na veliko pogostost slučajno odkritih nefunkcionalnih tumorjev nadledvičnih žlez pa morfoloških sprememb ne smemo že vnaprej enačiti z lokalizacijo feokromocitoma. Zato naredimo **scintigrafijo z označenim meta-jodo-benzil-**

gvanidinom (131I – MIBG), ki se kopiči v kromafinem tkivu hitreje kot v normalnem tkivu. Šele če se mesto kopičenja MIBG prekriva z mestom morfoloških sprememb, smo lahko v veliki meri prepričani, da smo ugotovili mesto feokromocitoma. Scintigrafija z 131I – MIBG ima visoko specifičnost (98 %), medtem ko je občutljivost te metode manjša (77–88 %). Uporabna je pri tumorjih, ki so lokalizirani zunaj nadledvične žleze, in pri malignem feokromocitomu. Najpogosteje se uporablja meta-jodo-benzil-gvanidin, označen z jodom 131 (131-I) (39, 41). V svetu pa se vse pogosteje uporablja tudi meta-jodo-benzil-gvanidin, označen z jodom 132 (132-I). Ta metoda je posebno uporabljena pri detekciji metastaz in paraganglioma. Scintigrafije ni treba opraviti v primeru, ko je tumor sporadičen in manjši od 5 cm ter lokaliziran le v eni nadledvični žlezi. Omejitve naštetih metod so bile vzrok za vrednotenje in uporabo tudi drugih metod. Če je rezultat negativen, pride v poštev **scintigrafija z označenim sintetičnim analogom somatostatina (scintigrafija s 111In – okreotidom)**. Ta metoda se je pokazala kot manj uspešna zaradi anatomskih dejavnikov in ekspresije somatostatinskih receptorjev. V nekaterih centrih se uporablja kot dodatna metoda skupaj z 131I – MIBG za odkrivanje metastaz. Je visoko občutljiva v odkrivanju paraganglioma v predelu glave in vrata (42). Poleg scintigrafije vse pogosteje uporabljamo tudi **pozitronsko emisijsko tomografijo (PET)**. Prednost te metode je boljša resolucija in nizka radioaktivnost v primerjavi s scintigrafijo. Za lokalizacijo feokromocitoma najpogosteje uporabljamo ¹¹C-hidroksiefedrin in 6-(¹⁸F) fluorodopamin (43).



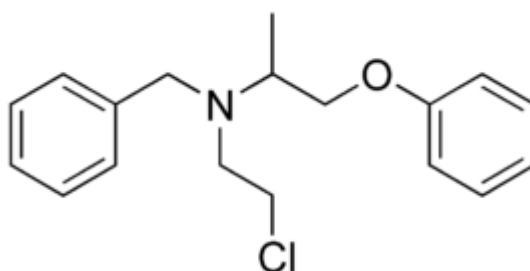
Slika 8: Leva stran nadledvične žleze je prizadeta s heterogenim tumorjem (44)

1.5.6 ZDRAVLJENJE

Zdravljenje poteka kirurško. Metoda prvega izbora za tumorje, manjše od 8 cm, je laparoskopna adrenalektomija, vendar šele po temeljiti 2- do 3-tedenski predoperativni

pripravi pacienta z zdravili, ki zavirajo delovanje adrenalina in noradrenalina, s čimer zmanjšamo adrenergične vplive in postoperativno hipotenzijo. Visoka raven adrenalina in noradrenalina med operacijo bi lahko bila zelo nevarna. V predoperativnem obdobju in do trenutka odstranitve feokromocitoma bolnika ogrožata predvsem visok krvni tlak in nagnjenost k motnjam srčnega ritma (33).

Najpogosteje uporabljamo adrenergične antagoniste, s katerimi reguliramo krvni pritisk in preprečimo hipertenzivno krizo. Kot α -blokator najpogosteje uporabljamo **fenoksibenzamin**, ki je ireverzibilni nekompetitivni antagonist podaljšanega delovanja (razpolovni čas je 36 ur), v dnevni priporočeni količini od 30 do 80 mg. Začetna priporočena doza je 20 mg/dan, ki se na vsake nekaj dni poveča za 10-20 mg. Predoperativna priprava traja toliko časa, dokler se krvni tlak ne normalizira in uravna ortostatska hipotenzija.



Slika 9: Struktura fenoksibenzamina

Stranski učinek neustrezne količine fenoksibenzamina vključuje postoperativno hipotenzijo, refleksno tahikardijo, zamašitev nosu in suha usta. Pri pacientih, ki ne prenašajo fenoksibenzamina, lahko kot α_1 -selektivni antagonist uporabimo tudi **doksazosin** (priporočen odmerek 2 do 8 mg enkrat dnevno) ali **prazosin** (priporočen odmerek 0,5 do 16 mg 3-4 krat dnevno). Prazosin povzroča manj tahikardij in ima kratek čas delovanja (19, 39). Morebitno akutno hipertenzivno krizo, ki se lahko pojavi pred ali med operacijo, uspešno obvladamo tudi z nitroprusidom intravensko, medtem ko fentolamina v Sloveniji že dalj časa ni na voljo. Po α -blokadi v primeru pojave tahikardije in aritmije lahko uvedemo še majhne doze β -blokatorja. Če je β -blokator prvo zdravilo, ki ga dobi bolnik s feokromocitomom, pride do vazokonstrikcije in dodatnega porasta krvnega tlaka, zato je tak postopek kontraindiciran.

Kot β -blokatorje uporabljamo atenolol (priporočen odmerek 50–100 mg dnevno), metoprolol (priporočen odmerek 50–200 mg dnevno), labetalol (priporočen odmerek 100–400 mg dnevno) ali propranolol (priporočen odmerek 40 do 120 mg dnevno). Alfa in beta blokatorje lahko kombiniramo tudi z ostalimi antihipertenzivi. S tem dosežemo normalizacijo krvnega tlaka. Vazodilatacija privede do hemodinamičnih sprememb, žile se počasi napolnijo in znotrajžilna prostornina se normalizira (39, 45). Ko dosežemo ustrezne kriterije predoperativne priprave (to je znižanje krvnega tlaka pod 160/90 mmHg, krvni tlak v pokončnem položaju pa ne sme pasti pod 80/45 mmHg), sledi operativni poseg.

Zadnje čase največ uporabljamo laparoskopsko metodo, ki omogoča krajši čas bivanja v bolnici in hitrejše okrevanje. Po navadi odstranimo celotno nadledvično žlezo, če je tumor bilateralni. Intravensko dodamo dekstrozo, da preprečimo hipoglikemijo, ki se pogosto pojavi, ko se tumor odstrani. Vrednost adrenalina in noradrenalina se 7 dni po operativnem posegu normalizira. Pritisk se normalizira pri 3/4 uspešno operiranih pacientih, pri ostalih imamo opravka z esencialno ali ireverzibilno hipertenzijo. V postoperativnem času je treba spremljati pacienta v primeru pojava hipotenzije, hipertenzije ali hipoglikemije. Postoperativna hipotenzija (ki je posledica odstranitve tumorja in padca nivoja adrenalina in noradrenalina) zahteva obilno nadomeščanje tekočine, hipoglikemijo pa preprečimo z infuzijo glukoze. Smrtnost med posegom je 0–3 %. Najpogostejši vzrok smrti med operacijo ali po njej je nemogoča kontrola hipertenzivne krize po uvedbi anestezije, zaradi arterijske hipotenzije po odstranitvi tumorja ali zaradi aritmije med anestezijo (39, 43).

Pri malignem feokromocitomu ni učinkovitega zdravljenja. Za zdravljenje **malignega feokromocitoma** najpogosteje uporabljamo **fenoksibenzamin**.

Pogosto ga zdravimo tudi z **α -metil tirozinom**, ki je inhibitor tirozin hidrosilaze in zmanjša nastajanje adrenalina in noradrenalina. Uporabljamo ga pri zdravljenju bolnikov z visoko koncentracijo adrenalina in noradrenalina. Dnevni priporočeni odmerek je 0,25–1 g 4-krat na dan. Neželeni učinki so lahko sedacija, strah, diareja, utrujenost in ekstrapiramidalne motnje. Maligni feokromocitom je treba odstraniti, prav tako tudi zasevke (39). Če se je že razširil, njegovo razraščanje zaustavimo s kemoterapijo. Citostatično zdravljenje (ciklofosfamid, vinkristin in dakarbazin) je dokaj neuspešno, saj dosežemo večinoma prehoden uspeh le pri 40 % bolnikov (28). Podobno uspešnost navajajo za zdravljenje z visokimi odmerki radioaktivnega MIBG. Bolniku apliciramo

¹³¹I – MIBG v večji dozi, kot je diagnostična doza, in radiofarmacevtik se kopiči v tkivih. Ker so maligni feokromocitomi grajeni iz slabše diferenciranih celic, ki imajo okvarjen mehanizem sinteze in skladiščenja adrenalina in noradrenalina, vsi bolniki ne kopičijo dovolj MIBG. Običajna aktivnost apliciranega radiofarmaka je 150 do 210 mCi, aplikacije ponovimo v intervalih 3–5ih mesecev (46).

1.5.7 POTEK IN PROGNOZA

Po uspešni operaciji pri približno 90 % dosežemo normalizacijo krvnega tlaka. Pri nekaterih bolnikih (10 %), zlasti pri tistih, ki so imeli feokromocitom v sklopu prirojenih bolezni oz. sindromov ali paraganglioma, se tumor lahko ponovi. 5-letno preživetje je okoli 95 % in možnost recidiva bolezni je manjša od 10 %. Pri postoperativnem spremljanju pacientov priporočamo kontrolo vrednosti adrenalina in noradrenalina 6 tednov po operaciji in še eno kontrolo po 6 mesecih. V vsakem primeru je potrebno dolgoletno spremljanje pacienta.

Slabša pa je prognoza pri malignih feokromocitomih, kjer je 5-letno preživetje med 40 in 50 % (39).

2. NAMEN DELA

V diplomski nalogi bomo statistično ovrednotili rezultate meritev koncentracije adrenalina in noradrenalina z namenom, da bi ugotovili klinično uporabnost merjenja adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu pri diagnostiki feokromocitoma. Naše hipoteze so:

- Predpostavljamo, da bodo vrednosti adrenalina in noradrenalina višje pri bolnih pacientih.
- Predpostavljamo, da bodo vrednosti adrenalina in noradrenalina višje na *KO za endokrinologijo*, kjer je feokromocitom na novo odkrit.
- Izračunali bomo diagnostično občutljivost in specifičnost metode.

3. EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 OPIS SKUPINE PACIENTOV

V letu 2010 je bilo na *Klinični oddelek za endokrinologijo v Kliničnem centru v Ljubljani* sprejetih 289 pacientov in na *Klinični oddelek za hipertenzijo v Kliničnem centru* 132 pacientov. Skupaj je bilo obravnavanih 421 pacientov. Vsem pacientom smo s HPLC metodo z ECD izmerili vrednosti adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu.

Skupaj je bilo 32 pacientov s potrjeno diagnozo feokromocitoma (tj. *bolni pacienti*). 389 pacientov pa ni imelo potrjene diagnoze feokromocitoma (tj. *zdravi pacienti*).

Na *klinični oddelek za endokrinologijo* je bilo sprejetih 289 pacientov. V skupini je bilo 109 pacientov moškega in 180 pacientov ženskega spola. Skupina pacientov je imela povprečno starost 57,3 leta; od tega so imele ženske povprečno 57,5 leta (najmlajša pacientka je imela 20 let, najstarejša pa 89 let), moški pa 56,9 leta (najmlajši je imel 16 let, najstarejši pa 89 let).

Na *kliničnem oddelku za hipertenzijo* pa je bilo sprejetih 132 pacientov. V skupini je bilo 36 pacientov moškega in 96 pacientov ženskega spola. Skupina pacientov je imela povprečno starost 60,5 leta; od tega so imele ženske povprečno 60,4 leta (najmlajša je imela 24 let, najstarejša pa 86 let), moški pa 46,4 leta (najmlajši je imel 20 let, najstarejši pa 74 let).

3.2 OPIS ZBIRANJA VZORCEV

V 24-urnem urinu smo merili koncentracijo adrenalina in noradrenalina. Za analizo uporabimo urin, ki ga zbiramo v posebno posodo za zbirni urin. Vzorcju 24-urnega urina (celotni zbrani količini urina v 24 urah) dodamo 10 ml konzervansa (25 % HCl) in zaščitimo pred svetlobo. Takšne vzorce lahko hranimo v hladilniku en teden. Za analizo potrebujemo 12 ml vzorca. Referentne vrednosti adrenalina in noradrenalina podamo na mmol kreatinina, zato moramo izmeriti tudi vrednosti kreatinina. Kreatinin določamo tudi

v zbirnem urinu. Z določanjem koncentracije kreatinina v urinu preverimo popolnost zbiranja vzorcev urina in normaliziramo izračune. Na ta način lahko bolj točno ocenimo izločanje posamezne snovi z urinom.

3.3 METODE IN MATERIALI ZA DOLOČANJE KREATININA

3.3.1 DOLOČANJE KREATININA V URINU

Z uporabo avtomatiziranega sistema Dimension® Xpand smo določili koncentracijo kreatinina v vzorcih urina spektrofotometrično z uporabo kinetične **Jaffejeve reakcije**. Kreatinin v vzorcu reagira z alkalno raztopino soli pikrinske kisline in nastane rdečeoranžen barvni kompleks. Izmerjena absorbanca pri 510 nm je sorazmerna s koncentracijo kreatinina v vzorcu (47).

3.3.1.1 PRINCIP JAFFEJEVE REAKCIJE

V kliničnih laboratorijih za določanje koncentracije kreatinina najpogosteje uporabljamo metodo z uporabo pikrata ali t. i. **Jaffejevo metodo**. Danes je sicer uporabljena v modificirani obliki. Pri tej reakciji kreatinin reagira z Na-pikratom, kjer nastane kompleks kreatinin-pikrat, ki je rdečeoranžno obarvan. Izmerjena absorbanca pri 510 nm je sorazmerna s koncentracijo kreatinina v vzorcu (48). Bistvenega pomena je koncentracija NaOH, ki ne sme biti višja od 1 mmol/l, ker višja koncentracija destabilizira končni kompleks in ovira reakcijo. Metoda je nespecifična. Problem je, da na enak način kot kreatinin reagirajo številne endogene snovi, ki so normalno prisotne v serumu.

Lažno pozitivne rezultate dajejo proteini, glukoza, askorbinska kislina, α -ketokislina, aceton, sečna kislina ipd. Imenujemo jih psevdokreatinini in lažno zvišajo koncentracijo kreatinina za okoli 20 %. Lažno negativne rezultate pa daje bilirubin. Izboljšanje specifičnosti in zmanjšanje vpliva interferenc dosežemo s kinetično modifikacijo (49).

3.3.2 INSTRUMENTI IN MATERIALI

Vzorčenje, dodajanje reagentov, mešanje, določanje in izpisovanje rezultatov je samodejno izvršil aparat Dimension® Xpand (47).



Slika 10: Aparat Dimension® Xpand (50)

3.3.2.1 REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE

Uporabili smo Creatinine flex® reagent cartridge (Kat. št. DF33A) Siemens, ki vsebuje:

- litijev pikrat, 25 mmol/l,
- NaOH, 100 mmol/l,
- $K_3Fe(CN)_6$, 0,13 mmol/l,
- Dade® Tru-Liquid® Urine, liquid assayed urine control (Kat. št. B5230), Siemens,
- CHEM I calibrator (Kat. št. DC18A), Siemens.

Reagenti in kontrole so tekoči in pripravljene za uporabo, razen kalibratorjev (47).

3.3.2.2 KALIBRACIJA

Osnovni pomen redne kalibracije inštrumentov je trajno zagotavljanje specificiranih karakteristik in sledljivosti merilnih rezultatov. Poleg osnovnega namena redni pregledi omogočajo možnost vnaprej napovedane potrebe po menjavi delov, ki se obrabijo.

Kalibriramo z referentnimi kalibratorji za vsako novo serijsko število (lot) reagenta oz. vsake 3 mesece za isto serijsko število reagenta v skladu z navodili proizvajalca (47).

3.3.2.3 PODAJANJE REZULTATOV

Rezultate podamo v mmol/l. Orientacijske referentne vrednosti množine izločenega kreatinina z urinom so: za ženske 7,5–12,5 mmol/dan in moške 10,0–18,0 mmol/dan (47).

3.3.2.4 VZDRŽEVANJE SISTEMA

Vzdrževanje sistema in ravnanje v primeru težav je opredeljeno v Navodilih za delo z Dimension® Xpand s prilogami Dnevno vzdrževanje, Zamenjava kasete s filmom, Zamenjava diafragme. Vzdrževanje se dokumentira in obvesti odgovornega vodjo skupine ali vodjo laboratorija v primeru kakršnih koli težav in odstopanj od postavljenih kriterijev za optimalno delovanje sistema (47).

3.3.2.5 VALIDACIJA IN ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

Validacija je dokumentiran postopek preizkušanja in potrjevanja, da kateri koli material, proces, postopek, aktivnost, sistem, oprema ali mehanizem, uporabljen pri razvoju, proizvodnji, kontroli in distribuciji, lahko dosega in bo dosegal predpisane rezultate.

Postopek validacije z zahtevanimi parametri je opisan potom proizvajalca (Dimension® sistem manual). Kakovost predanalitske, analitske in postanalitske faze postopka zagotovimo z ustreznimi navodili (Navodilo za pripravo vzorcev, Navodilo za delo z Dimension® Xpand). Zagotavljanje kakovosti metode določanja beljakovin dokumentiramo in arhiviramo. Tehnik obvesti odgovornega vodjo skupine ali vodjo laboratorija v primeru sprememb in težav, ki jih ne more odpraviti sam, in odstopanj od postavljenih kriterijev kakovosti (47).

3.4 METODE IN MATERIALI ZA DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA

Laboratorij za analitiko urina in spremljanje koncentracije zdravil Kliničnega centra v Ljubljani uporablja za določanje adrenalina in noradrenalina ter njunih metabolitov v urinu HPLC sistem Surveyor proizvajalca Thermo Finnigan z elektrokemijskim detektorjem.

3.4.1 DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA S HPLC

Iz zmesi vzorca urina smo ekstrahirali adrenalin in noradrenalin z vezavo na trdni izmenjevalec v koloni in jih naknadno sprali z destilirano vodo visoke čistoče. Eluat smo prenesli na HPLC sistem. Z uporabo ionsko izmenjevalne tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) z reverzno fazo z elektrokemično detekcijo smo izvedli separacijo vzorca. Nato smo s pomočjo zunanega standarda določili količino adrenalina in noradrenalina v urinu (51, 52).

3.4.1.1 PRINCIP METODE HPLC

Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) je kolonska kromatografija, pri kateri za stacionarno fazo uporabljamo zelo majhne delce (od 0,5 do 10 μm). Če želimo, da bo pretok skozi takšno kolono od 0,5 do 5 ml/min, moramo mobilno fazo potiskati skozi kolono z visokotlačno črpalko (200–400 barov). Pri tekočinski kromatografiji visoke ločljivosti raztopino substanc injiciramo na kromatografsko kolono, ki je napolnjena z različnimi polnili. Skozi kolono vodimo topilo (mobilna faza), ki ne reagira s polnilom (stacionarna faza). Topilo prenese zmes substanc skozi kolono (54).

Molekule se stalno izmenjujejo med mobilno in stacionarno fazo na svoji poti skozi kolono, pri čemer se premikajo le v mobilni fazi, v stacionarno fazo pa mirujejo. V koloni lahko potekajo različni separacijski postopki: adsorpcija, porazdelitev in ločitev na osnovi velikosti molekul. Cilj/namen tekočinske kromatografije je fizično ločiti posamezne komponente vzorca, da jih lahko identificiramo in določimo njihovo koncentracijo.

Kakovost ločbe je odvisna od različnih dejavnikov (53):

- izbire stacionarne faze,
- sestave mobilne faze,
- dimenzije sistema (predvsem kolone),
- temperature kolone ...

Danes je na voljo mnogo stacionarnih faz za delo v tekočinski kromatografiji. Na razpolago imamo adsorpcijske stacionarne faz, kot je silikagel, reverzne faze vseh velikosti delcev z vezanimi različnimi skupinami, ionske izmenjevalce, posebne permeabilne stacionarne faze in vedno bolj uporabljane kiralne stacionarne faze. Pri določanju adrenalina in noradrenalina smo uporabili ionsko izmenjevalno tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti z reverzno fazo. O reverzni kromatografiji govorimo, ko imamo nepolarno stacionarno fazo in polarno mobilno fazo. Stacionarna faza je silikagel, ki je derivatiziran s hidrofobnima oktilno ali oktadecilno skupino. Mobilna faza je acetonitril z dodatkom trifluoroocetne kisline (TFA) (54).

HPLC sistem mora imeti naslednje komponente (53):

- rezervoar za mobilno fazo,
- črpalko,
- injektor,
- kromatografsko kolono,
- detektor,
- instrument za zapis signala.

3.4.1.2 PRINCIP ELEKTROKEMIJSKEGA DETEKTORJA ZA DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA

Osnovni parametri, ki narekujejo izbiro detektorja, so fizikalno-kemijske lastnosti substance, ki bi jo radi analizirali. Nekatere molekule imajo skupine, ki tvorijo redoksi pare (elektroforje). Takih molekul ni veliko. V to skupino spada nekaj zelo pomembnih substanc, kot so **kateholamini** in kinoni. V teh primerih imamo na razpolago zelo specifične in izredno občutljive **elektrokemijske detektorje**. Elektrokemijski detektor

reagira s spojinami, ki so oksidanti ali reducenti, in tako se zaradi toka elektronov, ki se pojavi zaradi kemijske reakcije, na površini elektrod spremeni električna napetost. Detektor ima običajno tri elektrode: delovno (kjer se izvaja redukcija ali oksidacija), protielektrodo in referenčno elektrodo. Elektrokemijska pretvorba posamezne substance na delovni elektrodi vodi do korelacije sproščanja oz. dodajanja elektronov (ali poteče oksidacija ali redukcija). Tok, ki priteče do celice, je proporcionalen koncentraciji analita, ki gre skozi celico. To pa posname detektor (55).

3.4.2 INSTRUMENTI IN MATERIALI

Za izvedbo HPLC metode smo uporabili (51, 52):

- HPLC sistem Surveyor proizvajalca Thermo Finnigan ali Thermo Scientific: avtomatski vzorčevalnik in črpalko,
- elektrokemijski detektor Recipe,
- računalnik s programsko opremo ChromQuest,
- Sample Vials 1,5 ml, ustrezne pipete, epruvete.



Slika 11: HPLC sistem Surveyor proizvajalca Thermo Finnigan (56)

3.4.2.1 REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE

Komercialno pripravljene kompleti proizvajalca Clin Rep® za določevanje adrenalina in noradrenalina v urinu za 100 testov vsebujejo (51, 52):

- mobilno fazo (1000 ml),

- standardno raztopino (10 ml),
- Interni Standard IS (3 ml),
- liofiliziran kalibrator (5 x 8 ml),
- stabilizacijski reagent S (500 ml),
- eluacijski reagent E (300 ml),
- kolone za vzorce (50 kosov),
- kontrolo I; liofilizirana (10 x 8 ml),
- kontrolo II; liofilizirana (10 x 8 ml).

Kontrolo postopka predstavljajo kalibratorji, katerih vrednosti so podane s strani proizvajalca Clin Rep®.

3.4.2.2 KALIBRACIJA

Kalibracijo izvedemo z referenčnimi standardi pred začetkom dela in po potrebi med delom v skladu z navodili proizvajalca (Instruction Manual for the Determination of Catecholamines in Urine by HPLC, Recipe).

Kalibrator pripravimo tako, da dodamo 8 ml 0,2M HCl, komercialno pripravljenemu kalibratorju ClinCal® iz kompleta proizvajalca Clin Rep® in stresamo 10 minut na stresalniku. Ko se kalibrator popolnoma raztopi, je pripravljen za uporabo. Pred apliciranjem kalibratorja v aparat dodamo še 30 µl raztopine IS in 10 ml stabilizacijskega reagenta S. Kalibratorji so izdelani iz humanega urina, ki je potencialno kužni material. Originalno zaprt kalibrator hranimo pri 4 °C do datuma uporabe (51, 52).

3.4.2.3 PRIPRAVA KONTROL ZA HPLC

Kontrole ClinCheck® proizvajalca Clin Rep® uporabljamo za notranje zagotavljanje kontrole na aparatu. Liofilizirane kontrole so pripravljene na osnovi humanega urina in zajemajo normalne in patološke vrednosti. Komercialni kontroli dodamo 8 ml 0,2M HCl in mešamo 15 minut. Pred apliciranjem kontrole v aparat dodamo še 30 µl raztopine IS in 10 ml stabilizacijskega reagenta S. Originalno zaprt kalibrator hranimo pri 4 °C do datuma uporabe (51, 52).

3.4.2.4 DELOVNI POSTOPEK

3.4.2.4.1 *Predpriprava vzorca*

Za analizo adrenalina in noradrenalina s HPLC metodo smo uporabili 24-urni urin, kjer smo kot konzervans dodali 10 ml 25 % HCl in zaščitili pred svetlobo. Čas za izvedbo preiskave je do 7 delovnih dni po odvzemu vzorca.

V epruveto smo pipetirali 5 ml stabilizacijskega reagenta S (Stabilizing reagent), 3 ml vzorca urina (kontrola, standarda), 30 µl internega standarda ter premešali. Stabilizacijski reagent služi za uravnavo pH vzorca in vsebuje barvni indikator. Kadar je raztopina rumena je pH ustrezen (2,0–5,0). Če je treba, pa pH uravnamo z natrijevim hidroksidom ali klorovodikovo kislino do rumene barve vzorca. Kolono s trdnim izmenjevalcem smo pretresli, namestili v stojalo, odstranili zamašek in odlomili konico kolone (da pufer popolnoma odteče). Na kolono smo zlili vsebino epruvet z vzorcem (kontrola, standardom), IS in stabilizacijskim reagentom. Počakali smo, da tekočina popolnoma odteče, in eluat zavrgli. Na kolono smo nato nalili destilirano vodo visoke čistoče, s katero smo sprali kolono. Počakali smo, da je tekočina popolnoma odtekla in nato eluat zavrgli. Pod kolono smo postavili označene prazne epruvete in vzorec eluirali s 6 ml eluacijskega reagenta E (Eluting Reagent). Epruveto z eluatom smo pretresli in uporabili za HPLC analizo (51, 52).

3.4.2.4.2 *HPLC analiza*

Za pripravo, rokovanje in vzdrževanje HPLC sistema smo upoštevali Navodila proizvajalca HPLC sistema Thermo Finnigan ali Thermo Scientific, Navodila za uporabo programske opreme – ChromQuest, Finnigan ChromQuest Chromatography Workstation User's guide, Instruction Manual for the Determination of Catecholamines in Urine by HPLC, Recipe. Pogoji merjenja s HPLC metodo so bili:

- nastavitev pretoka mobilne faze: 1,0 ml/min,
- velikost zanke za vzorec: 20 µl,

- temperatura kolonskega termostata: 30 °C,
- potencial detektorja: 500 mV,
- občutljivost detektorja: 10 nA.

Eluate (standardno raztopino, kontrolo, vzorce) smo pipetirali v vialo in vstavili v stojala avtomatskega vzorčevalnika. Po pripravljeni metodi programa ChromQuest se je vzorec samodejno injiciral na HPLC kolono in detektiral z elektrokemijsko detekcijo (51, 52).

3.4.2.5 PODAJANJE REZULTATOV

Merili smo spremembo elektrokemijskega potenciala, izraženo v površini pikov na kromatogramu. Za vsak vzorec (standard) smo identificirali vrh za:

- adrenalin (njegov retencijski čas je okoli 6,1 minute),
- noradrenalin (njegov retencijski čas je okoli 5,1 minute).

Program je integriral površino pika za adrenalin/noradrenalin in izračunal koncentracijo adrenalina/noradrenalina s pomočjo eksterne kalibracije, tj. primerjal je površino pika adrenalina/noradrenalina s površino pika standarda (51, 52).

3.4.2.5.1 Podajanje rezultata za adrenalin

Za 24-urni urin:

- koncentracija adrenalina x prostornina (dU) (l) = količina adrenalina izločenega v 1 dnevu (nmol/dan).

Preračunamo na količino kreatinina v urinu:

- količina adrenalina, izločena v 1 dnevu (nmol/dan)/kreatinin (mmol/dan).

Rezultate izrazimo v nmol/mmol kreatinina:

- referenčne vrednosti za adrenalin so do 13,9 nmol/mmol kreatinina (51, 52).

3.4.2.5.2 Podajanje rezultata za noradrenalin

Za 24-urni urin:

- koncentracija noradrenalina x prostornina (dU) (l) = količina noradrenalina izločenega v 1 dnevu (nmol/dan).

Preračunamo na količino kreatinina v urinu:

- količina noradrenalina, izločena v 1 dnevu (nmol/dan)/kreatinin (mmol/dan).

Rezultate izrazimo v nmol/mmol kreatinina:

- referenčne vrednosti za noradrenalin so do 66,1 nmol/mmol kreatinina (51, 52).

3.4.2.6 VZDRŽEVANJE SISTEMA

Vzdrževanje sistema in ravnanje v primeru težav je opredeljeno v navodilih proizvajalca Thermo Finnigan, Thermo Scientific in Recipe (Instruction Manual for the Determination of Catecholamines in Urine by HPLC, Recipe). Vzdrževanje dokumentiramo in obvestimo odgovornega vodjo skupine ali vodjo laboratorija v primeru kakršnih koli težav in odstopanj od postavljenih kriterijev za optimalno delovanje sistema (51, 52).

3.4.2.7 VALIDACIJA IN ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

Kakovost predanalitske, analitske in postanalitske faze postopka je zagotovljena z ustreznimi navodili (Navodila proizvajalca Thermo Finnigan, Thermo Scientific, Instruction Manual for the Determination of Catecholamines in Urine, Recipe). Zagotavljanje kakovosti metode določanje adrenalina/noradrenalina dokumentiramo in arhiviramo. Tehnik obvesti odgovornega vodjo skupine ali vodjo laboratorija v primeru sprememb in težav, ki jih ne more odpraviti sam, in odstopanj od postavljenih kriterijev kakovosti (51, 52).

4. REZULTATI

4.1 REZULTATI MERITEV ADRENALINA IN NORADRENALINA V 24- URNEM URINU S HPLC METODO

Rezultate meritev adrenalina in noradrenalina smo razdelili v dve Preglednici. Preglednici 1. in 2., ki sta v Prilogi, prikazujeta vrednosti koncentracije adrenalina in noradrenalina, datum rojstva, spol, starost in iz katerega oddelka so pacienti.

V prvo Preglednico smo vključili paciente, ki so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*. Njim ni bila potrjena diagnoza feokromocitoma (tj. **zdravi pacienti**). V drugo Preglednico pa smo vključili paciente, ki so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*. Tem pacientom pa je bila potrjena diagnoza feokromocitoma (tj. **bolni pacienti**). Z računalniškim programom SPSS smo statistično obdelali rezultate in opredelili postavljene hipoteze glede na dobljene in izračunane rezultate.

4.2 OBDELAVA REZULTATOV

Dobljenim rezultatom koncentracije adrenalina in noradrenalina smo najprej izračunali mediano. Mediano smo računali pri zdravih in bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na obeh oddelkih skupaj in posamezno za vsak oddelek. Mediana je tista vrednost statistične spremenljivke, od katere ima polovica enot manjšo vrednost in polovica enot večjo vrednost. Ker imamo nenormalno porazdeljene podatke, smo uporabili mediano. Zanimalo nas je, ali obstajajo statistično značilne razlike v vrednosti adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti, ki so bili obravnavani *na KO za endokrinologijo* in *na KO za hipertenzijo* skupaj.

Nato smo v vsakem oddelku posebej izračunali mediano in s statističnim testom ocenili, ali obstajajo statistično značilne razlike v vrednosti adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti.

Na koncu smo zbrali vse bolne paciente, izračunali mediano za izmerjene vrednosti adrenalina in noradrenalina ter s statističnim testom ocenili, ali obstaja statistično značilna razlika v vrednosti adrenalina in noradrenalina med *KO za endokrinologijo* in *KO za hipertenzijo* pri bolnih pacientih. Preučevali smo tudi, v kolikšnem številu in kolikšni meri so vrednosti adrenalina in noradrenalina povišane pri bolnih pacientih.

Statistika je temeljila na uporabi statističnega programa SPSS. Najprej smo preverili normalnost porazdelitve naših spremenljivk; vrednosti adrenalina in noradrenalina. Uporabili smo **KOLMOGOROV-SMIRNOV TEST**. Ker vrednosti adrenalina in noradrenalina niso bile razporejene skladno z normalno razporeditvijo, smo uporabili neparametrični **MANN-WHITNEY TEST** ali **WILCOXONOV TEST Z VSOTO RANGOV**. Ta test je neparametrični analog testu t in zanj veljajo vse značilnosti neparametričnih testov. Temelji na predpostavki, da se povprečna ranga enega ali drugega vzorca, če podatke obeh uredimo v skupno ranžirno vrsto, razlikujeta samo v mejah slučajnosti, kadar sta oba vzorca vzeta iz iste populacije.

Na podlagi pridobljenih rezultatov smo še izračunali in podali vrednosti občutljivosti in specifičnosti testa za določitev koncentracije adrenalina in noradrenalina pri diagnosticiranju feokromocitoma.

4.2.1 OBDELAVA REZULTATOV PACIENTOV, KI SO BILI OBRAVNAVANI NA *KO ZA ENDOKRINOLOGIJO* in NA *KO ZA HIPERTENZIJO*

V raziskavo smo vključili 421 pacientov, ki so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*, s sumom na feokromocitom. Diagnoza feokromocitoma je bila potrjena pri 32 pacientih (tj. **bolni pacienti**), ki so bili sprejeti na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*. Pri 389 pacientih (tj. **zdravi pacienti**) diagnoza feokromocitoma ni bila potrjena.

Preglednica VIII: Prikaz izračunane mediane adrenalina in noradrenalina pri zdravih in bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na obeh oddelkih

KO za endokrinologijo in KO za hipertenzijo	Zdravi pacienti	Bolni pacienti
N pacientov	389	32
Povprečna starost	56,7 let	61,8 let
Mediana adrenalina/kreatinina	1,5 nmol/mmol	5,3 nmol/mmol
Mediana noradrenalina/kreatinina	22,4 nmol/mmol	47,4 nmol/mmol

Delež bolnih pacientov glede na število vseh zdravih pacientov, ki so bili obravnavani na obeh oddelkih, je 8,23 %. V skupini zdravih pacientov so vrednosti adrenalina znašale od 0,3 do 13,6 nmol/mmol kreatinina in vrednosti noradrenalina od 4,4 do 80,6 nmol/mmol kreatinina, medtem ko so v skupini bolnih pacientov vrednosti adrenalina znašale od 1,4 do 57,8 nmol/mmol kreatinina in vrednosti noradrenalina od 25,7 do 781,6 nmol/mmol kreatinina. S statističnim testom smo ocenili, ali obstaja statistično značilna razlika v vrednosti adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti.

Preverili smo normalnost porazdelitve naših spremenljivk; vrednosti adrenalina in noradrenalina z izvedbo Kolmogorov-Smirnovega testa porazdelitve. Postavili smo hipoteze:

H_0 : Vrednosti adrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti z obeh oddelkov skupaj normalno porazdeljujejo. **H_a : Vrednosti adrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti z obeh oddelkov skupaj ne porazdeljujejo normalno.**

H_0 : Vrednosti noradrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti z obeh oddelkov skupaj normalno porazdeljujejo. **H_a : Vrednosti noradrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti z obeh oddelkov skupaj ne porazdeljujejo normalno.**

Ker sta izračuni sig. < 0,001, smo zavrgli ničelni hipotezi in ob stopnji tveganja ($\alpha = 0,05$) privzeli obe alternativni hipotezi (Preglednica IX).

Preglednica IX: Prikaz testa normalnosti za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti, ki so bili obravnavani na obeh oddelkih

		Kolmogorov-Smirnov test		
		Statistika	df	Sig.
dU adrenalin/kreatinin	Zdravi	0,229	389	0,000
	Bolni	0,312	32	0,000
dU noradrenalin/kreatinin	Zdravi	0,095	389	0,000
	Bolni	0,406	32	0,000

Ker izmerjene vrednosti adrenalina in noradrenalina niso razporejene skladno z normalno razporeditvijo, smo uporabili neparametrični **MANN-WHITNEY TEST** ali **WILCOXONOV TEST Z VSOTO RANGOV**. Postavili smo hipoteze:

H₀: Med zdravimi in bolnimi pacienti ni statistično značilnih razlik v vrednosti adrenalina, izmerjenega v vzorcu urina. **H_a**: **Med zdravimi in bolnimi pacienti je statistično značilna razlika v vrednosti adrenalina, izmerjenega v vzorcu urina.**

H₀: Med zdravimi in bolnimi pacienti ni statistično značilnih razlik v vrednosti noradrenalina, izmerjenega v vzorcu urina. **H_a**: **Med zdravimi in bolnimi pacienti je statistično značilna razlika v vrednosti noradrenalina, izmerjenega v vzorcu urina.**

Preglednica X: Mann-Whitney test za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti, ki so bili obravnavani na obeh oddelkih

	dU adrenalin/kreatinin	dU noradrenalin/kreatinin
Mann-Whitney U	1584,500	906,000
Wilcoxon W	77439,500	76761,000
Z	-7,085	-8,038
prib. Sig. dvostransko	0,000	0,000

Ker sta izračunani sig. < 0,001, smo zavrgli obe ničelni hipotezi in ob stopnji tveganja ($\alpha = 0,05$; sig. < α) privzeli obe alternativni hipotezi. S testiranjem hipotez smo potrdili

statistično značilno razliko, da imajo bolni pacienti višje vrednosti adrenalina in noradrenalina kot zdravi (Preglednica X).

4.2.2 OBDELAVA REZULTATOV PACIENTOV, KI SO BILI OBRAVNAVANI NA KO ZA ENDOKRINOLOGIJO

Iz podatkov v Preglednici 1, ki je v Prilogi, je razvidno, da je bilo na KO za endokrinologijo obravnavanih 289 pacientov. Diagnoza feokromocitoma je bila potrjena pri 19 bolnih pacientih (iz podatkov v Preglednici 2 v Prilogi), kar predstavlja 6,57 %.

Preglednica XI: Prikaz izračunane mediane adrenalina in noradrenalina pri zdravih in bolnih pacientih s KO za endokrinologijo

<i>KO za endokrinologijo</i>	Zdravi pacienti	Bolni pacienti
N pacientov	270	19
Povprečna starost	57,2 let	58,6 let
Mediana adrenalina/kreatinina	1,4 nmol/mmol	5,5 nmol/mmol
Mediana noradrenalina/kreatinina	21,4 nmol/mmol	46,4 nmol/mmol

Delež bolnih pacientov glede na število zdravih, ki so bili sprejeti na KO za endokrinologijo, je 7,04 %. V skupini zdravih pacientov so vrednosti adrenalina znašale od 0,3 do 13,6 nmol/mmol kreatinina in vrednosti noradrenalina od 4,4 do 80,6 nmol/mmol kreatinina, medtem ko so v skupini bolnih pacientov vrednosti adrenalina znašale od 1,4 do 35 nmol/mmol kreatinina in vrednosti noradrenalina od 25,7 do 781,6 nmol/mmol kreatinina. S statističnim testom smo ocenili, ali obstaja statistično značilna razlika v vrednosti adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti.

Z uporabo Kolmogorov-Smirnovega testa smo preverili normalnost porazdelitve. Postavili smo hipoteze:

H_0 : Vrednosti adrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti s KO za endokrinologijo normalno porazdeljujejo. **H_a : Vrednosti adrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti s KO za endokrinologijo ne porazdeljujejo normalno.**

Ho: Vrednosti noradrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO* za *endokrinologijo* normalno porazdeljujejo. **Ha: Vrednosti noradrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO* za *endokrinologijo* ne porazdeljujejo normalno.**

Ker sta izračunani sig. < 0,001, smo zavrgli obe ničelni hipotezi in ob stopnji tveganja ($\alpha = 0,05$) privzeli obe alternativni hipotezi (Preglednica XII).

Preglednica XII: Prikaz testa normalnosti za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO* za *endokrinologijo*

		Kolmogorov-Smirnov test		
		Statistika	df	Sig.
dU adrenalin/kreatinin	Zdravi	0,234	270	0,000
	Bolni	0,279	19	0,000
dU noradrenalin/kreatinin	Zdravi	0,123	270	0,000
	Bolni	0,403	19	0,000

Ker izmerjene vrednosti adrenalina in noradrenalina niso razporejene skladno z normalno razporeditvijo, smo uporabili neparametrični **MANN-WHITNEY TEST** ali **WILCOXONOV TEST Z VSOTO RANGOV**. Postavili smo hipoteze:

Ho: Med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO* za *endokrinologijo* ni statistično značilnih razlik v vrednosti adrenalina, izmerjenega v vzorcu urina. **Ha: Med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO* za *endokrinologijo* so statistično značilne razlike v vrednosti adrenalina, izmerjenega v vzorcu urina.**

Ho: Med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO* za *endokrinologijo* ni statistično značilnih razlik v vrednosti noradrenalina izmerjenega v vzorcu urina. **Ha: Med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO* za *endokrinologijo* so statistično značilne razlike v vrednosti noradrenalina, izmerjenega v vzorcu urina.**

Preglednica XIII: Mann-Whitney test za adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za endokrinologijo*

	dU adrenalin/kreatinin	dU noradrenalin/kreatinin
Mann-Whitney U	602,000	411,000
Wilcoxon W	37187,000	36996,000
Z	-5,637	-6,118
prib. Sig. dvostransko	0,000	0,000

Ker sta izračunani sig. < 0,001, smo zavrgli obe ničelni hipotezi in ob stopnji tveganja ($\alpha = 0,05$; sig. < α) privzeli obe alternativni hipotezi. S testiranjem hipotez smo potrdili statistično značilno razliko, da imajo bolni pacienti s *KO za endokrinologijo* višje vrednosti adrenalina in noradrenalina kot zdravi (Preglednica XIII).

4.2.3 OBDELAVA REZULTATOV PACIENTOV, KI SO BILI OBRAVNAVANI NA *KO ZA HIPERTENZIJO*

Iz podatkov v Preglednici 1, ki je v Prilogi, je razvidno, da je bilo na *KO za hipertenzijo* obravnavanih 132 pacientov. Diagnoza feokromocitoma je bila potrjena pri 13 bolnih pacientih (iz podatkov v Preglednici 2 v Prilogi), kar predstavlja 9,85 %.

Preglednica XIV: Prikaz izračunane mediane adrenalina in noradrenalina pri zdravih in bolnih pacientih s *KO za hipertenzijo*

<i>KO za hipertenzijo</i>	Zdravi pacienti	Bolni pacienti
N pacientov	119	13
Povprečna starost	55,6 let	66,5 let
Mediana adrenalina/kreatinina	1,5 nmol/mmol	5,0 nmol/mmol
Mediana noradrenalina/kreatinina	24,4 nmol/mmol	48,2 nmol/mmol

Delež bolnih pacientov glede na število zdravih, ki so bili sprejeti *na KO za hipertenzijo*, je 10,92 %. V skupini zdravih pacientov so vrednosti adrenalina znašale od 0,8 do 8,8 nmol/mmol kreatinina in vrednosti noradrenalina od 6,2 do 64,8 nmol/mmol kreatinina, medtem ko so v skupini bolnih pacientov vrednosti adrenalina znašale od 1,6 do 57,8 nmol/mmol kreatinina in vrednosti noradrenalina od 31,2 do 85,3 nmol/mmol kreatinina.

S statističnim testom smo ocenili ali obstaja statistično značilna razlika v vrednosti adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti. Preverili smo normalnost porazdelitve naših spremenljivk z uporabo Kolmogorov-Smirnovega testa. Postavili smo hipoteze:

H_0 : Vrednosti adrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* normalno porazdeljujejo. **H_a : Vrednosti adrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* ne porazdeljujejo normalno.**

H_0 : Vrednosti noradrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* normalno porazdeljujejo. **H_a : Vrednosti noradrenalina se med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* ne porazdeljujejo normalno.**

Ker sta izračunani $\text{sig.} < \alpha$, smo zavrgli obe ničelni hipotezi in ob stopnji tveganja ($\alpha = 0,05$) privzeli obe alternativni hipotezi (Preglednica XV).

Preglednica XV: Prikaz testa normalnosti za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo*

		Kolmogorov-Smirnov test		
		Statistika	df	Sig.
dU adrenalin/kreatinin	Zdravi	0,218	119	0,000
	Bolni	0,396	13	0,000
dU noradrenalin/kreatinin	Zdravi	0,073	119	0,178
	Bolni	0,279	13	0,007

Ker izmerjene vrednosti adrenalina in noradrenalina niso razporejene skladno z normalno razporeditvijo, smo uporabili **MANN-WHITNEY TEST ali WILCOXONOV TEST Z VSOTO RANGOV**. Postavili smo hipoteze:

H₀: Med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* ni statistično značilnih razlik v vrednosti adrenalina, izmerjenega v vzorcu urina. **Ha: Med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* so statistično značilne razlike v vrednosti adrenalina, izmerjenega v vzorcu urina.**

H₀: Med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* ni statistično značilnih razlik v vrednosti noradrenalina izmerjenega v vzorcu urina. **Ha: Med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* so statistično značilne razlike v vrednosti noradrenalina, izmerjenega v vzorcu urina.**

Preglednica XVI: Mann-Whitney test za adrenalin in noradrenalin med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo*

	dU adrenalin/kreatinin	dU noradrenalin/kreatinin
Mann-Whitney U	227,500	85,000
Wilcoxon W	7367,500	7225,000
Z	-4,207	-5,258
prib. Sig. dvostransko.	0,000	0,000

Ker sta izračunani sig. < 0,001, smo zavrgli obe ničelni hipotezi in ob stopnji tveganja ($\alpha = 0,05$; sig. < α) privzeli obe alternativni hipotezi. S testiranjem hipotez smo potrdili statistično značilno razliko, da imajo bolni pacienti s *KO za hipertenzijo* višje vrednosti adrenalina in noradrenalina kot zdravi (Preglednica XVI).

4.2.4 OBDELAVA REZULTATOV PRI BOLNIH PACIENTIH S *KO ZA ENDOKRINOLOGIJO* IN S *KO ZA HIPERTENZIJO*

Bolne paciente smo obravnavali na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*. Na obeh oddelkih skupaj je bilo 32 bolnih pacientov, ki so jim diagnosticirali feokromocitom, kar predstavlja 7,6 % od 421 preiskovancev z obeh oddelkov skupaj. Na *KO za endokrinologijo* smo imeli paciente v trenutku, ko jim je bil feokromocitom odkrit.

Medtem ko smo imeli na *KO za hipertenzijo* paciente po že uvedeni pripravljalni terapiji. Želeli smo ugotoviti kakšne so koncentracije adrenalina in noradrenalina in ali obstaja statistično značilna razlika v koncentraciji adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih z diagnosticiranim feokromocitomom med oddelkoma. Zanimalo nas je, ali so vrednosti adrenalina in noradrenalina po uvedeni pripravljalni terapiji nižje; in sicer ali je koncentracija adrenalina in noradrenalina nižja pri bolnih pacientih s *KO za hipertenzijo*.

Preglednica XVII: Prikaz obravnavanih bolnih pacientov

	Bolni pacienti (oba oddelka skupaj)	Bolni pacienti (<i>KO za endokrinologijo</i>)	Bolni pacienti (<i>KO za hipertenzijo</i>)
Ženske	26	14	12
Moški	6	5	1
Skupaj	32	19	13
Povprečna starost	61,8 let	58,6 let	66,5 let

V skupini bolnih pacientov s *KO za endokrinologijo* so vrednosti adrenalina znašale od 1,4 nmol/mmol do 35 nmol/mmol, medtem ko so v skupini bolnih pacientov s *KO za hipertenzijo* vrednosti adrenalina bile od 1,6 nmol/mmol do 57,8 nmol/mmol.

V skupini bolnih pacientov s *KO za endokrinologijo* pa so vrednosti noradrenalina znašale od 25,7 nmol/mmol do 781,6 nmol/mmol ter v skupini bolnih pacientov s *KO za hipertenzijo* od 31,2 nmol/mmol do 85,30 nmol/mmol.

Referenčna vrednost za koncentracijo adrenalina v 24-urnem urinu je do 13,9 nmol/mmol kreatinina in referenčna vrednost za koncentracijo noradrenalina v 24-urnem urinu je do 66,1 nmol/mmol kreatinina.

Bolne paciente s *KO za endokrinologijo* in s *KO za hipertenzijo* smo razvrstili glede na izmerjene vrednosti adrenalina in noradrenalina. Pogostost pojavljanja normalnih oziroma povišanih vrednosti smo podali v odstotkih (%).

Preglednica XVIII: Pogostost normalnih in povišanih vrednosti adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih

Vrednosti	Adrenalin		Noradrenalin		Povišan noradrenalin in adrenalin	Povišan vsaj en parameter (adrenalin ali noradrenalin)
	Norm.* (%)	Poviš.* (%)	Norm.* (%)	Poviš.* (%)	Poviš.* (%)	Poviš.* (%)
Vsi bolni pacienti (32)	71,9	28,1	68,8	31,2	12,5	46,9
Bolni pacienti s <i>KO</i> za endokrinologijo (19)	63,2	36,8	63,2	36,8	21,1	52,63
Bolni pacienti s <i>KO</i> za hipertenzijo (13)	84,6	15,4	76,9	23,1	0	36,5

*norm. = normalna vrednost; poviš. = povišana vrednost

Preglednica XIX: Prikaz izračunane mediane adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih s *KO* za endokrinologijo in s *KO* za hipertenzijo

Bolni pacienti	<i>KO</i> za endokrinologijo	<i>KO</i> za hipertenzijo
N - število bolnih pacientov	19	13
Povprečna starost	58,6 let	66,5 let
Mediana adrenalina/kreatinina	5,5 nmol/mmol	5,0 nmol/mmol

Mediana		
noradrenalina/kreatinina	46,4 nmol/mmol	48,2 nmol/mmol

Iz Tabele XIX je razvidno, da smo imeli večje število bolnih pacientov na *KO za endokrinologijo*. Če primerjamo mediani adrenalina in noradrenalina med oddelkoma, vidimo da ni velikih razlik v vrednostih adrenalina in noradrenalina. S statističnim testom smo ocenili, ali obstaja statistično značilna razlika v koncentraciji adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih med obravnavanima oddelkoma. Najprej smo preverili normalnost porazdelitve izmerjenih vrednosti adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih. Uporabili smo Kolmogorov-Smirnov test in postavili hipoteze:

H_0 : Vrednosti adrenalina se pri bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*, normalno porazdeljujejo. **Ha: Vrednosti adrenalina se pri bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*, ne porazdeljujejo normalno.**

H_0 : Vrednosti noradrenalina se pri bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*, normalno porazdeljujejo. **Ha: Vrednosti noradrenalina se pri bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*, ne porazdeljujejo normalno.**

Ker sta izračunani $\text{sig.} < \alpha$, smo zavrgli obe ničelni hipotezi in ob stopnji tveganja ($\alpha = 0,05$) privzeli obe alternativni hipotezi (Preglednica XX).

Preglednica XX: Prikaz testa normalnosti za adrenalin in noradrenalin pri bolnih pacientih s *KO za endokrinologijo* in s *KO za hipertenzijo*

		Kolmogorov-Smirnov test		
		Statistika	df	Sig.
dU	E	0,279	19	0,000
adrenalin/kreatinin	H	0,396	13	0,000
dU	E	0,403	19	0,000
noradrenalin/kreatinin	H	0,279	13	0,007

Ker vrednosti koncentracije adrenalina in noradrenalina niso razporejene skladno z normalno razporeditvijo, smo uporabili neparametrični **MANN-WHITNEY TEST ali WILCOXONOV TEST Z VSOTO RANGOV**. Postavili smo hipoteze:

H₀: Med *KO za endokrinologijo* in *KO za hipertenzijo* ni statistično značilnih razlik v vrednosti adrenalina pri bolnih pacientih. **H_a**: Med *KO za endokrinologijo* in *KO za hipertenzijo* so statistično značilne razlike v vrednosti adrenalina pri bolnih pacientih.

H₀: Med *KO za endokrinologijo* in *KO za hipertenzijo* ni statistično značilnih razlik v vrednosti noradrenalina pri bolnih pacientih. **H_a**: Med *KO za endokrinologijo* in *KO za hipertenzijo* so statistično značilne razlike v vrednosti noradrenalina pri bolnih pacientih.

Preglednica XXI: Mann-Whitney test za adrenalin in noradrenalin pri bolnih pacientih s *KO za endokrinologijo* in s *KO za hipertenzijo*

	dU adrenalin/kreatinin	dU noradrenalin/kreatinin
Mann-Whitney U	111,000	123,000
Wilcoxon W	202,000	214,000
Z	-,480	-,019
prib. Sig. dvostransko	0,631	0,985

Izračunana sig. za adrenalin je 0,631 in za noradrenalin 0,985. Ker je izračunana sig. za adrenalin in noradrenalin $> \alpha$ ($\alpha = 0,05$), smo privzeli obe ničelni hipotezi. **Med oddelkoma ni statistično značilnih razlik v vrednostih adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih** (Preglednica XXI).

4.2.5 SPECIFIČNOST IN OBČUTLJIVOST METODE ZA DOLOČANJE ADRENALINA IN NORADRENALINA

Na podlagi Preglednice 1 in Preglednice 2 (v Prilogi), kjer so podani rezultati meritev koncentracije adrenalina in noradrenalina pri zdravih in bolnih pacientih, smo izračunali in podali vrednosti občutljivosti in specifičnosti določanja adrenalina in noradrenalina v 24-

urnem urinu z metodo HPLC. Pri računanju občutljivosti in specifičnosti smo v izračun vključili vrednosti adrenalina in noradrenalina, ki smo jih dobili na obeh oddelkih (*KO za endokrinologijo* in *KO za hipertenzijo*) skupaj.

Diagnostična občutljivost predstavlja delež bolnikov s preiskovano boleznijo, pri katerih je rezultat testa pozitiven. Izražamo jo v odstotkih, predstavlja pa verjetnost pozitivnega izida pri osebah z diagnozo bolezni. Večja kot je, manjše je število lažno negativnih rezultatov (57).

Izračuna se po naslednji formuli : **Se= $RP/(RP+LN) \times 100$**

Se = diagnostična občutljivost (sensitivity)

RP = resnično pozitivni

LN = lažno negativni (58)

Diagnostična specifičnost predstavlja delež oseb, ki nimajo preiskovane bolezni in pri katerih je rezultat testa negativen. Predstavlja delež resnično negativnih dogodkov (bolniki, ki nimajo bolezni). Pri določanju predvidevamo, da v vzorcu ni iskanega parametra. Če s testom dobimo pozitiven rezultat, je ta lažno pozitiven. Večja kot je, manjše je število lažno pozitivnih rezultatov. Če pri testiranju ni nobenega lažno pozitivnega vzorca, je specifičnost 1 (100%). Pozitiven rezultat pri zdravih pacientih se vrednoti kot lažno pozitiven (57).

Izračuna se po naslednji formuli: **Sp= $RN/(RN+LP) \times 100$**

Sp = diagnostična specifičnost (specificity)

RN = resnično negativni

LP = lažno pozitivni (58)

Občutljivost je parameter, ki vrednoti sposobnost za ustrezno razvrščanje oseb z boleznijo, in specifičnost je parameter, ki vrednoti sposobnost merila za ustrezno razvrščanje oseb brez bolezni.

Preglednica XXII: Izračun občutljivosti in specifičnosti za adrenalin

KO za endokrinologijo in KO za hipertenzijo	Povišane vrednosti adrenalina	Normalne vrednosti adrenalina
Število bolnih pacientov	9 = resnično pozitivni	23 = lažno negativni
Število zdravih pacientov	0 = lažno pozitivni	389 = resnično negativni

$$\underline{\text{OBČUTLJIVOST}} = \text{RP}/(\text{RP}+\text{LN}) = 9/(9+23) = 9/32 = 28,1 \%$$

Občutljivost je verjetnost **pozitivnega izida testa** pri *bolnih pacientih*, pri katerih je **feokromocitom prisoten**. Manj kot je lažno negativnih rezultatov, boljša je občutljivost. Diagnostična občutljivost za adrenalin je bila le 28,1 %, kar je precej slabo. To pomeni, da je vrednost adrenalina pri bolnih pacientih pri 28,1 % povišana in so rezultati resnično pozitivni. Pri 71,9 % pa je koncentracija adrenalina nižja in so rezultati lažno negativni.

$$\underline{\text{SPECIFIČNOST}} = \text{RN}/(\text{RN}+\text{LP}) = 389/(389+0) = 389/389 = 100 \%$$

Specifičnost je verjetnost **negativnega izida testa** pri *zdravih pacientih*, ki **nimajo potrjene diagnoze feokromocitoma**. Manj kot je lažno pozitivnih rezultatov, večja je specifičnost. Diagnostična specifičnost za adrenalin je bila 100 %, kar pomeni da se je adrenalin v našem primeru izkazal kot dober označevalec za diagnozo feokromocitoma. Ni bilo lažno pozitivnih rezultatov in vrednosti adrenalina niso bile povišane pri zdravih pacientih.

$$\underline{\text{TOČNOST TESTA}} = (9+289)/(9+0+23+389) = 398/421 = 94,5 \%$$

Preglednica XXIII: Izračun občutljivosti in specifičnosti za noradrenalin

KO za endokrinologijo in KO za hipertenzijo	Povišane vrednosti noradrenalina	Normalne vrednosti noradrenalina
Število bolnih pacientov	10 = resnično pozitivni	22 = lažno negativni
Število zdravih pacientov	3 = lažno pozitivni	386 = resnično negativni

$$\underline{\text{OBČUTLJIVOST}} = \text{RP}/(\text{RP}+\text{LN}) = 10/(10+22) = 10/32 = 31,3 \%$$

Diagnostična občutljivost za noradrenalin je bila 31,3 %, kar je precej slabo. To pomeni, da je vrednost noradrenalina pri bolnih pacientih pri 31,3 % povišana in so rezultati resnično pozitivni. Pri 68,7 % pa je koncentracija noradrenalina nižja in so rezultati lažno negativni.

$$\text{SPECIFIČNOST} = \text{RN}/(\text{RN}+\text{LP}) = 386/(386+3) = 386/389 = 99,2 \%$$

Diagnostična specifičnost za noradrenalin je bila 99,2 %, kar pomeni, da se je noradrenalin v našem primeru izkazal kot dober označevalec za diagnozo feokromocitoma. Lažno pozitivnih rezultatov je bilo 0,8 %.

$$\text{TOČNOST TESTA: } (10+386)/(10+22+3+386) = 396/421 = 94,1 \%$$

5. RAZPRAVA

Feokromocitom je redek tumor kromafinih celic nadledvičnih žlez, kjer pride do nastajanja čezmernih količin adrenalina in noradrenalina. Pravočasno nediagnosticiran lahko povzroči smrtno nevaren porast krvnega tlaka ali hudo motnjo srčnega ritma, pravočasna in pravilna diagnoza pa omogoči učinkovito zdravljenje, ki večinoma pomeni popolno ozdravitev bolnika. Pogostnost pojava je zelo redka tako v svetu kot tudi pri nas. Pojavi se pri manj kot 0,1 % bolnikov s hipertenzijo. Glavni klinični znak je hipertenzija z ostalimi pridružitljivimi znaki (glavobol, znojenje, palpitacije in bledica). Diagnosticiran je v manj kot polovici bolnikov, več kot polovica je diagnosticiranega šele med obdukcijo.

Diagnoza temelji na biokemičnem dokazu čezmernega nastajanja adrenalina in noradrenalina ter njunih metabolitov v plazmi ali urinu. Adrenalin in noradrenalin imata zelo kratek razpolovni čas, zato pri merjenju v plazmi ne moremo spremljati nihanja v njihovi koncentraciji. Le redki laboratoriji imajo ustrezno tehnologijo za določanje adrenalina in noradrenalina v plazmi in zato še nimamo dobrega pokazatelja stanja pri teh bolnikih. Določevanje plazemskih metanefrinov in normetanefrinov najpogosteje uporabljamo pri bolnikih z visokim kliničnim sumom na feokromocitom. Biokemični test, s katerim najbolje napovemo diagnozo feokromocitoma, je določevanje adrenalina in noradrenalina ter *njunih metabolitov v 24-urnem urinu*.

V diplomski nalogi smo se odločili proučiti klinični pomen določanja adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu pri diagnosticiranju feokromocitoma. V študijo smo vključili 421 pacientov, ki smo jim izmerili koncentracijo adrenalina in noradrenalina. Na *KO za endokrinologijo* je bilo obravnavanih 289 pacientov in na *KO za hipertenzijo* 132 pacientov. Diagnoza feokromocitoma je bila potrjena pri 19 pacientih s *KO za endokrinologijo* in pri 13 s *KO za hipertenzijo* (**32 pacientov**; tj. **bolni pacienti**).

Paciente smo razdelili na zdrave in bolne. Rezultate meritev smo najprej obdelali skupaj, nato pa še posamezno za vsak oddelek. S Kolmogorov-Smirnovim testom smo ugotovili, da se vrednosti adrenalina in noradrenalina porazdeljujejo nenormalno (pri adrenalinu in noradrenalinu je sig. < α ; $\alpha = 0,05 \rightarrow$ privzeli smo alternativni hipotezi; porazdelitev

vrednosti adrenalina in noradrenalina ni normalna) (Preglednica IX, Preglednica XII, Preglednica XV).

Nato smo izračunali mediano za vrednosti adrenalina in noradrenalina pri celotni skupini obravnavanih pacientov z obeh oddelkov skupaj (421 pacientov; **389 zdravih** in **32 bolnih**). Mediana za adrenalin/kreatinin je pri zdravih znašala 1,5 nmol/mmol in pri bolnih 5,3 nmol/mmol ter za noradrenalin/kreatinin, ki je znašala 22,4 nmol/mmol pri zdravih in 47,4 nmol/mmol pri bolnih pacientih (Preglednica VIII). Analiza median je pokazala, da so imeli bolni pacienti višje vrednosti adrenalina (5,3 nmol/mmol) in noradrenalina (47,4 nmol/mmol) kot zdravi (1,5 nmol/mmol; 22,4 nmol/mmol) (Preglednica VIII).

Ker vrednosti adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti niso normalno porazdeljene, smo uporabili neparametrični Mann-Whitneyev test, s katerim smo ugotavljali, ali so razlike statistično značilne ali ne. Uporabljamo ga za ugotavljanje razlik med dvema povprečnima vrednostima za dva neodvisna vzorca. Neparametrični testi so primerni predvsem za oceno značilnosti, manj pa za oceno mej in intervala zaupanja. Privzeli smo alternativni hipotezi v primeru vrednostmi adrenalina in noradrenalina (sig. < 0,001 → sig. < α → $\alpha = 0,05$ → privzeli smo H_a), torej med zdravimi in bolnimi obstajajo statistično značilne razlike (Preglednica X).

Na podlagi tega lahko sklepamo, da je za diagnozo feokromocitoma značilna povišana vrednost adrenalina in noradrenalina.

Rezultate meritev smo še posebej obdelali na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*.

Na *KO za endokrinologijo* je bilo obravnavanih 289 pacientov in diagnoza feokromocitoma je bila potrjena pri 19 pacientih. Mediana adrenalina/kreatinina je bila 1,4 nmol/mmol pri zdravih in 5,5 nmol/mmol pri bolnih ter mediana noradrenalina/kreatinina je bila pri zdravih 21,4 nmol/mmol in pri bolnih 46,4 nmol/mmol (Preglednica XI). Analiza izračunanih median je pokazala, da so imeli bolni pacienti višje vrednosti adrenalina (5,5 nmol/mmol) in noradrenalina (46,4 nmol/mmol) v primerjavi z zdravimi pacienti (1,4 nmol/mmol; 21,4 nmol/mmol).

Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi pri obdelavi rezultatov meritev adrenalina in noradrenalina pri pacientih, obravnavanih *na KO za hipertenzijo*. Na *KO za hipertenzijo* je bilo sprejetih 132 pacientov in diagnoza je bila potrjena pri 13 pacientih. Mediana adrenalina/kreatinina je bila 1,5 nmol/mmol pri zdravih in 5 nmol/mmol pri bolnih, ter mediana noradrenalina/kreatinina je bila 24,4 nmol/mmol pri zdravih in 48,2 nmol/mmol pri bolnih (Preglednica XIV). Če primerjamo rezultate med seboj, je razlika v vrednosti adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti s *KO za hipertenzijo* očitna. Analiza izračunanih median je pokazala, da so imeli bolni pacienti višje vrednosti adrenalina (5 nmol/mmol) in noradrenalina (48,2 nmol/mmol) v primerjavi z zdravimi (1,5 nmol/mmol; 24,4 nmol/mmol).

Z neparametričnim Mann-Whitneyjevim testom smo ugotovili statistično značilno razliko v vrednostih adrenalina in noradrenalina med zdravimi in bolnimi pacienti (posebej na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*). Privzeli smo alternativni hipotezi v primeru vrednostmi adrenalina in noradrenalina pri pacientih s *KO za endokrinologijo* (sig. < 0,001 → sig. < α → $\alpha = 0,05$ → privzeli smo H_a), torej med zdravimi in bolnimi obstajajo statistično značilne razlike (Preglednica XII). Alternativni hipotezi smo privzeli tudi v primeru vrednostmi adrenalina in noradrenalina pri pacientih s *KO za hipertenzijo* (sig. < 0,001 → sig. < α → $\alpha = 0,05$ → privzeli smo H_a), torej med zdravimi in bolnimi obstajajo statistično značilne razlike (Preglednica XVI).

S testiranjem hipotez smo potrdili statistično značilno razliko v vrednostih adrenalina in noradrenalina in ugotovili, da imajo bolni pacienti višje vrednosti adrenalina in noradrenalina kot zdravi pacienti.

Ugotovili smo, da niso imeli vsi bolni pacienti povišane vrednosti adrenalina in noradrenalina nad referenčno vrednostjo. Delež bolnih, ki so imeli povišano vrednost adrenalina, je 9 od 32, kar predstavlja 28,1 %, medtem ko je delež bolnih s povišano vrednostjo noradrenalina 10 od 32, torej 31,3 %. 4 od 32 so imeli povišano vrednost adrenalina in noradrenalina (12,5 %) (Preglednica XVIII).

Na podlagi izmerjenih koncentracij adrenalina in noradrenalina smo videli, da je imelo 15 bolnih pacientov z obeh oddelkov skupaj povišan vsaj en parameter (adrenalin ali

noradrenalin), kar predstavlja 46,9 % bolnih pacientov (Preglednica XVIII). V naši raziskavi smo diagnozo feokromocitoma potrdili pri 26 pacientih ženskega in 6 pacientih moškega spola. Na *KO za endokrinologijo* je bilo 14 pacientov ženskega in 5 moškega, medtem ko je bilo na *KO za hipertenzijo* 12 pacientov ženskega in en moškega spola (Preglednica XVII). Vidimo, da je incidenca večja pri pacientih ženskega spola, vendar s statističnim testom nismo dokazali statistično značilne razlike med spoloma.

Avtorji Lucon A., Halpern A. et al. so navedli študijo, kjer je bilo predstavljenih 50 bolnikov s povprečno starostjo 33 let, ki so jim diagnosticirali feokromocitom. Spremljali so klinično sliko, občutljivost biokemičnih testov, patološke ugotovitve, uspešnost kirurškega posega in prognozo bolezni. 56 % bolnikov je bilo ženskega in 44 % moškega spola. Laboratorijska diagnoza je temeljila na merjenju adrenalina, noradrenalina, metanefrina, normetanefrina in VMA v 24-urnem vzorcu urina in na merjenju adrenalina in noradrenalina v plazmi. Pri 90 % bolnikov so bili prisotni simptomi, ki so bili tipični za klinično sliko. Ti podatki kažejo, da *je lahko okoli 14 % feokromocitoma naključnega in krvni pritisk je lahko normalen kljub čezmernemu nastajanju adrenalina in noradrenalina*. Nobeden laboratorijski test ni omogočal 100 % diagnoze feokromocitoma, merjenje metanefrinov in normetanefrinov v urinu je bil še najboljši pokazatelj z občutljivostjo 97 %. Merjenje adrenalina in noradrenalina je bilo izvedeno pri 14 bolnikih. Vrednosti adrenalina so bile pri 8 bolnikih normalne, pri 6 pa so bile povišane, kar predstavlja 43 % in občutljivost metode je bila 64 %. Vrednosti noradrenalina pa so bile povišane pri 13 bolnikih, torej pri 93 % (14). Na podlagi tega članka smo zaključili, da imamo v našem primeru manjši delež bolnih pacientov s povišanimi vrednostmi adrenalina in noradrenalina.

Iz podanih rezultatov smo izračunali, da ima **adrenalin 28,1 % občutljivost** (*rezultati so bili resnično pozitivni*) in **100 % specifičnost**, medtem ko ima **noradrenalin 31,3 % občutljivost** (*rezultati so bili resnično pozitivni*) in **99,2 % specifičnost**. Če upoštevamo izračunane vrednosti občutljivosti in specifičnosti za adrenalin in noradrenalin, lahko sklepamo, da je merjenje adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu dokaj dober diagnostični kazalec. Pri merjenju adrenalina ni bilo lažno pozitivnih rezultatov, bilo pa je kar 23 lažno negativnih rezultatov (71,9 %). Pri noradrenalinu pa je bilo 22 lažno negativnih (68,7 %) in 3 lažno pozitivni rezultati (0,8 %) (Preglednica XXII, Preglednica

XXIII). Metoda je dobro občutljiva, kadar z njo dobimo pozitiven rezultat in vzorec resnično vsebuje merjeno sestavino, vendar tega pogosto ni mogoče doseči. V našem primeru, kjer smo kot edino merilo za diagnosticiranje feokromocitoma uporabili merjenje adrenalina in noradrenalina v urinu, smo imeli zelo slabo občutljivost (imeli smo veliko lažno negativnih rezultatov).

Pri razlaganju rezultatov moramo biti pozorni na dejavnike, ki lahko vplivajo na lažno pozitivne rezultate in na povišano sproščanje adrenalina in noradrenalina. Ti dejavniki so lahko stres, zdravila, dieta, nikotin, hipoglikemija, bolečina. Pomembni dejavniki, ki vplivajo na lažno pozitivne rezultate, pa so tudi zdravila (α -metildopa, labetalol, TCA, MAO inhibitorji, diuretiki ...). S posebnim režimom priprave pacienta pred odvzemom vzorca urina in z ustreznim odvzemom (rokovanje, shranjevanje, stabilizacija) lahko zmanjšamo lažno pozitivne rezultate. Ker sta adrenalin in noradrenalin manj stabilna, vzorcu dodamo 10 ml 25 % HCl, ki je konzervans in vzorce hranimo pri temperaturi 4 °C največ en teden.

V članku avtorjev Mannelli M., Ianni L., Cilotti A. et al. je bilo predstavljenih 284 bolnikov, ki so jim diagnosticirali feokromocitom. 53,6 % jih je bilo ženskega in 46,4 % moškega spola, njihova povprečna starost je bila 44 let. Najpogostejši klinični znaki, ki so bili prisotni, so bili: palpitacije (58,1 %), glavoboli (51,9 %), znojenje (48,8 %) in tesnoba (35,3 %). Ti znaki so bili prisotni pri 15,5 % bolnikov. Zaradi nizke občutljivosti simptomov je diagnozo feokromocitoma težko določiti. *Feokromocitom je najpogosteje odkrit naključno* (v tej študiji pri 11,2 % bolnikov) *ali šele pri obdukciji*. Najpogostejši sum na prisotnost feokromocitoma je hipertenzija, še posebno, če je paroksizmalna ali resistantna. Paroksizmalni simptomi so bili prisotni pri 67,1 % in hipertenzija pri 59,7 % bolnikov. Laboratorijska diagnoza je temeljila na biokemičnem določanju koncentracije adrenalina in noradrenalina ter njunih metabolitov. Med laboratorijskimi testi je bilo določanje VMA v urinu najpogosteje uporabljeno (58,1 %), uporabili so tudi določanje noradrenalina (46,1 %), adrenalina (29,9 %) in metanefrinov ter normetanefrinov. Delež lažno negativnih rezultatov pri merjenju adrenalina in noradrenalina v urinu je bilo pri adrenalinu 34 % in pri noradrenalinu 21 %. Najmanj občutljiv test za diagnosticiranje je določanje VMA v urinu, saj je bil delež lažno negativnih rezultatov največji. Ta ugotovitev je v soglasju s podatki iz literature.

Laboratoriji bi morali za diagnosticiranje feokromocitoma uporabiti bolj občutljive teste kot npr.: določanje adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu ali še bolj občutljiv test: določanje metanefrinov in normetanefrinov v 24-urnem urinu (59).

V drugi študiji avtorjev Hernandez F., Sanchez M., Alvarez A. et al. je bilo vključenih 3826 pacientov. Diagnoza feokromocitoma je bila postavljena pri 57 bolnikih (od tega je bilo 47 primerov sporadičnega feokromocitoma, 9 multiplih endokrinih neoplazij tipa IIa in 1 bolnik z neurofibromatozo). 59,6 % jih je bilo moškega in 40,4 % ženskega spola. Najpogostejši klinični znak je bila hipertenzija (87,7 %), nato glavobol (75,4 %), znojenje (78,9 %), palpitacije (64 %), napad strahu (26,3 %) in bolečine v trebuhu. Laboratorijska diagnoza je temeljila na merjenju koncentracije adrenalina in noradrenalina ter metanefrina, normetanefrina in VMA v 24-urnem urinu z metodo HPLC. Vrednosti noradrenalina so bile pri 50 bolnikih povišane, pri 7 pa so bile normalne oz. znižane. Delež lažno negativnih rezultatov pri noradrenalinu je bila 12,3 %, medtem ko je bil delež lažno negativnih rezultatov pri adrenalinu 24,6 %. 43 bolnikov je imelo povišane vrednosti adrenalina, 14 bolnikov pa je imelo normalne vrednosti. Občutljivost merjenja adrenalina je bila 75,4 % in specifičnost 89,3 %, medtem ko je bila občutljivost noradrenalina 87,7 % in specifičnost 82,3 % (38).

Na podlagi rezultatov študij smo videli, da je delež lažno negativnih rezultatov v našem primeru precej višji tako pri adrenalinu kot pri noradrenalinu. Delež lažno negativnih rezultatov je bil 71,9 % pri adrenalinu in 68,7 % pri noradrenalinu.

V članku avtorjev Boyle J., Davidson D. C. et al. so bili predstavljeni rezultati retrospektivne študije učinkovitosti diagnostike feokromocitoma. V študijo je bilo vključenih 159 pacientov, katerim so merili koncentracije adrenalina in noradrenalina, VMA, metanefrina in normetanefrina v 24-urnem urinu. Feokromocitom je bil diagnosticiran pri 25 bolnikih. 17 jih je bilo ženskega in 8 moškega spola. Občutljivost določanja metanefrina in normetanefrina je bila 100 % v primerjavi z občutljivostjo adrenalina in noradrenalina in VMA (84 % in 72 %). Specifičnost je bila pri adrenalinu in noradrenalinu 99 % in pri VMA 89 %. Pri vrednostih metanefrina in normetanefrina je bilo 7 lažno pozitivnih rezultatov, torej je bila specifičnost 94 % (25).

Merjenje adrenalina in noradrenalina v urinu ima zmerno občutljivost za detekcijo feokromocitoma, posebej pri tistih pacientih s hipertenzijo, ki traja dlje časa. Koncentracija metanefrina in normetanefrina v urinu je večja od adrenalina in noradrenalina, kar predstavlja prednost pri diagnostiki. Metanefrini in normetanefrini so O-metilirani s COMT in so direktni tumorski markerji. V večjih količinah nastajajo v kromatofinih celicah sredice nadledvične žleze ali v celicah tumorja. Ko pride do sproščanja adrenalina in noradrenalina v citoplazmo, se tam nahaja encim COMT, ki omogoča pretvorbo noradrenalina v normetanefrin in pretvorbo adrenalina v metanefrin. 90 % metanefrina in 24–40 % normetanefrina nastaja v sredici nadledvične žleze. Pri pacientih z diagnosticiranim feokromocitomom pride v tumorskem tkivu do povečane koncentracije metanefrinov in normetanefrinov tudi do 90 %. Ta produkcija je stalna in neodvisna od sproščanja adrenalina in noradrenalina. V primerjavi z merjenjem koncentracije adrenalina in noradrenalina je merjenje metanefrinov in normetanefrinov bolj občutljiva (94,7 %) in specifična metoda (95,3 %) (38). Najboljša je tudi za razlikovanje med esencialno in sekundarno hipertenzijo. Če primerjamo merjenje metanefrinov in normetanefrinov v plazmi ali urinu, imata obe metodi podobno visoko občutljivost, vendar je specifičnost nekoliko slabša pri merjenju metanefrinov in normetanefrinov v plazmi. Z merjenjem koncentracije metanefrinov in normetanefrinov je diagnoza potrjena pri približno 80 % pacientov. Smiselno je, da pri pacientih z majhno verjetnostjo feokromocitoma uporabimo določitev metanefrinov in normetanefrinov v 24-urnem urinu. Pri pacientih z visokim kliničnim sumom pa določimo plazemske metanefrine in normetanefrine, saj s tem zagotovimo najvišjo možno občutljivost (do 99 %). Ker pa je feokromocitom lahko tudi del klinične slike multiplih endokrinih neoplazij (*MEN* II in III), moramo biti vedno pozorni tudi na sočasne klinične in laboratorijske znake omenjenih sindromov. *MEN* II vključuje še hiperparatireoidizem in medularni karcinom ščitnice. Torej sta potrebna še določitev serumskega kalcija in pregled ščitnice. Ker je medularni karcinom v začetnih stadijih lahko praktično brez vidnih kliničnih znakov na ščitnici in brez odstopanj v osnovnih laboratorijskih preiskavah ščitnične funkcije, uporabljamo določanje kalcitonina, bodisi bazalno ali po stimulacijah. Pri *MEN* III najdemo poleg feokromocitoma in medularnega karcinoma ščitnice še dokaj značilne klinične znake.

Med bolniki, pri katerih sumimo, da gre za feokromocitom, diagnozo le redko potrdimo. V eni izmed raziskav so feokromocitom diagnosticirali pri enem od 300 preiskovancev. V

naši študiji je bila diagnoza potrjena pri 32 od 421; kar predstavlja 7,6 % obravnavanih pacientov. Bolne paciente smo razdelili na paciente s *KO za endokrinologijo* (19) in na paciente s *KO za hipertenzijo* (13). Ker je število bolnih pacientov v našem primeru zelo majhno (32), je tudi majhna možnost, da je skupina reprezentativna in da so dobljeni rezultati dovolj točni. Na *KO za endokrinologijo* so bili sprejeti pacienti z značilnimi kliničnimi znaki in potrjena diagnoza je bila na novo odkrita. Najpogostejši klinični znaki so bili hipertenzija, tahikardija, glavobol, znojenje in bledica. Ker je pri veliki večini pacientov s feokromocitomom krvni tlak stalno povišan in težko obvladljiv, so pacienti, ki so bili obravnavani na *KO za hipertenzijo*, že bili vključeni v 2- do 3-tedensko predoperativno pripravo z zdravili, ki zavirajo delovanje adrenalina in noradrenalina. Cilj zdravljenja je normalizirati krvni tlak, preprečiti paroksizmalno hipertenzijo in odpraviti tahikardijo. Z ustrežno farmakološko kontrolo čezmernega nastajanja adrenalina in noradrenalina pripravimo pacienta na kirurško odstranitev tumorja. *Zato smo na KO za hipertenzijo posledično pričakovali nižje vrednosti adrenalina in noradrenalina v primerjavi s KO za endokrinologijo.* Vrednosti adrenalina in noradrenalina smo med bolnimi pacienti primerjali med seboj.

Analiza pogostosti (%) povišanih vrednosti adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih s *KO za endokrinologijo* je pokazala odstopanja glede na bolne paciente s *KO za hipertenzijo*. Upoštevali smo kriterije za adrenalin (do 13,9 nmol/mmol kreatinina) in za noradrenalin (do 66,1 nmol/mmol kreatinina). Pogostost povišanih vrednosti adrenalina v skupini bolnih pacientov s *KO za endokrinologijo*, ki znaša 36,8 %, je bila višja glede na *KO za hipertenzijo*, kjer je bil ta parameter povišan le pri 15,4 %. Tudi pogostost povišanih vrednosti noradrenalina v skupini bolnih pacientov s *KO za endokrinologijo*, ki znaša 36,8 %, je bila višja glede na *KO za hipertenzijo*, kjer je bil parameter povišan le pri 23,1 % bolnih pacientov (Preglednica XVIII).

Rezultati meritev so pokazali, da so imeli bolni pacienti s *KO za endokrinologijo* pogosteje (52,63 %) povišan vsaj en parameter (adrenalin ali noradrenalin) kot bolni pacienti s *KO za hipertenzijo* (36,5 %) (Preglednica XVIII).

Vendar pri obravnavani skupini bolnih pacientov nismo dobili pričakovanih vrednosti adrenalina in noradrenalina. Po analizi izračunanih median smo videli, da razlika v

vrednosti adrenalina in noradrenalina med oddelkoma ni očitna. Vrednost mediane za adrenalin je znašala na *KO za endokrinologijo* 5,5 nmol/mmol in na *KO za hipertenzijo* 5 nmol/mmol. Medtem ko je bila vrednost mediane za noradrenalin na *KO za endokrinologijo* 46,4 nmol/mmol in na *KO za hipertenzijo* 48,2 nmol/mmol (Preglednica XIX).

S statističnim testom porazdelitve smo ugotovili, da se vrednosti adrenalina in noradrenalina med bolnimi pacienti s *KO za endokrinologijo* in s *KO za hipertenzijo* porazdeljujejo nenormalno (sig. $< \alpha \rightarrow \alpha = 0,05 \rightarrow$ privzeli smo obe alternativni hipotezi) (Preglednica XX). Ker vrednosti adrenalina in noradrenalina niso razporejene skladno z normalno razporeditvijo, smo z neparametričnim Mann-Whitneyjevim testom preverjali domnevo o enakosti dveh median. Preverjali smo, ali so vrednosti adrenalina in noradrenalina nižje pri bolnih pacientih s *KO za hipertenzijo* v primerjavi s *KO za endokrinologijo*. S testom nismo ugotovili statistično značilnih razlik v vrednosti adrenalina (izračunana sig. = 0,631) in noradrenalina (izračunana sig. = 0,985) med oddelkoma pri bolnih pacientih (sig. $> \alpha \rightarrow \alpha = 0,05 \rightarrow$ privzeli smo obe ničelni hipotezi) (Preglednica XXI). Ob stopnji tveganja ($\alpha = 0,05$) smo privzeli ničelni hipotezi, ki trdita da **med *KO za endokrinologijo* in *KO za hipertenzijo* NI statistično značilnih razlik v vrednosti adrenalina in noradrenalina pri bolnih pacientih.**

Mann-Whitneyjev test ni pokazal pričakovanih statistično značilnih razlik v vrednosti adrenalina in noradrenalina med oddelkoma pri bolnih pacientih. Analiza pogostosti povišanih vrednosti pa je pokazala, da je tendenca k višjim vrednostim in večji pogostosti zvišanih vrednosti adrenalina in noradrenalina v skupini bolnih pacientov s *KO za endokrinologijo*.

Pričakovali smo statistično značilno nižje vrednosti adrenalina in noradrenalina na *KO za hipertenzijo* (pogostost povišanih vrednosti adrenalina in noradrenalina nad referenčno vrednostjo je sicer bila nižja), vendar smo imeli premajhen vzorec bolnih pacientov, da bi to tudi statistično potrdili.

6. SKLEP

Vse vzorce 24-urnega urina smo analizirali z metodo HPLC z elektrokemijskim detektorjem. Po opravljenih meritvah pa smo iz dobljenih rezultatov in statistične obdelave podatkov ugotovili naslednje:

- Diagnoza feokromocitoma je bila potrjena pri 32 bolnih pacientih, ki so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*, kar predstavlja 7,6 % od 421 preiskovancev.
- Koncentracija adrenalina in noradrenalina je bila statistično značilno višja pri bolnih pacientih.
- Delež vseh bolnih pacientov, ki so imeli povišano vrednost adrenalina, je 28,1 %, medtem ko je delež vseh bolnih s povišano vrednostjo noradrenalina 31,3 %.
- 46,9 % vseh bolnih pacientov je imelo povišan vsaj en parameter (adrenalin ali noradrenalin).
- Adrenalin in noradrenalin imata pri diagnostiki feokromocitoma 28,1 % in 31,3 % občutljivost, kar je zelo nizko. To pomeni, da je koncentracija adrenalina in noradrenalina pri 28,1 % oz. 31,3 % bolnih pacientih povišana in so rezultati resnično pozitivni. Pri 71,9 % oz. 68,7 % pa je koncentracija nižja in so rezultati lažno negativni.
- Adrenalin in noradrenalin sta se v naši raziskavi izkazala za 100 % oz. 99,2 % specifičen označevalec feokromocitoma. To pomeni, da je bil delež lažno pozitivnih rezultatov majhen (le pri 0,8 % zdravih pacientov, kjer je bila koncentracija noradrenalina povišana). Koncentracija adrenalina pri zdravih pacientih ni bila povišana.
- V preiskovani skupini bolnih pacientov s *KO za endokrinologijo (19)* smo izračunali mediano za adrenalin in noradrenalin, ki je znašala 5,5 nmol/mmol in 46,4 nmol/mmol. Zvišano koncentracijo adrenalina oz. noradrenalina je imelo 36,8 % bolnih pacientov.
- V preiskovani skupini bolnih pacientov s *KO za hipertenzijo (13)* pa smo izračunali mediano za adrenalin in noradrenalin, ki je znašala 5 nmol/mmol in 48,2 nmol/mmol. Zvišano koncentracijo adrenalina oz. noradrenalina je imelo 15,4 % oz. 23,1 % bolnih pacientov.

- Razlike v vrednosti adrenalina in noradrenalina med oddelkoma pri bolnih pacientih niso bile statistično značilne, opazili pa smo tendenco višjih vrednosti adrenalina in noradrenalina v skupini bolnih pacientov s *KO za endokrinologijo*. Pričakovali smo, da bomo dobili statistično značilne razlike med oddelkoma pri bolnih pacientih, vendar smo imeli premajhen vzorec bolnih pacientov.

Za boljšo interpretacijo rezultatov pri bolnih pacientih bi potrebovali več podatkov (družinsko anamnezo, dedne dejavnike, vrednost krvnega tlaka, prisotnost kliničnih znakov, podatke o jemanju zdravil, ki lahko vplivajo na koncentracijo adrenalina in noradrenalina ...). Prav tako bi bil za kritično in natančnejše ovrednotenje rezultatov primernejši večji vzorec pacientov in druga metoda, ki bi bila bolj občutljiva.

Občutljivost naše metode za diagnosticiranje feokromocitoma je bila nizka ob zadostno veliki specifičnosti. Uporabiti bi morali bolj občutljivo metodo za diagnosticiranje feokromocitoma. V številnih študijah je opisana kot najbolj primerna metoda merjenje metanefrina in normetanefrina v 24-urnem urinu. S to metodo najbolj napovemo % feokromocitoma.

7. LITERATURA

1. Kocijančič A: Interna medicina, tretja izdaja, DZS, Ljubljana, 2005: 859–861.
2. Berkow R et al.: Veliki zdravstveni priročnik, Založba Mladinska knjiga, Ljubljana, 2001: 694–717.
3. Joško Osredkar: Izbrana poglavja iz klinične kemije, Fakulteta za Farmacijo Univerze v Ljubljani, Ljubljana, maj 2008: 16–36.
4. http://sl.wikipedia.org/wiki/Endokrini_sistem
5. Štiblar Martinčič D: Anatomija, histologija, fiziologija, 1. Izdaja, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, 2007: 80–85.
6. Fras A: Onkologija, Katedra za onkologijo in radioterapijo, Onkološki inštitut, Ljubljana, 1994: 341–347.
7. Kocjančič A: Endokrinologija, DZS, Ljubljana, 1987: 230–23.
8. <http://www.farma-drustvo.si/.../Klinicna%20biokemija%20ii/.../01predavanja.doc>
9. http://www.farmacija.ac.me/admindoc/Adrenergicki_lekovi.pdf
10. Williams D, Lemke T: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, Fifth edition, Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2002: 292-314.
11. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Adrenalin>
12. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Noradrenalin>
13. Bergquist J, Sciubisz A, Kaczor A, Silberring J: Catecholamines and methods for their identification and quantitation in biological tissues and fluids. *Journal of Neuroscience Methods* 2002; 113: 1–13.
14. Lucon A, Halpern A, Arap S et al: Pheochromocytoma: study of 50 cases. *J Urol* 1997; 157: 1208–1212.
15. Franca M, Cosentino M, Bombelli R, Ferrari M et al: Endogenous catecholamine synthesis, metabolism, storage, and uptake in human peripheral blood mononuclear cells. *Experimental Hematology* 1999; 27: 489–495.
16. Eisenhofer G, Kopin I, Goldstein D: Catecholamine metabolism: A Contemporary View with Implication for Physiology and Medicine. *Pharmacol. Rew* 2004; 56: 331-349.
17. Kvetnansky R, Sabban E, Palkovits M: Catecholaminergic system in stress: Structural and molecular genetic approaches. *Physiological Reviews* 2009; 89 (2): 535-606.

18. Lee T, Stitzel R: Adrenomimetic drugs, *Modern Pharmacology with Clinical Applications*, sixth edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2004: 96-109.
19. Bravo EL: Evolving concepts in the pathophysiology, diagnosis, and treatment of pheochromocytoma. *Endocr Rev* 1994; 15: 356–368.
20. Reisch N, Peczkowska M, Januszewicz A: Pheochromocytoma: presentation, diagnosis, and treatment. *Journal of Hypertension* 2006; 24: 2331–2339.
21. Boomsma F, Alberts G, van Eijk L, Schalekamp MA: Optimal collection and storage conditions for catecholamine measurements in human plasma and urine. *Clin Chem* 1993; 39: 2503–8.
22. Sevens C, Gerlo M et al: Urinary and plasma catecholamines and urinary catecholamine metabolites in pheochromocytoma: diagnostic value in 19 cases. *Clinical Chemistry* 1994; 40: 250–256.
23. Lenders JW, Keiser HR, Goldstein DS et al: Plasma metanephrine in the diagnosis of pheochromocytoma. *Ann Intern Med.* 1996; 123: 101–109.
24. Walther M, Keiser H, Linehan W: Pheochromocytoma: evaluation, diagnosis and treatment. *World journal of urology* 1999; 17(1): 35–39.
25. Boyle J, Davidson D, Colin G et al: Comparison of Diagnostic Accuracy of Urinary Free Metanephrines, Vanillyl Mandelic Acid, and Catecholamines and Plasma Catecholamines for diagnosis of Pheochromocytoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007; 92: 4602–4608.
26. http://www.kclj.si/kikkb/preiskave/preiskave_m.html
27. Manger WM, Gifford RW: Pheochromocytoma. *J Clin Hypertens* 2002; 4: 62–72.
28. Waguespack SG, Rich T, Grubbs E, et al: A Current Review of the Etiology, Diagnosis, and Treatment of Pediatric Pheochromocytoma and Paraganglioma. *J Clin Endocrinol Metab* Mar 9 2010; 10: 2009–2030.
29. Neumann HP, Berger DP, Sigmund G et al: Pheochromocytomas, multiple endocrine neoplasia type 2, and von Hippel-Lindau disease. *N Engl J Med* Nov 18 1993; 329(21): 1531–8.
30. Avital H, Inabnet W: Malignant pheochromocytoma: a review. *The American Journal of Surgery* 2010; 10: 4–12.
31. Zelinka T, Pacak K, et al: Characteristics of blood pressure in pheochromocytoma. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006; 1073: 86-93.

32. Rao F, Keiser H. R, O'Connor D. R: Malignant pheochromocytoma: chromaffin granule transmitters and response to treatment. Department of Medicine and Center for Molecular Genetics 2000; 36:1045–1052.
33. Lenders JW, Eisenhofer G, Mannelli M, Pacak K: Phaeochromocytoma. Lancet 2005; 366: 665–675.
34. Lenders JWM, Pacak K, Walther MM: Biochemical diagnosis of pheochromocytoma; which test is best? JAMA 2002; 287(11): 1427–34.
35. Raber W, Rafflesberg W, Bischof M et al: Diagnostic efficacy of unconjugated plasma metanephrines for the detection of pheochromocytoma. Arch Intern Med 2000; 160: 2957–2963.
36. Eisenhofer G, Siegert G, Kotzerke J, Bornstein SR, Pacak K: Current progress and future challenges the biochemical diagnosis and treatment of pheochromocytoma and paragangliomas. Horm Metab Res 2008; 40: 329–337.
37. Sawka AM, Jaeschke R, Singh RJ, Young WF: A comparison of biochemical tests for phaeochromocytoma: measurements of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24- hour urinary metanephrines and catecholamines. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88: 553–558.
38. Hernandez C, Sanchez M, Alvarez A et al: A five Year report on experience in the detection of pheochromocytoma. Clin Biochem 2000; 33: 649–655.
39. Fung M, Viveros O, O'Connor D: Diseases of the adrenal medulla. Acta Physiologica 2009; 192: 325-335.
40. Nakao K, Itoh H, Takaya K: Current topics in pheochromocytoma. Biotned Pharmacother 2000; 54: 124–128.
41. Ilias I, Pacak K: Current approaches and recommended algorithm for diagnostic localisation of pheochromocytoma. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 2004; 89(2): 479–91.
42. Kaltsas G, Korbonits M, Heintz E, et al: Comparison of somatostatin analog and meta-iodobenzylguanidine radionuclides in the diagnosis and localization of advanced neuroendocrine tumors. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86: 895–902.
43. Pacak K, Linehan M, Eisenhofer G, McClellan W, Goldstein D: Recent advances in genetics, diagnosis, localization, and treatment of pheochromocytoms. Ann Intern Med 2001; 134: 315–329.
44. <http://emedicine.medscape.com/article/124059-overview>

45. Wong C, Yu R: Preoperative preparation for pheochromocytoma resection: physician survey and clinical practice. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. Jul 16 2009; 118 (7): 400–404.
46. Scholz T, Eisenhofer G, Pacak K et al: Current treatment of malignant pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1217–1225.
47. SOP Določanje kreatinina v urinu, Interno navodilo za delo z Dimension® Xpand (dokumentacija se nahaja na delovnem mestu).
48. Vaishya R, Arora S, Singh B, Mallika V: Modification of jaffe's kinetic method decreases bilirubin interference. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2010; 25: 64–66.
49. Carl A, Burtis, Edward R. Ashwood: *Tietz textboool org clinical chemistry*, second edition, W. B. Saunders Company 1994:1530–1540.
50. <http://www.gmi-inc.com/Dade-Dimension-Xpand-Clinical-Chemistry-System.html>
51. SOP Določanje adrenalina v urinu, Interno navodilo za delo (dokumentacija se nahaja na delovnem mestu).
52. SOP Določanje noradrenalina v urinu, Interno navodilo za delo (dokumentacija se nahaja na delovnem mestu).
53. Žorž M: HPLC, samozaložba, Ljubljana, januar 1991.
54. Brodnjak Vončina D: *Analizna kemija II*, zbrano gradivo, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Maribor, 2006: 86–92.
55. Prošek M, Križman M, Milivojević: *Kromatografija seminar*, Trzin 2004: 1–7.
56. <http://www.labextreme.com/detail.cfm?autonumber=80056To>.
57. Kotnik V: *Imunološki priročnik*, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Ljubljana, 2010: 122–127, 139.
58. Premik M: *Uvod v epidemiologijo*, Medicinska fakulteta, Inštitut za socialno medicino, Ljubljana, 1998: 96–97.
59. Mannelli M, Ianni L, Cilotti A et al: Pheochromocytoma in Italy: a multicentric retrospective study. *European Journal of Endocrinology* 1999; 141: 619–624.

8. PRILOGA

Preglednica 1: Prikaz pacientov, katerim feokromocitom ni bil diagnosticiran, njihovega spola, starosti, datuma sprejema, vrednosti koncentracije adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu in iz katerega oddelka so pacienti. Ti pacienti so bili obravnavani na *KO za endokrinologijo* in na *KO za hipertenzijo*.

Zap. številka	Spol	Starost (let)	Oddelek *	Datum sprejema	dU adrenalin/kreatinin (nmol/mmol)	dU noradrenalin/kreatinin (nmol/mmol)
1	Ž	86	E	4. 1. 2010	pod 0,8	20,6
2	Ž	45	E	4. 1. 2010	1,1	24,5
3	Ž	72	E	8. 1. 2010	pod 0,8	10,9
4	M	51	E	11. 1. 2010	2,7	38,2
5	Ž	55	E	11. 1. 2010	0,9	27,7
6	M	75	E	11. 1. 2010	2,9	26,8
7	M	71	E	13. 1. 2010	pod 0,8	15,1
8	Ž	68	E	14. 1. 2010	2,6	35,5
9	Ž	53	E	15. 1. 2010	1,1	20,3
10	M	52	E	18. 1. 2010	2,4	16,7
11	M	31	E	18. 1. 2010	3,7	12,7
12	Ž	31	E	18. 1. 2010	pod 0,8	13,5
13	Ž	41	E	19. 1. 2010	pod 0,8	21,4
14	Ž	51	E	25. 1. 2010	pod 0,8	29,4
15	M	70	E	25. 1. 2010	pod 0,8	18,3
16	Ž	57	E	25. 1. 2010	1,3	20,7
17	Ž	41	E	27.1.2010	1,1	27,4
18	M	46	E	1. 2. 2010	0,9	21,6
19	M	59	E	1. 2. 2010	pod 0,8	16
20	Ž	66	E	1. 2. 2010	pod 0,8	12,1
21	M	66	E	1. 2. 2010	10,4	25,6

22	M	75	E	1. 2. 2010	0,8	24,4
23	M	75	E	4. 2. 2010	0,8	19,4
24	Ž	62	E	9. 2. 2010	6,8	23,1
25	Ž	70	E	9. 2. 2010	pod 0,8	17
26	Ž	57	E	9. 2. 2010	9,9	24,3
27	M	50	E	9. 2. 2010	5,1	27,4
28	M	44	E	9. 2. 2010	2,1	17,2
29	Ž	63	E	11. 2. 2010	7,2	13,1
30	Ž	43	E	12. 2. 2010	3	28,6
31	Ž	45	E	15. 2. 2010	pod 0,8	14,7
32	Ž	52	E	15. 2. 2010	pod 0,8	13,3
33	M	77	E	15. 2. 2010	pod 0,8	33,2
34	M	71	E	15. 2. 2010	1,3	26,9
35	M	67	E	15. 2. 2010	4,1	12,7
36	M	58	E	22. 2. 2010	1,9	19,1
37	M	67	E	22. 2. 2010	1,4	17,7
38	Ž	77	E	22. 2. 2010	1,6	22,5
39	Ž	68	E	25. 2. 2010	4,7	15,4
40	Ž	74	E	1. 3. 2010	2,1	22,7
41	M	44	E	2. 3. 2010	2,2	20,6
42	Ž	68	E	4. 3. 2010	3,1	29,7
43	Ž	33	E	5. 3. 2010	1,7	26,7
44	M	78	E	8. 3. 2010	2,4	10,7
45	M	70	E	8. 3. 2010	3,9	33
46	M	36	E	15. 3. 2010	1,6	12,2
47	Ž	32	E	18.3. 2010	1,8	17,1
48	M	76	E	22. 3. 2010	pod 0,8	21,7
49	M	54	E	22. 3. 2010	0,8	25,3
50	Ž	69	E	22. 3. 2010	5,1	37,1
51	M	78	E	22. 3. 2010	1,6	24,8
52	Ž	76	E	24. 3. 2010	5,9	26,4
53	Ž	46	E	26. 3. 2010	2,8	14,4

54	M	62	E	29. 3. 2010	pod 0,8	37,2
55	M	31	E	29. 3. 2010	2,4	19
56	M	32	E	29. 3. 2010	pod 0,8	6,8
57	Ž	85	E	29. 3. 2010	1,6	24,3
58	Ž	59	E	29. 3. 2010	pod 0,8	29,7
59	Ž	73	E	29. 3. 2010	pod 0,8	23,2
60	M	86	E	29. 3. 2010	2,6	20
61	M	70	E	29. 3. 2010	pod 0,8	24,4
62	M	78	E	6. 4. 2010	1,4	13,5
63	M	64	E	6. 4. 2010	0,9	23,5
64	Ž	35	E	6. 4. 2010	1,9	31,1
65	M	29	E	6. 4. 2010	6,8	25,9
66	Ž	21	E	6. 4. 2010	1,7	25,3
67	Ž	57	E	8. 4. 2010	2,5	27
68	Ž	66	E	9. 4. 2010	0,9	7,8
69	M	30	E	9. 4. 2010	1,1	11,4
70	M	70	E	12. 4. 2010	4,6	18,1
71	Ž	53	E	12. 4. 2010	1,5	21,8
72	Ž	72	E	16. 4. 2010	1,8	79,3 ↑
73	Ž	59	E	19. 4. 2010	1,6	49,3
74	M	72	E	19. 4. 2010	pod 0,8	24,1
75	Ž	82	E	20. 4. 2010	1	55,6
76	M	65	E	23. 4. 2010	1,6	24
77	Ž	68	E	23. 4. 2010	1,4	35,8
78	Ž	50	E	26.4. 2010	1,4	27,6
79	M	60	E	26.4. 2010	2,4	32,3
80	Ž	30	E	26. 4. 2010	1,6	16,5
81	M	30	E	28. 4. 2010	1,7	15,4
82	M	68	E	28. 4. 2010	3,9	33,8
83	Ž	62	E	29. 4. 2010	7,9	37,3
84	Ž	83	E	3. 5. 2010	pod 0,8	12,8
85	Ž	74	E	3. 5. 2010	4	14,2

86	M	76	E	6. 5. 2010	13,6	48,4
87	Ž	45	E	10. 5. 2010	pod 0,8	35,4
88	M	42	E	12. 5. 2010	3,5	23,6
89	M	61	E	12. 5. 2010	4,2	34,6
90	Ž	41	E	14. 5. 2010	3,3	20,7
91	M	56	E	17. 5. 2010	1,2	22,4
92	M	24	E	17. 5. 2010	1,3	15,6
93	Ž	60	E	17. 5. 2010	2,5	17
94	Ž	57	E	18. 5. 2010	pod 0,8	12,1
95	Ž	71	E	19. 5. 2010	2,3	30
96	Ž	55	E	20. 5. 2010	2,7	20
97	Ž	65	E	21. 5. 2010	pod 0,8	26,8
98	Ž	71	E	24. 5. 2010	1,5	33,4
99	Ž	80	E	24. 5. 2010	1,4	20,2
100	Ž	64	E	24. 5. 2010	pod 0,8	23
101	M	60	E	26. 5. 2010	1,5	26,5
102	M	37	E	27. 5. 2010	1,1	11,4
103	Ž	74	E	27. 5. 2010	1,1	24,9
104	M	50	E	28.5.2010	pod 0,8	35,6
105	Ž	73	E	31.5.2010	4,8	65,2
106	Ž	81	E	31.5.2010	0,8	26,6
107	M	62	E	2. 6. 2010	2,5	16,4
108	M	57	E	7. 6. 2010	2,3	22,8
109	M	58	E	7. 6. 2010	1,8	14,2
110	M	67	E	7. 6. 2010	pod 0,8	12,8
111	M	63	E	7. 6. 2010	1,5	16,1
112	Ž	48	E	8. 6. 2010	2	42,6
113	Ž	52	E	8. 6. 2010	pod 0,8	7,9
114	Ž	72	E	9. 6. 2010	1,1	33,9
115	Ž	70	E	11. 6. 2010	1,1	18,3
116	Ž	58	E	14. 6. 2010	1,4	24,2
117	Ž	56	E	14. 6. 2010	0,8	13,7

118	Ž	49	E	14. 6. 2010	1,2	27,4
119	M	72	E	18. 6. 2010	pod 0,8	24,5
120	Ž	30	E	18. 6. 2010	pod 0,8	24,7
121	Ž	32	E	21. 6. 2010	3,8	26,5
122	M	63	E	21. 6. 2010	pod 0,8	11,9
123	M	42	E	23. 6. 2010	2,3	20,5
124	M	59	E	28. 6. 2010	1,5	7,8
125	Ž	59	E	1. 7. 2010	2,1	51,4
126	Ž	53	E	2. 7. 2010	2,1	30,6
127	Ž	64	E	5. 7. 2010	1,4	18,8
128	M	57	E	5. 7. 2010	0,8	13,1
129	Ž	58	E	5. 7. 2010	2,2	16,3
130	Ž	43	E	8. 7. 2010	1,3	25,9
131	M	71	E	12. 7. 2010	2,6	22,4
132	Ž	83	E	12. 7. 2010	1,5	22,3
133	Ž	64	E	12.7.2010	1,7	36,9
134	M	55	E	19. 7. 2010	3,3	16,5
135	Ž	53	E	20. 7. 2010	pod 0,8	18,4
136	M	69	E	26. 7. 2010	5,2	13,3
137	Ž	57	E	26. 7. 2010	1,5	25,4
138	Ž	27	E	30. 7. 2010	0,7	11,2
139	Ž	58	E	5. 8. 2010	2,9	23,2
140	Ž	68	E	6. 8. 2010	9,6	67,1 ↑
141	M	52	E	9. 8. 2010	5,1	12
142	Ž	73	E	9. 8. 2010	0,7	5,5
143	M	69	E	9. 8. 2010	1,6	6,1
144	M	45	E	10. 8. 2010	2,8	4,4
145	Ž	63	E	11. 8. 2010	3,7	18,9
146	M	53	E	13. 8. 2010	4,9	28,5
147	Ž	68	E	16. 8. 2010	1	9,3
148	M	65	E	16. 8. 2010	3	59,7
149	Ž	68	E	16. 8. 2010	2,8	9,5

150	Ž	43	E	16. 8. 2010	1,9	28,9
151	Ž	77	E	16. 8. 2010	pod 0,8	12,6
152	Ž	76	E	20. 8. 2010	2,4	19,5
153	Ž	30	E	23. 8. 2010	pod 0,8	9
154	Ž	36	E	23. 8. 2010	1,7	17,6
155	Ž	71	E	23. 8. 2010	pod 0,8	8
156	Ž	89	E	25. 8. 2010	2,4	16,1
157	Ž	54	E	27. 8. 2010	1,4	16,8
158	Ž	43	E	30. 8. 2010	0,9	13,9
159	Ž	50	E	30. 8. 2010	pod 0,8	15
160	M	57	E	30. 8. 2010	1,6	10,6
161	Ž	58	E	30. 8. 2010	0,8	18,6
162	Ž	47	E	3. 9. 2010	2,2	19,7
163	M	62	E	6. 9. 2010	1,8	33,5
164	Ž	51	E	6. 9. 2010	0,9	14,3
165	M	61	E	6. 9. 2010	0,8	12,2
166	Ž	60	E	6. 9. 2010	pod 0,8	18,6
167	M	25	E	7. 9. 2010	1,4	13,3
168	Ž	76	E	7. 9. 2010	pod 0,8	18,6
169	Ž	73	E	8. 9. 2010	5,2	49,9
170	Ž	65	E	9. 9. 2010	pod 0,8	14,1
171	Ž	74	E	10. 9. 2010	1,7	23,1
172	Ž	57	E	10. 9. 2010	pod 0,8	15,4
173	Ž	53	E	13. 9. 2010	2,3	39,5
174	Ž	77	E	13. 9. 2010	pod 0,8	34,6
175	Ž	30	E	13. 9. 2010	pod 0,8	26,5
176	M	56	E	13. 9. 2010	2,4	33
177	M	71	E	13. 9. 2010	1,4	49,4
178	Ž	48	E	14. 9. 2010	3,3	42,4
179	Ž	25	E	14. 9. 2010	1	36,1
180	Ž	55	E	20. 9. 2010	0,8	20,6
181	M	26	E	20. 9. 2010	1,5	10,4

182	M	50	E	20. 9. 2010	pod 0,8	12,6
183	M	16	E	20. 9. 2010	pod 0,8	pod 10
184	Ž	52	E	20. 9. 2010	1,4	25,5
185	M	44	E	20. 9. 2010	1,7	18,5
186	Ž	80	E	20. 9. 2010	pod 0,8	11
187	Ž	70	E	20. 9. 2010	0,5	47,5
188	Ž	66	E	23. 9. 2010	1	20,3
189	M	60	E	24. 9. 2010	pod 0,8	17,9
190	Ž	74	E	27. 9. 2010	1,9	27,4
191	Ž	32	E	27. 9. 2010	pod 0,8	18,8
192	Ž	31	E	27. 9. 2010	pod 0,8	12,4
193	M	72	E	27. 9. 2010	2,5	25,2
194	Ž	42	E	28. 9. 2010	0,8	11,3
195	Ž	59	E	28. 9. 2010	1,1	12,3
196	Ž	69	E	4. 10. 2010	pod 0,8	21,5
197	Ž	48	E	4. 10. 2010	pod 0,8	17,6
198	Ž	40	E	7. 10. 2010	4,2	23,3
199	Ž	20	E	7. 10. 2010	0,8	9,8
200	Ž	67	E	11. 10. 2010	1,5	20,5
201	Ž	49	E	11. 10. 2010	pod 0,8	14,7
202	Ž	56	E	11. 10. 2010	1,7	35,9
203	M	54	E	11. 10. 2010	2,6	21,4
204	Ž	58	E	11. 10. 2010	pod 0,8	14,8
205	Ž	42	E	13. 10. 2010	3,9	25,4
206	M	60	E	15. 10. 2010	2,2	13,9
207	Ž	69	E	18. 10. 2010	1,1	36,5
208	Ž	67	E	19. 10. 2010	6,9	25,7
209	Ž	66	E	25. 10. 2010	1,4	24,3
210	Ž	27	E	25.10.2010	1,9	19,3
211	Ž	76	E	25. 10. 2010	1,1	24,2
212	Ž	59	E	26. 10. 2010	pod 0,8	38,8
213	Ž	28	E	27. 10. 2010	1,3	20

214	Ž	51	E	29. 10. 2010	1,3	37,2
215	Ž	38	E	29. 10. 2010	1,6	20,9
216	Ž	68	E	29. 10. 2010	pod 0,8	20,4
217	M	52	E	2. 11. 2010	1	14,5
218	Ž	61	E	2. 11. 2010	2,4	23,7
219	Ž	30	E	2. 11. 2010	0,9	12,9
220	Ž	53	E	3. 11. 2010	5,7	12,2
221	M	55	E	3. 11. 2010	0,8	9,4
222	M	60	E	5. 11. 2010	2,4	22,6
223	Ž	50	E	5. 11. 2010	4,4	25,9
224	Ž	24	E	8. 11. 2010	2,1	17
225	Ž	40	E	8. 11. 2010	1,4	18,7
226	Ž	57	E	8. 11. 2010	pod 0,8	17,5
227	M	70	E	8. 11. 2010	0,3	23,9
228	Ž	87	E	11. 11. 2010	0,8	28,7
229	Ž	53	E	12. 11. 2010	0,8	28,9
230	M	47	E	12. 11. 2010	pod 0,8	13
231	Ž	21	E	15. 11. 2010	pod 0,8	11,3
232	M	44	E	15. 11. 2010	1,3	21,3
233	M	58	E	18. 11. 2010	1,2	20,8
234	Ž	45	E	18. 11. 2010	0,9	80,6 ↑
235	M	74	E	22. 11. 2010	pod 0,8	9,2
236	M	51	E	25. 11. 2010	1,9	23,3
237	Ž	42	E	26. 11. 2010	4,8	45,1
238	Ž	65	E	26. 11. 2010	2,9	58,4
239	Ž	54	E	29. 11. 2010	0,9	20,3
240	Ž	82	E	29. 11. 2010	2	28
241	Ž	45	E	29. 11. 2010	1,1	11,6
242	Ž	61	E	29. 11. 2010	pod 0,8	23
243	Ž	64	E	1. 12. 2010	1	33,8
244	M	68	E	6. 12. 2010	2,4	14,9
245	Ž	54	E	6. 12. 2010	3,1	32,8

246	Ž	85	E	6. 12. 2010	1,9	47,9
247	M	41	E	6. 12. 2010	1,6	13,2
248	Ž	55	E	6. 12. 2010	2	27,7
249	Ž	63	E	6. 12. 2010	1,7	41,9
250	M	61	E	7. 12. 2010	4	34,1
251	M	67	E	9. 12. 2010	0,8	27,2
252	M	62	E	10. 12. 2010	3,2	61,9
253	M	53	E	13. 12. 2010	3,3	16,4
254	Ž	73	E	13. 12. 2010	0,8	14,9
255	M	65	E	13. 12. 2010	pod 0,8	30
256	Ž	58	E	13. 12. 2010	0,9	18,1
257	Ž	42	E	13. 12. 2010	4,1	32,8
258	Ž	49	E	17. 12. 2010	2,2	26,3
259	M	89	E	20. 12. 2010	1,6	25,9
260	M	58	E	20. 12. 2010	4,3	13,2
261	M	40	E	20. 12. 2010	1,4	14,7
262	M	36	E	23. 12. 2010	1,8	30,7
263	M	66	E	24. 12. 2010	2,4	26
264	Ž	52	E	24. 12. 2010	pod 0,8	31,3
265	M	73	E	24. 12. 2010	1,1	15,4
266	M	33	E	27. 12. 2010	1	9
267	Ž	87	E	27. 12. 2010	pod 0,8	24,2
268	Ž	57	E	27. 12. 2010	4,3	35,2
269	Ž	68	E	30. 12. 2010	pod 0,8	20,9
270	M	51	E	31. 12. 2010	pod 0,8	12,5
271	M	74	H	5. 1. 2010	pod 0,8	14,8
272	M	74	H	13. 1. 2010	pod 0,8	14,6
273	M	74	H	18. 1. 2010	pod 0,8	10
274	Ž	65	H	19. 1. 2010	1,6	28,1
275	Ž	70	H	27. 1. 2010	2,1	39,5
276	Ž	50	H	29. 1. 2010	pod 0,8	pod 10
277	Ž	24	H	29. 1. 2010	1,5	18,10

278	Ž	63	H	3. 2. 2010	4,5	20,20
279	Ž	45	H	9. 2. 2010	1,9	23,2
280	M	20	H	9. 2. 2010	2,6	11,9
281	Ž	62	H	9. 2. 2010	8,5	17,9
282	Ž	78	H	11. 2. 2010	1,9	10,7
283	Ž	32	H	18. 2. 2010	4,8	23,9
284	M	28	H	23. 2. 2010	1,9	15,2
285	Ž	82	H	1. 3. 2010	1,3	26,4
286	M	37	H	2. 3. 2010	1,7	32,4
287	Ž	28	H	8. 3. 2010	2,2	31,3
288	Ž	73	H	9. 3. 2010	3,6	33,8
289	Ž	57	H	15. 3. 2010	1,6	31,4
290	Ž	62	H	16. 3. 2010	5	31,6
291	Ž	27	H	19. 3. 2010	2	30,4
292	Ž	32	H	24. 3. 2010	0,8	24,6
293	Ž	25	H	25. 3. 2010	1,5	17,9
294	Ž	66	H	1. 4. 2010	pod 0,8	29,9
295	Ž	41	H	12. 4. 2010	1,9	25,7
296	M	59	H	14. 4. 2010	2,3	37,2
297	M	41	H	16. 4. 2010	2,7	22,5
298	M	49	H	20. 4. 2010	1,3	26,5
299	Ž	55	H	26. 4. 2010	4,4	19,3
300	Ž	72	H	5. 5. 2010	pod 0,8	29,7
301	Ž	63	H	7. 5. 2010	1,4	19,9
302	Ž	75	H	11. 5. 2010	0,8	55,5
303	M	24	H	11. 5. 2010	1,4	21,3
304	Ž	52	H	12. 5. 2010	3,8	28
305	Ž	44	H	20. 5. 2010	pod 0,8	12,8
306	Ž	72	H	20. 5. 2010	1,3	42,2
307	Ž	72	H	24. 5. 2010	1,1	24,4
308	M	29	H	25. 5. 2010	3,3	23,6
309	Ž	63	H	27. 5. 2010	pod 0,8	38,7

310	Ž	39	H	27. 5. 2010	4,3	37,6
311	Ž	31	H	28. 5. 2010	2,6	24,9
312	Ž	29	H	1. 6. 2010	0,9	15,3
313	Ž	54	H	3. 6. 2010	pod 0,8	19,2
314	Ž	69	H	3. 6. 2010	3,2	32,1
315	Ž	69	H	3. 6. 2010	2,7	28,7
316	M	48	H	4. 6. 2010	0,9	27
317	Ž	62	H	7. 6. 2010	2,5	41,8
318	Ž	56	H	8. 6. 2010	6,1	24
319	M	25	H	9. 6. 2010	1	16,2
320	Ž	65	H	10. 6. 2010	4,8	52,9
321	Ž	31	H	16. 6. 2010	2,5	19,2
322	Ž	67	H	18. 6. 2010	2,8	64,8
323	M	59	H	21. 6. 2010	pod 0,8	10,4
324	Ž	67	H	22. 6. 2010	pod 0,8	13,5
325	M	29	H	7. 7. 2010	1,3	12,6
326	Ž	82	H	9. 7. 2010	5,3	25,4
327	M	50	H	12. 7. 2010	2,3	16
328	Ž	33	H	19. 7. 2010	pod 0,8	13
329	M	48	H	26. 7. 2010	3,2	27,2
330	Ž	66	H	28. 7. 2010	1,3	36,5
331	M	21	H	2. 8. 2010	2,7	12
332	Ž	73	H	2. 8. 2010	1,8	6,2
333	Ž	73	H	10. 8. 2010	3,7	27,2
334	Ž	73	H	11. 8. 2010	5,5	19,9
335	Ž	42	H	19. 8. 2010	8,8	44,10
336	Ž	66	H	23. 8. 2010	0,8	7,8
337	Ž	84	H	30. 8. 2010	1,1	13,30
338	Ž	84	H	31. 8. 2010	pod 0,8	16,80
339	Ž	35	H	1. 9. 2010	8,1	32,50
340	Ž	51	H	3. 9. 2010	1,9	29,3
341	Ž	33	H	7. 9. 2010	2,9	25,60

342	Ž	62	H	7. 9. 2010	pod 0,8	23,40
343	M	54	H	10. 9. 2010	0,9	14,40
344	Ž	53	H	14. 9. 2010	1,7	31,80
345	Ž	66	H	22. 9. 2010	1,4	30,30
346	M	61	H	27. 9. 2010	1,6	19,50
347	Ž	28	H	28. 9. 2010	0,8	12,30
348	M	41	H	29.9.2010	pod 0,8	6,40
349	M	62	H	5.10. 2010	1,2	21,80
350	M	42	H	6. 10. 2010	0,8	12,60
351	M	46	H	7. 10. 2010	pod 0,8	13,60
352	M	61	H	11. 10. 2010	2,2	16,40
353	Ž	59	H	11. 10. 2010	1,5	31,70
354	Ž	77	H	13. 10. 2010	1,1	30,40
355	Ž	76	H	15. 10. 2010	4,8	36,10
356	Ž	46	H	18. 10.2010	pod 0,8	26,50
357	Ž	74	H	19. 10. 2010	1,7	19,30
358	Ž	76	H	19. 10. 2010	1,4	38,80
359	Ž	74	H	19. 10. 2010	pod 0,8	12,10
360	M	45	H	22. 10. 2010	pod 0,8	29,20
361	Ž	82	H	25. 10. 2010	5,8	27,50
362	Ž	55	H	25. 10. 2010	0,9	28,10
363	Ž	77	H	2. 11. 2010	pod 0,8	55,00
364	M	59	H	4. 11. 2010	1,1	9,90
365	M	72	H	4. 11. 2010	pod 0,8	11,40
366	Ž	46	H	8. 11. 2010	pod 0,8	10,00
367	Ž	62	H	9. 11. 2010	2,1	29,10
368	Ž	78	H	10. 11. 2010	pod 0,8	31,80
369	Ž	60	H	10. 11. 2010	pod 0,8	41,60
370	M	50	H	10. 11. 2010	pod 0,8	18,20
371	M	23	H	12. 11. 2010	1,8	11,90
372	Ž	61	H	15. 11. 2010	2,3	31,20
373	Ž	56	H	17. 11. 2010	1,2	17,60

374	Ž	67	H	22. 11. 2010	pod 0,8	24,50
375	M	53	H	22. 11. 2010	1,7	26,90
376	Ž	82	H	24. 11. 2010	2,9	20,30
377	Ž	60	H	25. 11. 2010	2,7	35,80
378	Ž	84	H	29. 11. 2010	pod 0,8	9,80
379	Ž	86	H	6. 12. 2010	pod 0,8	10,70
380	Ž	57	H	6. 12. 2010	2,40	34,40
381	Ž	41	H	13. 12. 2010	1,2	32,30
382	M	44	H	14. 12. 2010	3,6	23,00
383	Ž	73	H	17. 12. 2010	1,5	24,60
384	Ž	55	H	20. 12. 2010	2,1	24,80
385	M	45	H	21. 12. 2010	1,8	25,20
386	Ž	69	H	27. 12. 2010	4	19,00
387	M	46	H	27. 12. 2010	1,5	11,20
388	Ž	73	H	29. 10. 2010	pod 0,8	24,40
389	M	24	H	29. 12. 2010	1,7	22,30

*E = KO za endokrinologijo; H = KO za hipertenzijo

Preglednica 2: Prikaz pacientov z diagnosticiranim feokromocitomom, njihovega spola, starosti, datuma sprejema, vrednosti koncentracije adrenalina in noradrenalina v 24-urnem urinu in iz katerega oddelka so pacienti. Pacienti so bili obravnavani na KO za endokrinologijo in na KO za hipertenzijo.

Zap. številka	Spol	Starost (let)	Oddelek *	Datum sprejema	dU adrenalin/ kreatinin (nmol/mmol)	dU noradrenalin/ kreatinin (nmol/mmol)
1	Ž	71	E	3. 1. 2010	4	81,2 ↑
2	Ž	70	E	14. 1. 2010	5,5	54
3	Ž	70	E	22. 2. 2010	1,9	66,8 ↑
4	Ž	52	E	8. 3. 2010	21 ↑	26,9
5	Ž	60	E	22. 3. 2010	20,6 ↑	97,3 ↑

6	M	62	E	26. 4. 2010	2,3	40,2
7	Ž	72	E	20. 5. 2010	2,5	46,4
8	M	62	E	24. 5. 2010	6,9	33,6
9	M	57	E	26. 5. 2010	35 ↑	25,7
10	Ž	71	E	9. 6. 2010	1,4	30,1
11	Ž	84	E	10. 6. 2010	3,7	41
12	Ž	74	E	14. 7. 2010	3,9	38,7
13	Ž	29	E	2. 8. 2010	17,3 ↑	60,5
14	Ž	42	E	23. 8. 2010	17,1 ↑	316,3 ↑
15	M	19	E	13. 9. 2010	20,5 ↑	781,6 ↑
16	M	49	E	29. 11. 2010	2,1	42,9
17	Ž	59	E	8. 12. 2010	4,1	97,5 ↑
18	Ž	46	E	13. 12. 2010	32,8 ↑	519 ↑
19	Ž	64	E	20. 12. 2010	5,8	32,1
20	Ž	76	H	8. 1. 2010	1,6	80,80 ↑
21	Ž	84	H	1. 2. 2010	1,6	43,70
22	Ž	75	H	1. 3. 2010	2	40,30
23	Ž	80	H	8. 3. 2010	7,3	46,50
24	Ž	48	H	22. 3. 2010	4,5	83,80 ↑
25	Ž	53	H	25. 3. 2010	5,7	50,50
26	Ž	74	H	11. 5. 2010	4,2	85,30 ↑
27	Ž	47	H	24. 5. 2010	5,9	48,20
28	Ž	60	H	18. 6. 2010	14 ↑	32,50
29	Ž	65	H	21. 7. 2010	3	43,60
30	Ž	56	H	27. 9. 2010	57,8 ↑	31,20
31	Ž	82	H	14. 10. 2010	6,8	52,50
32	M	64	H	23. 12. 2010	5	49,60

*E = KO za endokrinologijo; H = KO za hipertenzijo