

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**Кафедра фізіології, імунології і біохімії  
з курсом цивільного захисту та медицини**

**Кваліфікаційна робота  
магістра**

**на тему ВАНІЛІЛМИГДАЛЬНА КИСЛОТА ЯК ЛАБОРАТОРНИЙ МАРКЕР  
ЗАХВОРЮВАННЯ НА ФЕОХРОМАЦИТОМУ ТА НЕЙРОБЛАСТОМУ**

Виконала: студентка 2 курсу, групи 8.0911-б-з  
спеціальності 091 Біологія  
освітньої програми Біологія  
Клименко О. В.

Керівник доцент, к.б.н., Копійка В. В.

Рецензент доцент, к.б.н., Малько М. М.

Запоріжжя  
2022

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет біологічний

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Рівень вищої освіти магістр

Спеціальність 091 біологія

Освітня програма Біологія

**ЗАТВЕРДЖУ**

Завідувач  
кафедри

Куш О. Г.

«29» вересня 2021 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ**

Клименко Олені Вікторівні

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Ванілілмигдальна кислота як лабораторний маркер захворювання на феохромоцитому та нейробластому Vanillylmandelic acid as a laboratory disease marker for pheochromocytoma and neuroblastoma

керівник роботи Копійка Віра Вікторівна, к.б.н., доцент

затверджена наказом ЗНУ від «12» липня 2022 р. №835-с

2. Строк подання студентом роботи грудень 2022 року

3. Вихідні дані до роботи Дитяча онкологія є однією з найгостріших проблем сучасного світу. В останні роки суттєво підвищився інтерес до проблеми гормонально-активних пухлин наднирників та катехол-секретуючих пухлин, які відносяться до найбільш важких форм ендокринної патології

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1) визначити вміст ванілілминдальної кислоти у добовій сечі хворих на феохромоцитому та нейробластому; 2) встановити рівень гомованілінової кислоти у добовій сечі хворих на феохромоцитому та нейробластому; 3) дослідити концентрації загальних метанефринів у добовій сечі хворих на феохромоцитому та нейробластому; 4) використовуючи методи математичного аналізу встановити рівень кореляційного зв'язку між вказаними показниками; 5) підтвердити клініко-біохімічну доцільність визначення концентрації ВМК як лабораторного маркеру у діагностиці феохромоцитом та нейробластом.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) рисунків: рис. 3.1–3.3, табл. 2.1, 3.1–3.2

## 6. Консультанти роботи з вказівкою розділу

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 4	Гороховський Є. Ю., к.б.н., доцент		

7. Дата видачі завдання 29.09.2021 р.**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів проекту	Примітка
1	Пошук джерел літератури до теми кваліфікаційної роботи	Вересень - листопад 2021	Виконано
2	Оформлення розділу з огляду літератури	Грудень 2021	Виконано
3	Формування розділу «Матеріали та методи дослідження»	Січень 2022	Виконано
4	Формування бази експериментальних даних	Вересень 2021 – вересень 2022	Виконано
5	Статистична обробка експериментальних даних	жовтень 2022	Виконано
6	Формування дипломної роботи	Листопад 2022	Виконано
7	Оформлення матеріалів до захисту	Грудень 2022	Виконано
8	Попередній захист дипломної роботи	Грудень 2022	Виконано

Студентка

\_\_\_\_\_

О. В. Клименко

Керівник роботи (проекту)

\_\_\_\_\_

В. В. Копійка**Нормоконтроль пройдено**

Нормоконтролер

\_\_\_\_\_

Є. Ю. Гороховський

## РЕФЕРАТ

Робота викладена на 56 сторінках друкованого тексту, містить 3 таблиці та 3 рисунки. Перелік посилань включає 51 джерело.

Мета роботи – оцінити діагностичне значення визначення ванілілминдальної кислоти добової сечі як лабораторного маркеру феохромоцитом та нейробластоми.

Методи дослідження – визначення концентрації ванілілмигдальної, гомованілінової кислот та метанефринів загальних біохімічними методами аналізу.

В роботі вивчений рівень метаболітів катехоламінів у добовій сечі дітей, хворих на феохромоцитому та нейробластому. Обґрунтована доцільність визначення ванілілмигдальної кислоти в якості неінвазивного та інформативного лабораторного тесту.

Отримані результати можуть бути використані при обстеженні хворих на феохромоцитому та нейробластому на етапі первинної діагностики, в процесі їх стаціонарного та амбулаторного лікування, при розробці алгоритму лабораторного обстеження пацієнтів з метою диференційної діагностики катехол-секретуючих пухлин.

ВАНІЛІЛМИГДАЛЬНА КИСЛОТА, КАТЕХОЛАМІНИ,  
НАДНИРНИКИ, НЕЙРОБЛАСТОМА, ФЕОХРОМОЦИТОМА.

## ABSTRACT

The work is presented on 55 pages of printed text, contains 3 tables and 3 figures. The list of references includes 51 sources.

The purpose of the work is to evaluate the diagnostic value of the determination of vanillylmandelic acid in daily urine as a laboratory marker of pheochromocytoma and neuroblastoma.

Research methods – determination of the concentration of vanillylmandelic, homovanillic acids and metanephrines by general biochemical methods of analysis.

The paper examines the level of catecholamine metabolites in daily urine of children with pheochromocytoma and neuroblastoma. Reasoned expediency of determining vanillyl mandelic acid as a non-invasive and informative laboratory test.

The obtained results can be used in the examination of patients with pheochromocytoma and neuroblastoma at the stage of primary diagnosis, in the process of their inpatient and outpatient treatment, in the development of an algorithm for laboratory examination of patients for the purpose of differential diagnosis of catechol-secreting tumors.

VANILYLMANDELIC ACID, CATECHOLAMINE, ADRENAL GLANDS, NEUROBLASTOMA, PHEOCHROMOCYTOMA.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	8
ВСТУП.....	9
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	12
1.1 Роль надниркових залоз у організмі людини.....	12
1.2 Характеристика та клінічна картина феохромоцитоми.....	14
1.3 Сучасні підходи до лабораторної діагностики феохромоцитоми.....	16
1.3.1 Роль катехоламінів у діагностиці феохромоцитоми.....	16
1.3.2 Метанефрини та норметанефрини як маркер феохромоцитоми.....	17
1.3.3 Ванілілмигдальна та гомованілінова кислоти у лабораторній діагностиці феохромоцитоми.....	18
1.4 Характеристика нейробластоми. Сучасні уявлення про пухлину.....	20
1.5 Клінічна картина нейробластоми.....	22
1.6 Діагностика та лабораторні онкомаркери нейробластоми.....	24
1.6.1 Сучасна діагностика нейробластоми.....	24
1.6.2 Значення катехоламінів та їхніх метаболітів у лабораторній діагностиці нейробластоми.....	26
1.6.3 Нейрон-специфічна енолаза у хворих з нейробластомою.....	28
1.6.4 Гангліосаїди як маркери нейробластоми.....	29
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	30
2.1 Об'єкт дослідження.....	30
2.2 Методи дослідження.....	31
2.2.1 Дослідження вмісту ванілілмигдальної кислоти.....	31
2.2.2 Визначення метаболітів катехоламінів у добовій сечі.....	33
2.3 Статистична обробка отриманих результатів.....	34
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	35
3.1 Біохімічне дослідження добової сечі на вміст метаболітів	

катехоламінів у хворих на феохромоцитому.....	35
3.2 Дослідження метаболітів катехоламінів у добовій сечі пацієнтів з нейробластомою.....	37
3.3 Визначення кореляційних зв'язків між вивченими лабораторними показниками.....	39
4 ОХОРОНА ПРАЦІ.....	43
ВИСНОВКИ.....	49
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	50
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	51

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,  
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АКТГ	– адренокортикотропний гормон
ВМК	– ванілілмигдальна кислота
ГВК	– гомованілінова кислота
ДА	– дофамін
ДОФА	– 3,4-діоксифенілаланін
КА	– катехоламіни
КАП	– катехоламіновий приступ
КОМТ	– катехол-О-метилтрансфераза
КСП	– катехол-секретуючі пухлини
КТ	– комп'ютерна томографія
МАО	– моноаміноксидаза
МРТ	– магнітно-резонансна томографія
НБ	– нейробластома
ФХ	– феохромоцитома
NSE	– нейронспецифічна енолаза



## ВСТУП

Пухлинні захворювання надниркових залоз відносяться до найбільш важких форм ендокринної патології. В останні роки суттєво підвищився інтерес до проблеми гормонально-активних пухлин наднирників, які, за даними літератури, становлять до 50% усіх новоутворень цієї локалізації. Пухлини наднирників здатні не тільки призвести до слабкості та втоми, високої дратівливості, втрати ваги та безсоння, але також викликати серйозні ускладнення. Серед них зниження рівня цукру в крові, артеріальна гіпо- та гіпертензія, часта нудота, гіперпігментація шкіри. Мозковий шар надниркових залоз відповідає за синтез катехоламінів (адреналін і норадреналін), що впливають на роботу серця, артеріальний тиск, також розширюють просвіт бронхів, збільшують ліполіз, активують глікогеноліз і вироблення реніну [1].

Феохромоцитома та нейробластома – це пухлини, які секретують велику кількість катехоламінів (КА). Феохромоцитома може зустрічатись у будь-якому віці. Частота феохромоцитом серед хворих дітей 60% – хлопчики та 30-40% дівчатка. Приблизно у 10% випадків захворювання має спадковий характер, причому більше ніж у 70% хворих виявляються двобічні пухлини. Злоякісними бувають менше 10% феохромоцитом. Нейробластома – одна з найбільш поширених і в той же час специфічна для дитячого віку пухлина. Це захворювання спостерігається у дітей у віці від 3 місяців до 15 років. У хворих нейробластомою та феохромоцитомою відмічається підвищений рівень головного лабораторного маркера у сечі – ванілілмिغدальної кислоти (ВМК) [2].

Лабораторне діагностування нейробластоми та феохромоцитом є досить актуальним, оскільки, за даними медиків, нейробластома складає близько 6 – 8% всіх злоякісних пухлин в дитячому віці і в структурі захворювання посідає 4 – 5 місце, а феохромоцитома – складає 4 - 5%.

Вміст ВМК в добовій сечі, яка є похідним катехоламінів (адреналіну та норадреналіну) у дітей віком від 3 місяців до 12 років у нормі становить 3,8-15,1 мкмоль/л. При порушенні видільної функції нирок визначення її в сечі відображає об'єм утворення в організмі катехоламінів (КА). При захворюванні нейробластою та феохромоцитомою вміст ВМК значно збільшується. Це свідчить про те, що клітини пухлин секретують у великій кількості КА як доповнення до метаболітів. Дані щодо вмісту ваніліл-мигдальної кислоти в сечі мають важливе значення для клініко-біохімічної діагностики. У даному випадку для діагностування нейробластоми та феохромоцитом, оскільки із всієї кількості КА, які секретуються наднирниками, тільки 1 % виводиться з сечею в незміненому вигляді, в той час як у вигляді ВМК – біля 75%. Добре розуміння синтезу та метаболізму КА має велике значення для медичних цілей як при встановленні діагнозу, так і в ході лікування хворого і наступних спостереженнях за ним. У хворих нейробластою та феохромоцитомою, на відміну від інших пухлин, часто виявляється різке підвищення екскреції ВМК (в 85% випадків – нейробластома, 56% випадків – феохромоцитома) [1, 3].

Мета роботи – оцінити діагностичне значення визначення ванілілмигдальної кислоти добової сечі як лабораторного маркера феохромоцитом та нейробластоми.

Для досягнення поставленої мети були сформовані наступні задачі дослідження:

- 1) визначити вміст ванілілмигдальної кислоти у добовій сечі хворих на феохромоцитому та нейробластому;
- 2) встановити рівень гомованілінової кислоти у добовій сечі хворих на феохромоцитому та нейробластому;
- 3) дослідити концентрації загальних метанефринів у добовій сечі хворих на феохромоцитому та нейробластому;
- 4) використовуючи методи математичного аналізу, встановити рівень кореляційного зв'язку між вказаними показниками;

5) підтвердити клініко-біохімічну доцільність визначення концентрації ВМК як лабораторного маркеру у діагностиці феохромоцитом та нейробластоми.

Об'єкт дослідження: феохромоцитома, нейробластома.

Предмет дослідження: добова сеча.

Методи дослідження: біохімічні, хроматографічні, імуноферментні, математичні.

Основні положення, що виносяться на захист. Вивчений рівень метаболітів катехоламінів у сечі дітей, хворих на феохромоцитому та нейробластому. Обґрунтована доцільність визначення ванілілмигдальної кислоти в якості неінвазивного та інформативного лабораторного тесту.

Теоретична і практична цінність роботи. Отримані результати можуть бути використані при обстеженні хворих на феохромоцитому та нейробластому на етапі первинної діагностики, в процесі їх стаціонарного та амбулаторного лікування, при розробці алгоритму лабораторного обстеження пацієнтів з метою диференційної діагностики катехол-секретуючих пухлин.

## 1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Роль надниркових залоз у організмі людини

Наднирникові залози – ендокринні залози, які розташовуються на верхньому полюсі обох нирок, складаються з коркового і мозкового шарів і відповідають за вироблення ряду стероїдних гормонів і катехоламінів. У кірковому шарі надниркових залоз синтезуються такі групи гормонів:

1) глюкокортикоїди (основний представник – кортизол), які надають на організм антистресову, протишокову, імунорегулюючу, протизапальну, протиалергічну дію і впливають на метаболізм речовин і вироблення інших гормонів;

2) мінералокортикоїди (в основному, альдостерон), кінцева дія яких полягає в збільшенні об'єму циркулюючої крові і підвищенні рівня артеріального тиску;

3) андрогени – тільки після перетворення в тестостерон і дигідротестостерон проявляють свою основну фізіологічну дію, характерну для статевих гормонів.

Гіперфункція мозкового шару надниркових залоз призводить до того, що в організмі стрімко підвищується рівень катехоламінів. Йдеться про такі речовини, як норадреналін, дофамін, адреналін. Найпоширеніша причина виникнення надлишкової кількості гормонів – тривале перебування пацієнта в стані стресу. Ці речовини виробляються з метою допомогти тілу адаптуватися до несприятливих обставин навколишнього середовища. Постійний стрес, страх, очікування поганих подій, напруга змушують працювати наднирники в екстремальному режимі. Підвищена активність мозкового шару залози викликає такі прояви: стабільно високий артеріальний тиск; епізодичні скачки діастолічного або систолічного тиску, ще більше посилюють існуючу проблему; гіпертонічний криз, що супроводжується серйозним вегетативним розладами; підвищена тривожність, яку не викликає

ні одна об'єктивна причина; безпричинне відчуття страху; тремор рук; різка втрата ваги [4 – 6].

Якщо розвинулася хвороба в ранньому віці, швидше за все, мова йде про вроджені аномалії, які з'явилися в силу несприятливих обставин. Якщо ж недуга виникла в пацієнтів старше 40 років, є всі підстави підозрювати наявність злоякісних або доброякісних утворень в мозковому шарі залози, які об'єднуються в групу так званих катехол-секретуючих пухлин (КСП). До вказаної групи відносяться феохромоцитома та парагангліоми (гломусні пухлини) [7 – 9].

Феохромоцитома – це пухлина, що розвивається з хромафінних клітин, розташованих у наднирниках, а її симптоми пов'язані з надлишковим синтезом та секрецією катехоламінів [10].

Парагангліоми, або гломусні пухлини – це інші пухлини із хромафінних клітин екстраадrenalової локалізації, що походять з парагангліїв, які знаходяться вздовж парасимпатичних нервів голови, шиї і середостіння, вздовж парасимпатичного стовбура анте- та паравертебрально, за межами звичайного розташування симпатичних та парасимпатичних гангліїв, а також вздовж симпатичних нервових волокон, що іннервують органи малого тазу та заочеревинний простір. Парагангліоми можуть секретувати катехоламіни, можуть бути також гормонально неактивними [11, 12].

КСП зустрічаються у 0,2 – 0,6% хворих із артеріальною гіпертензією. Вони зазвичай розвиваються в 4-му – 5-му десятиріччі життя. Нерідко вони також спостерігаються в осіб молодого (переважно сімейні форми) та старшого віку [13].

Низкою досліджень встановлено, що 80 – 85% КСП локалізується в наднирниках (феохромоцитоми), а решта 15 – 20% - це екстраадrenalові парагангліоми. У 10 – 17% хворих ці пухлини мають злоякісний характер. Зустрічаються спорадичні або сімейні форми (до 40%). Останні

проявляються в молодшому віці та частіше мають характер множинних пухлин [14].

## 1.2 Характеристика та клінічна картина феохромоцитом

Феохромоцитома (ФХ) – це пухлина, що розвивається з хромафінних клітин, розташованих мозковому шарі надниркових залоз. Основні її клінічні симптоми пов'язані з надлишковим синтезом та секрецією катехоламінів. Ця пухлина – одна із частих причин артеріальної гіпертензії. Феохромоцитома зустрічається приблизно у 1% хворих з постійно підвищеним артеріальним тиском та піддається хірургічному лікуванню. Нерідко феохромоцитома залишається невиявленою. У таких випадках зустрічається високий ризик тяжких серцево-судинних порушень [15]. Як правило, феохромоцитома – доброякісна пухлина, яка походить із хромафінних клітин симпатoadреналової системи. У 90% випадків феохромоцитом виникають у мозковій речовині наднирників, в 8% — в аортальному поясничному параганглії. Рідше пухлини локалізуються поза наднирниками: менше чим 2% випадків— в черевній та грудній порожнині і менше чим в 0,1% випадків – в зоні ший. Є феохромоцитом, які локалізуються у передсерді (зазвичай лівому). Феохромоцитома може зустрічатись у будь-якому віці, але найбільш часто – між 20 – 40 роками. Частота феохромоцитом у дорослих чоловіків і жінок однакові, тоді як серед хворих дітей є гендерні розбіжності – серед хлопчиків захворювання зустрічається частіше. Загальний відсоток хворих хлопчиків складає 60%, тоді як дівчаток – 30 – 40%. Множинні пухлини (як наднирників, так і позанаднирниками) у дітей визначаються частіше, ніж у дорослих (відповідно у 35 і 8% випадків). Приблизно у 10% випадків захворювання має спадковий характер, причому більше ніж у 70% хворих виявляються двобічні пухлини. Злоякісними бувають менше 10%

феохромоцитом. Як правило злоякісні феохромоцитомы локалізуються поза наднирниками та секретують дофамін [16 – 19].

Найчастіше феохромоцитомы – інкапсулована, добре васкуляризована пухлина діаметром біля 5 см і вагою менше 70 г. Однак зустрічаються феохромоцитомы, як менших, так і набагато більших розмірів. Слід відзначити, що кореляційний зв'язок між розмірами пухлини, рівнем катехоламінів і клінічною картиною не виявлений. Більш дрібні пухлини можуть виробляти значну кількість КА, тоді як великі за розміром – метаболізують КА самостійно з залученням власної тканини та виділяють у кров'яне русло лише незначну їх кількість. Як правило, феохромоцитомы секретують як адреналін, так і норадреналін, але переважно норадреналін. Дуже рідко перевагу над КА має дофамін. Підвищення рівня КА може значно підсилювати обмін речовин, викликати гіперкаліємію і збільшувати концентрацію вільних жирних кислот. У більшості хворих спостерігаються гіповолемія. При супутніх ендокринних порушеннях можуть змінюватись рівні кортизолу, кальцію, фосфору [12].

Клінічна картина ФХ залежить від взаємної пропорції та кількості секретованих КА; крім того, на клінічну картину можуть впливати інші пептиди додатково секретовані пухлиною (зокрема, вазопресин, соматостатин, КРГ, АКТГ, ВІП, гастрин). Характерним є нападаподібний перебіг, що спричинений періодичним вивільненням з КСП надмірних кількостей адреналіну та норадреналіну, а також, інколи, дофаміну. До факторів, що викликають симптоми відносять фізичне навантаження, стиснення черевної порожнини, велика кількість спожитої їжі, деякі лікарські засоби (ефедрин, фенілефрин, АКТГ, фенотіазин, амфетамін, метоклопрамід, трициклічні антидепресанти, деякі препарати, що використовуються для анестезії), стресові ситуації, алкоголь. До типових клінічних проявів відносять пароксизмальну артеріальну гіпертензію, головний біль, надмірна пітливість, серцебиття, м'язовий тремор, відчуття тривоги, інколи — симптоми ортостатичної гіпотензії, надмірне розширення зіниць, бліда та

волога шкіра. Інколи у ході діагностики ФХ виявляються нетипові для цього захворювання симптоми. До них відносять біль в грудній клітині, значне підвищення артеріального тиску при пробі з навантаженням, гострий коронарний синдром, порушення ритму та провідності серця, кардіоміопатія із симптомами гострої або хронічної серцевої недостатності; нудота, блювання, біль у животі, закріп. Також може мати місце безсимптомний перебіг ФХ з нормальним артеріальним тиском [13].

Клінічний перебіг ФХ характеризується періодичною появою катехоламінових приступів (КАП). КАП можуть бути рідкими (раз у декілька місяців) або дуже частими (до 24-30 разів на добу), приблизно у 75% хворих КАП відбуваються не рідше 1 разу на тиждень. З часом КАП відбуваються все частіше, але тяжкість їх протікання не підсилюється. Тривалість КАП зазвичай менше години, але деякі КАП можуть продовжуватись цілий тиждень. Як правило, КАП розвиваються швидко, а проходять повільно. Для приступів характерні одні і ті ж симптоми: частіше всього на початку приступу відчуваються серцебиття та нехватка кисню. Опосередкований альфа-адренорецепторами спазм периферичних судин обумовлює похолодження і вологість кисті і стоп, а також блідість обличчя. Тяжкі та довготривалі КАП можуть супроводжуватись нудотою, рвотою, порушенням зору, болями у грудях або животі та судомою [14].

### 1.3 Сучасні підходи до лабораторної діагностики феохромоцитомы

#### 1.3.1 Роль катехоламінів у діагностиці феохромоцитомы

Біохімічна діагностика феохромоцитомы полягає у визначенні рівня катехоламінів та їх метаболітів у плазмі або сечі. Між тим, адреналін та норадреналін, які продукуються симпатонейрональною та симпатомедулярною системами, слабкоспецифічні для феохромоцитомы.



Підвищення плазменних катехоламінів відбувається при різних фізіологічних та патологічних станах (емоційний стрес, фізична активність, споживання їжі, підвищення температури та ін.). У деяких хворих феохромоцитома «тиха»: коли немає секреції катехоламінів. Також бувають випадки, коли феохромоцитома секретує катехоламіни періодично; між періодами плазменний рівень і екскреція КА з сечею може бути нормальною. Фізіологічно КА не можуть постійно циркулювати у крові, час їхнього півжиття складає 1 – 3 хвилини [2, 15].

### 1.3.2 Метанефрини та норметанефрини як маркер феохромоцитому

Профіль катехоламінових метаболітів, які продукуються адреналовими хромафінними і феохромоцитомними клітинами, представлений в основному О-метильованими похідними, норметанефрином и метанефрином, (біологічно неактивні продукти метилювання норепінефринів та епінефринів). Метанефрини відносно поганий маркер симпато-адреналової активації. Вільні плазменні метанефрини постійно продукуються під дією КОМТ на КА, які циркулюють із депонуючих везикул всередині пухлини, незалежно від катехоламінової секреції. Підвищення їх рівня більш значне та стійке, ніж плазмених КА, і представляє собою достовірний критерій наявності найменшої феохромоцитому (> 99% чутливості, > 89% специфічності) [5, 16].

Клиренс сульфат-кон'югованих метанефринів залежить від їх елімінації нирками. Тому плазменний рівень цих похідних на відміну від вільних метанефринів, не значимий в діагностиці феохромоцитому у хворих з порушеною функцією нирок. Зниження ниркової перфузії, наприклад, при серцевій недостатності та гіпертензії на фоні порушеної функції нирок, може також знижувати клиренс циркулюючих кінцевих продуктів метаболізму, і

підвищує їх плазменну концентрацію незалежно від ефектів симпатичної активації. Похідні ацетомінофену (Тайленол), хлорпромазин, бензодіазепіни, симпатоміметики для попередження перехресних реакцій, виключають за 5 днів до дослідження [17].

Феохромоцитоми, які продукують епінефрин (адреналін), зазвичай локалізовані в наднирниках і клінічно проявляються серцебиттям, сильним головним болем, пітливістю, переживанням та гіперкаліємією. У пацієнтів з епінефрин-продукуючою пухлиною більше 94% підвищення плазменної концентрації метанефринів забезпечується за рахунок метаболізму КА під дією КОМТ в середині клітин пухлини, а не в результаті екстраадrenalного КОМТ-перетворення секретованих та циркулюючих КА [18].

Злоякісна і метастазуюча феохромоцитома відрізняється високим тканинним, плазменним та сечовим рівнями ДОФА та дофаміну. Не завжди їх збільшення особливо чутливий маркер наявності метастазуючої феохромоцитоми; але коли воно збігається з ростом норепінефринів і клінічними ознаками феохромоцитоми, такий підйом дозволить швидко виявити метастази [19].

### 1.3.3 Ванілілмигдальна та гомованілінова кислоти у лабораторній діагностиці феохромоцитоми

Метаболізм КА являє собою складний ланцюг біохімічних перетворень, у результаті яких синтезуються проміжні та кінцеві продукти обміну. Зі всієї різноманітності метаболітів адреналіну, норадреналіну та дофаміну особливої уваги заслуговують ванілілмигдальна та гомованілінова кислоти. Дослідження цих сполук проводять при підозрі на пухлини нейроендокринного походження: феохромоцитому, нейробластому та карциноїдну пухлину. КА характеризуються досить високою швидкістю

метаболізму, тому вимірювання їх концентрації у крові не завжди відображає реальну динаміку патологічного процесу. А от вміст кінцевих продуктів їхнього метаболізму у сечі відносно стабільна. Це відіграє значну роль у діагностиці ФХ. У більшості випадків зустрічається пароксизмальна форма ФХ, при якій норадреналін синтезується не постійно, а епізодично. При цьому діагностично значиме зростання концентрації норадреналіну під час гіпертонічного кризу не завжди вдається визначити, що обумовлене його швидким розпадом. У проміжках між КАП рівень норадреналіну знаходиться у межах нормальних значень. З цієї причини більш доцільним критерієм у діагностиці ФХ є визначення основного метаболіту норадреналіну у сечі – ванілілмгдальної кислоти (ВМК). Як правило, у випадку ФХ концентрація ВМК у сечі значно вище референтних значень. Чітким діагностичним критерієм ФХ є перевищення концентрації ВМК у 4 та більше разів [7, 11, 20].

Слід відзначити, що рівень ВМК у сечі не підвищується при мікроскопічних пухлинах та парасимпатичних параангіомах. Зростання рівню ВМК не є строго специфічним для ФХ та спостерігається також при інших пухлинах нейроендокринного походження, вживанні лікарських препаратів (аспірину, сульфаніламідів, пеніциліну), а також за умови стресових станів та фізичних навантажень. Для виключення псевдопозитивного результату рекомендується доповнювати дослідження ВМК в сечі визначенням концентрації метанефрину та норметанефрину [21].

Близько 25 – 30% ФХ обумовлені генетичними факторами (спадково обумовлені синдроми). Найбільш яскравим прикладом є множинні ендокринні неоплазії – МЕН-синдроми. Так, МЕН 2А-типу – це поєднання ФХ, медулярного раку щитоподібної залози та аденоми паращитовидної залози. З цієї причини при підвищеній концентрації ВМК у сечі та встановленій ФХ доцільно провести додаткові дослідження для виключення поєднаної патології. Крім того, рекомендується лабораторне обстеження родичів пацієнта [22].

Підвищення ВМК та ГВК у сечі спостерігається у 90 – 95% випадків нейробластоми. Високий рівень цих показників також може спостерігатися й при менш агресивних та більш «зрілих» пухлинах з клітин нервового гребню – гангліоневромі та гангліонейробластомі. Визначення ВМК та ГВК сечі є додатковим лабораторним тестом діагностики пухлин із ембріональної нервової тканини. Інтерпретацію результатів слід проводити з урахуванням даних радіологічного та гістологічного дослідження. До іншої групи нейроендокринних пухлин відносять карциноїдні пухлини. Для них характерною є різноманітна локалізація та секреція різних специфічних гормонально активних речовин (соматостатину, глюкагону, вазо активного інтестинального пептиду та інших). Але загальним клініко-лабораторним маркером більшості карциноїдів є секреція серотоніну, який метаболізується у печінці з утворенням 5-гідроксиіндолоцтової кислоти. Аналіз останнього показника у добовій сечі характеризується високою чутливістю та специфічністю, що дозволяє вважати його одним з основних методів підтвердження діагнозу «карциноїдна пухлина» [23].

#### 1.4 Характеристика нейробластоми. Сучасні уявлення про пухлину

Нейробластома – це узагальнене поняття, яке об'єднує злоякісні пухлини симпатичної нервової системи: симпатогоніому, симпатобластоми, гангліонейробластоми. Нейробластома – одна з найбільш поширених, і в той же час, специфічна для дитячого віку пухлина. Результати деяких досліджень вказують, що нейробластома займає третє місце після гемобластозів та пухлин головного мозку. Однак більшість дослідників вважають, що нейробластома складає близько 6 – 8% всіх злоякісних пухлин в дитячому віці, а в структурі захворюваності займає 4 – 5 місце [24]. Ці новоутворення виникають з волокон крупних вузлів симпатичної нервової системи, дрібних

гангліїв, які розміщуються в стінках внутрішніх органів, а також з мозкового шару наднирників. В більшості випадків це захворювання зустрічається у дітей віком від 3 місяців до 4 років. Найбільш частіше нейробластома виявляється у дітей 2 – 3 років [25].

Нейробластома може локалізуватися у будь-якому місці, в якому присутня тканина симпатичної нервової системи. Найчастіше вона з'являється у мозковому шарі наднирників та в зоні нервових скупчень по обидві сторони хребта у так званому симпатичному стовпі. Якщо нейробластома зростає у симпатичному стовпі, то пухлина може бути виявлена в будь-якому місці вздовж хребта – у зоні живота, тазу, грудини або шиї. Найчастіше, у такому випадку, пухлина локалізується у зоні черевної порожнини. Лише одна з п'яти нейробластом такого типу виростає в області шиї та грудної порожнини [26].

Деякі нейробластоми залишаються у місці виникнення, а інші починають розростатися, використовуючи при цьому найближчі лімфатичні вузли. Приблизно у 50% дітей на момент встановлення діагнозу, виявляються метастази у кістковому мозку, кістках, віддалених лімфатичних вузлах або печінці. Рідше ракові клітини нейробластоми можуть з'являтися у головному мозку, легенях або шкірі [27].

З усіх видів онкологічної патології дітей та підлітків нейробластоми складають близько 7%. Після пухлин головного мозку це найбільш поширений різновид солідних пухлин. Згідно даних Дитячого онкологічного реєстру Німеччини, кожного року реєструється близько 120 нових випадків цієї онкології у дітей та підлітків до 15 років. Іншими словами, згідно статистики, з 100 000 дітей молодших 15 років одна дитина хворіє на нейробластому. Так як нейробластома – пухлина ембріональна, то вона з'являється у ранньому віці, діти молодші 6 років складають майже 90%. Також визначені гендерні відмінності – хлопчики хворіють частіше, ніж дівчатка (співвідношення 1,3 до 1) [24, 27].

Причини появи нейробластоми повністю не встановлені. Дитина починає хворіти з моменту злоякісного переродження незрілих клітин симпатичної нервової системи. Спеціалісти у цій області онкології вважають, що патологічний розвиток незрілих нервових клітин починається ще до народження дитини. Цей процес запускається за наявності мутацій у геномі ембріону. На користь цього твердження вказують виявленні генетичні дефекти у клітинах нейробластоми. Але ці генні порушення досить різноманітні, специфічні зміни генетичного матеріалу не виявлені. Вчені вважають, що нейробластома з'являється після певних каскадних порушень генетичного та епігенетичного характеру. Актуальні наукові дані вказують на відсутність спадкового фактору цієї хвороби [28].

### 1.5 Клінічна картина нейробластоми

У більшості хворих дітей будь-які прояви хвороби відсутні. Пухлину зазвичай виявляють випадково при звичайному огляді педіатром, під час рентгенівського або ультразвукового дослідження, призначених з іншого приводу. Скарги у хворих дітей починають з'являтися тоді, як пухлина досягла значних розмірів, сформувалися метастази або порушена робота сусідніх органів [29].

Симптоми хвороби досить різноманітні, вони залежать від локалізації пухлини та наявності метастазування. Перша ознака – можливість пальпаторно або навіть візуально визначити наявність пухлини. У деяких дітей звертає на себе увагу збільшений живіт або набряк у зоні шиї. Якщо пухлина локалізована у наднирниках або черевній порожнині, можуть з'явитися неспецифічні симптоми – біль у животі, закреп, діарея, відчуття важкості. Якщо пухлина здавлює сечовивідні шляхи, може з'явитися порушення сечовипускання та застій сечі. Якщо нейробластома виросла в

грудній порожнині, вона може здавлювати легені. Це проявляється кашлем, задухою або запаленням легень і плеври. Ті пухлини, що сформувалися поруч з хребтом (пухлини симпатичного стовбура), можуть метастазувати у хребет. У такому випадку виявляються неврологічні симптоми – невралгії, часткові паралічі. За наявності метастазів у кісткову тканину, діти жаліються на болі в кістках. Ураження метастазами кісткового мозку проявляється порушенням гемопоезу і, як наслідок, змінами у периферичній крові. Найчастіше ці зміни проявляються дефіцитом клітин крові – анемією, лейкопенією та тромбоцитопенією, а у хворої дитини формуються анемічний, геморагічний синдром та схильність до інфекційних захворювань [30–32].

До загальних симптомів, що можуть свідчити на користь нейробластоми, відносяться такі:

- 1) стомлюваність, слабкість, блідість шкіри;
- 2) підвищена температура тіла, пітливість;
- 3) наявність вузлів або припухлостей на животі, шиї; збільшені лімфатичні вузли;
- 4) здуття живота;
- 5) закреп, діарея, втрата апетиту, нудота, пов'язана з цим втрата ваги;
- 6) біль у кістках.

При підозрі на нейробластому, педіатр направляє дитину у спеціалізовану клініку для подальшої лабораторної та інструментальної діагностики [33].

## 1.6 Діагностика та лабораторні онкомаркери нейробластоми

### 1.6.1 Сучасна діагностика нейробластоми

У більшості хворих дітей при дослідженні крові та сечі виявляються так звані пухлинні або онкомаркери. Їхнє визначення є важливим не тільки для первинної діагностики, а й для контролю за ефективністю проведеного лікування. Основними лабораторними онкомаркерами нейробластоми є підвищений рівень катехоламінів або продуктів їхнього метаболізму (метанефрини, ванілілминдальна та гомованілінова кислота), а також нейронспецифічна енолаза (NSE) [30].

Загальноклінічні дослідження крові та сечі зазвичай не дають яких-небудь специфічних вказівок на наявність нейрогенних пухлин, але не рідко дозволяють виявити ряд змін. В аналізах периферійної крові хворих нейробластомою часто вдається виявити прискорену швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), анемічний синдром, вираженість якого в тій чи іншій мірі залежить від ступеню поширення захворювання. У запущених випадках анемія буває різко виражена, а ШОЕ досягає великих цифр (50 – 70 мм/год). Зміни в білій крові можуть бути як в бік лейкопенії, так і лейкоцитозу. Досить часто спостерігається тромбоцитоз. Аналізи сечі в більшості випадків без відхилень від норми, іноді має місце непостійна мікрогематурія та альбумінемія [34].

Сугубо специфічними, як згадувалося вище, та такими, що легко визначаються, є метаболіти катехоламінів: ВМК, ГВК і дофамін (ДА). Рівень цих речовин визначається в добовій сечі і в сироватці крові дитини. Діагностично значущими являється підвищення вмісту ВМК, ГВК и ДА в 3 рази в порівнянні з віковою нормою. Цікаво, що метод визначення метаболітів КА у сечі більш чутливий приблизно на 15%, чим в сироватці крові. У випадку псевдонегативних результатів визначення метаболітів КА, що зустрічається приблизно у 15% хворих, визначають активність NSE [33].



В якості додаткового клініко-біохімічного показника використовують феритин. У більшості хворих на нейробластоми рівень цього показника підвищується. Також рядом досліджень встановлена наявність пропорційної залежності між концентрацією феритину та об'ємом пухлини [35].

Фермент лактат-дегідрогеназа (ЛДГ) не належить до специфічних для нейробластоми маркерів, але його активність у сироватці крові хворих на нейробластоми має прогностичне значення. Рядом проведених досліджень встановлений прямий кореляційний зв'язок між прогресуючим збільшенням активності ферменту та несприятливим прогнозом [34].

До інших лабораторних маркерів нейробластоми можна віднести гангліозид GD2, нейропептид Y та хромогранін А. Визначення цих маркерів методом імуногістохімії слугує критерієм діагностики нейробластоми, а їх дія на прогноз захворювання вивчається [36].

Серед інструментальних досліджень перевагу віддають ультразвуковому дослідженню (УЗД), у ході якого можна чітко візуально встановити локалізацію та розмір пухлини. Уражені пухлинним процесом лімфатичні вузли в області шиї та черевної порожнини також можна роздивитися при проведенні УЗД. При підозрі на залучення органів грудної порожнини при формуванні нейробластоми, проводять рентгенівське дослідження. При необхідності більш детальної діагностики і для встановлення ступеню залучення у пухлинний процес сусідніх органів, кровоносних судин, нервів проводять інші дослідження. До останніх відносяться магнітно-резонансна томографія (МРТ) (без контрасту та з використанням контрастної речовини), комп'ютерну томографію (КТ) [37].

Заключна верифікація діагнозу проводиться після проведення гістологічного дослідження тканини пухлини. Матеріал для аналізу беруть під час проведення операції. За результатами проведеного молекулярно-генетичного дослідження зразка тканини надається висновок про ступінь злоякісності пухлини [36].

### 1.6.2 Значення катехоламінів та їхніх метаболітів у лабораторній діагностиці нейробластоми

У мозковій речовині наднирників людини масою 10 г міститься біля 5 мг адреналіну та 0,5 мг норадреналіну. Вміст їх у крові складає відповідно 1,9 та 5,2 нмоль/л. У плазмі крові обидва гормони існують як у вільному, так і в зв'язаному з білками плазми (наприклад, з альбумінами) стані. Найбільша кількість обох гормонів відкладається у вигляді солі з АТФ у нервових закінченнях, вивільнюючись у відповідь на їх подразнення. Адреналін і норадреналін, як і дофамін, відносяться до катехоламінів, тобто до класу органічних речовин, які мають сильну біологічну дію. Крім того, всі вони мають значну судинозвужуючу дію, викликаючи підвищення артеріального тиску. В цьому відношенні їх дія подібна з дією симпатичної нервової системи. Відомо про сильний регулюючий вплив цих гормонів на обмін вуглеводів в організмі. Так, адреналін спричиняє різке підвищення рівня глюкози в крові, що обумовлено прискореним розпадом глікогену в печінці під дією ферменту фосфорилази. Адреналін, як і глюкагон, активує фосфорилазу не прямо, а через систему аденілатциклазу – цАМФ – протеїнкіназу. Гіперглікемічний ефект норадреналіну набагато нижчий – приблизно 5% від дії адреналіну. Паралельно відмічається накопичення гексозофосфатів у тканинах, зменшення концентрації неорганічного фосфату і підвищення рівня ненасичених жирних кислот у плазмі крові. Є дані про гальмування окислення глюкози в тканинах під дією адреналіну. Цю дію пов'язують зі зменшенням швидкості проникнення глюкози в середину клітини. Механізм дії катехоламінів включає  $\alpha$ - і  $\beta$ -адренергічні рецептори, аденілатциклазну систему та інші фактори. Відомо, що адреналін і норадреналін швидко руйнуються в організмі; з сечею виділяються не активні продукти їх обміну, головним чином у вигляді 3-метокси-4-оксимигдальної кислоти (ВМК), оксоадренохрому, метоксинорадреналіну і

метоксиадреналіну. Ці метаболіти містяться в сечі в основному в зв'язаній з глюкуроною кислотою формі. Ферменти, які каталізують вказані перетворення КА, виділені із багатьох тканин і достатньо добре вивчені, наприклад, моноамінооксидаза, яка визначає швидкість біосинтезу і розпаду КА [38].

Достатнє розуміння синтезу та метаболізму КА має велике значення для медичних цілей як при встановленні діагнозу, так і в ході лікування хворого і наступних спостереженнях за ним. За останні 20 років визначення в сечі ВМК і ГВК стало рутинним методом для вказаних цілей. Однак деякі питання, що стосуються цього тесту, продовжують обговорюватись. Так, наприклад, деякі дослідники пропонують використання визначення КА з метою «масового» скринінгу. В Японії обстежили біля півмільйона новонароджених. В результаті було виявлено 25 дітей з безсимптомно протікаючою нейробластою. У 92% з них спостерігались довготривалі періоди без рецидиву захворювання. У США та Європі також намітилась тенденція до проведення аналогічної програми. Однак є й певні недоліки цього методу, пов'язані з тим, що завдяки скринінгу визначаються також діти з новоутвореннями, які б могли спонтанно регресувати [35, 39].

В одному з останніх досліджень визначали рівні вмісту катехоламінових метаболітів в плазмі та сечі у 84 дітей з первинною нейробластою і у 15 – з рецидивом. Авторами було показано, що визначення їх вмісту в плазмі може успішно використовуватись при довготривалому спостереганні за дітьми після лікування. Підкреслюється, що у деяких дітей при нормальному вмісті КА в сечі спостерігався підвищений їх вміст в плазмі [40].

### 1.6.3 Нейрон-специфічна енолаза у хворих з нейробластою

Енолаза – це гліколітичний фермент, який у вигляді двох форм міститься в тканинах головного мозку та нейроендокринних тканинах. Обидва види енолаз, які позначаються  $\alpha\alpha$  та  $\gamma\gamma$  є біологічно та імунологічно самостійними субодиницями.  $\gamma$ -енолаза знаходиться в нейронах і тому називається нейронспецифічною енолазою (NSE). У дітей з нейробластою спостерігаються високі рівні вмісту NSE в сироватці, крові, але такі ж показники зустрічаються і при других формах злоякісних новоутворень, таких як нефробластома, лімфома, саркоми м'яких тканин і гострі лейкози [41].

Нейронспецифічна енолаза (NSE) — гліколітичний нейронспецифічний ізофермент енолази. Даний фермент наявний у клітинах нейроектодермального походження, нейронах головного мозку та периферичній нервовій тканині. Дослідження NSE проводять для діагностики та моніторингу ефективності терапії при дрібноклітинному раку легень та нейробластомах. Підвищення рівня маркера в сироватці крові відмічають при пухлинах нейроектодермального чи нейроендокринного походження, лейкозах, після ПТ. Незначне підвищення рівня даного маркера можливе при доброякісних хворобах легень. Рівень NSE в сироватці має і прогностичне значення. Так, збільшення NSE понад 80 – 100 нг/мл є досить несприятливим прогностичним критерієм [42].

Тому визначення при діагностиці повинне оцінюватись обережно. Однак цей тест має певне прогностичне значення. В тому числі низькі рівні вмісту NSE вказують на сприятливий прогноз, а у дітей з дисимінованою формою захворювання відмічають великі вмісти сироваткової NSE. Необхідно підкреслити, що NSE є недостатньо специфічним маркером нейробластоми [40, 43].

#### 1.6.4 Гангліосайди як маркери нейробластоми

Гангліосайди – це мембранно-зв’язані гліколіпіди, присутні в плазмі більшості хворих нейробластоною. За наявності нейробластоми концентрація дисіалогангліосайдів зростає в 50 разів в порівнянні з нормальним рівнем. Відмічено, що при успішному лікуванні рівень цього маркеру швидко знижується, знову він може збільшитись при появі рецидиву. Крім того, було зареєстровано, що кількість циркулюючих гангліосайдів не підвищується у дітей з гангліонейроною [44].

Таким чином, аналіз доступних джерел наукової літератури вказує на актуальність вибраної теми даного дослідження та розкриває необхідність подальшого удосконалення лабораторної діагностики катехол-секретуючих пухлин, в першу чергу феохромоцитом та нейробластоми.

## 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1 Об'єкт дослідження

Робота виконана на базі клініко-діагностичної лабораторії ДУ «Національний інститут раку» (м. Київ), співробітником якої є автор кваліфікаційної роботи. Робота виконана протягом 2021-2022 р.р. Обстежено 39 пацієнтів віком від 6 місяців до 12 років. Обстежені були розподілені на 2 групи. Перша група складала 22 дітей, у яких діагностовано феохромоцитому. До другої групи ввійшли 17 дітей з підтвердженим діагнозом нейробластоми. Групу порівняння (контролю) склали 10 дітей без ознак ендокринної патології. Для проведення лабораторних досліджень використовували добову сечу, яка була зібрана впродовж попередньої доби та доставлялася у лабораторію з 7 до 9 години ранку.

Підготовка до дослідження включала в себе виключення всіх факторів, що сприяють підвищенню рівня катехоламінів та, відповідно, їхніх метаболітів. До таких факторів відноситься фізичне навантаження, заняття спортом, вживання у їжу сиру, бананів, авокадо. Також за 4 дні до збору добової сечі, за узгодженням з лікарем, скасовується прийом препаратів, які можуть збільшити рівень ВМК та інших метаболітів КА. Це можуть бути антибіотики тетрациклінового ряду, транквілізатори та адреноблокатори. Підвищити показники може також прийом інсуліну, парацетамолу, сечогінних засобів, еуфіліну, судинозвужуючих крапель та спреїв.

Припинення прийому ліків можливе лише за згодою лікаря, так як прийом деяких із них (наприклад, інсуліну) може бути життєво необхідним.

## 2.2 Методи дослідження

### 2.2.1 Дослідження вмісту ванілілминдальної кислоти

Дослідження ванілілмигдальної кислоти проводилися на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі Mindray BA-88A (виробництво Китай) з використанням реагентів фірми BioSystems (виробництво Іспанія).

Методику визначення ВМК модифікували. Загальноприйнятий метод визначення ВМК за допомогою хроматографії на папері потребує великої затрати реактивів та часу і не дає точних результатів. Тому цей метод замінили методом хроматографії на колонках. Розмір колонки був зменшений з метою визначення лише одного показника у досліджуваному зразку. Також було розроблено спосіб промивання колонки так, щоб її можна було використовувати багато разів. Після хроматографічного визначення використовували метод спектрофотометричного дослідження, який дає можливість швидко і точно визначити пробу.

Для проведення аналізу необхідно 1 мл добової сечі. Матеріал наливали у пробірки та додавали 1 мл Реагенту 1. Отримана реакційна суміш пропускала через хроматографічну колонку. Для цього знімали кришки з верхньої та нижньої частини мікроколонки. Далі проштовхували верхній диск на поверхню смоли, стараючись не тиснути. Необхідно дати колоні стекти. Реакційну суміш наливали у колонку та давали повністю стекти. Після чого промивали використані пробірки 2 – 3 мл дистильованої води, отриманий елюат також пропускали через колонку. На наступному етапі хроматографічна колонка промивалася 5 мл Реагенту 2. Після цього під колонку підставляли пробірки, у яких буде проходити визначення ВМК. Для екстракції ВМК колонку промивали двічі по 3 мл Реагенту 3. Отриманий елюат старанно перемішували і проводили спектрофотометрію при довжині хвилі 360 нм. Вимірювали оптичну щільність розчинів зразків, стандарту та

бланку зразку проти реагент бланку. Вказані розчини для спектрофотометрії готували згідно таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Приготування робочих розчинів для спектрофотометричного дослідження при визначенні ВМК

Робочий розчин	Бланк реагенту (Е0)	Стандарт (Ест)	Зразок (Езр)	Бланк зразка (Еб)
Елюат, мл	-	-	1,0	1,0
Стандарт, мл	-	0,1	-	-
Реагент З, мл	1,0	0,9	-	-
Реагент А, мл	0,4	0,4	0,4	0,4
Реагент В, мл	0,1	0,1	0,1	-
Старанно перемішати, інкубувати пробірки 30 хв. при температурі 37 <sup>0</sup> С, після цього додати:				
Реагент С, мл	0,1	0,1	0,1	0,1

Використовуючи отримані значення оптичної щільності робочих розчинів, розраховували вміст ВМК використовуючи формулу для розрахунку:

$$\text{ВМК} = \frac{(\text{Езр} - \text{Еб})}{\text{Ест}} \times 0,678 \times 98,4 \times \text{діурез в літрах} \quad (2.1)$$

де Езр – оптична щільність робочого розчину зразка

Еб – оптична щільність робочого розчину зразка

Ест - оптична щільність робочого розчину стандарту

Концентрацію ВМК виражали у мкмоль/добу.



### 2.2.2 Визначення метаболітів катехоламінів у добовій сечі

В роботі проводили визначення гомованілінової кислоти (ГВК) та загальних метанефринів у добовій сечі. Для визначення ГВК використовували імуноферментний метод з використанням стандартного набору реагентів, що ґрунтується на методі твердофазного аналізу та призначений для кількісного визначення гомованілінової кислоти у добовій сечі виробництва фірми BSM Diagnostics (США), каталожний №408-2050. Дослідження проводилося згідно інструкції до набору. Вміст ГВК виражали у мкмоль/добу

Вивчення рівню загальних метанефринів проводили імуноферментним методом з використанням стандартного набору реагентів, що ґрунтується на твердофазному «сендвіч» методі та призначений для кількісного визначення метанефринів у добовій сечі виробництва IBL (США), каталожний №RE59181. Дослідження проводилося згідно інструкції до набору. Концентрація загальних метанефринів виражалася у мкг/добу.

Постановка імуноферментного аналізу з визначенням вказаних показників та математичний аналіз отриманих результатів проводилися з використанням мікропланшетного рідеру ImmunoChem-2100 виробництва фірми НТІ (США) з використанням встановленого програмного забезпечення.

### 2.3 Статистична обробка отриманих результатів

Статистичну обробку отриманих результатів дослідження було проведено з використанням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoftInc., № AXXR712D833214FAN5), а також «Microsoft Excel 2010». Для представлення даних у роботі використовувалися загальноприйняті характеристики: середнє значення та стандартна помилка. Для виявлення статистичного лінійного зв'язку між параметрами використовувалися методи кореляційного аналізу, розраховувалися показники кореляції Пірсона [45, 46].

Таким чином, лабораторні дослідження проводилися з використанням сучасних біохімічних методів, а саме рідинної хроматографії на мікроколонках, спектрофотометрії та імуноферментного аналізу. При цьому використовувалося сучасне напівавтоматичне обладнання з комп'ютерною обробкою результатів дослідження.

### 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 3.1 Біохімічне дослідження добової сечі на вміст метаболітів катехоламінів у хворих на феохромоцитому

Біохімічні методи дослідження широко використовуються у клінічній онкології, хоча вони не є високоспецифічними. Клініко-лабораторні методики дослідження часто є рутинними при проведенні планового обстеження онкологічних хворих. Біохімічні тести можуть виявити ендокринну секрецію пухлини і пояснити багато клінічних синдромів, зумовлених тканинноспецифічною чи паранеопластичною ендокринною активністю [47].

Розвиток феохромоцитоми посилює вироблення адреналіну, тому вимірювання його рівня дозволяє оцінити ризик розвитку пухлини. Проблема в тому, що руйнування адреналіну відбувається за лічені хвилини з моменту його вивільнення – він розпадається на ванілілмигдальну кислоту та метанефрін, які виводяться із сечею. Вимірювання рівня метанефрину – це чутливіший лабораторний маркер феохромоцитомы, ніж вимір рівня адреналіну. Його незначні концентрації присутні у сечі постійно, сильно збільшуючись у пацієнтів із пухлиною надниркових залоз. Своєчасна діагностика феохромоцитомы важлива, тому що пухлина, хоч і не є злоякісною, постійно зростає, нарощуючи рівні адреналіну. За відсутності лікування збільшується ризик інфаркту міокарда, інсульту та хвороб нирок. Феохромоцитомы успішно піддається медикаментозному та хірургічному лікуванню [15, 48].

Метаболізм КА являє собою складний ланцюг біохімічних перетворень, у результаті яких синтезуються проміжні та кінцеві продукти обміну. Зі всієї різноманітності метаболітів адреналіну, норадреналіну та дофаміну особливої уваги заслуговують ванілілмигдальна та гомованілінова кислоти. Ланцюг біохімічних перетворень КА у організмі людини здійснює

моноаміноксидаза (МАО) та катехол-О-метилтрансфераза (КОМТ). Основний шлях перетворення КА проходить під дією МАО з утворенням дигідроксифенілгліколю (ДГФГ), який через моногідроксифенілгліколь під дією алкогольдегідрогенази в печінці перетворюється у ванілілміндальну кислоту (ВМК) – основний кінцевий продукт перетворення норепінефринів (норадреналіну) та епінефринів (адреналіну) у людини. Визначення ВМК у сечі – простий та доступний метод, хоча й рідко використовується [12, 49].

Лабораторне дослідження добової сечі здорових дітей контрольної групи показало достатньо низькі концентрації ВМК, ГВК та метанефринів загальних. Так, згідно отриманим результатам у групі контролю за добу екскретується 13,1 мкмоль ВМК; 43,5 мкмоль ГВК та 153,9 мкг загальних метанефринів. Результати проведених досліджень показали значне зростання всіх метаболітів катехоламінів у добовій сечі дітей, хворих на феохромоцитому. Найбільш значне зростання зафіксоване для концентрації ВМК. Екскреція цього метаболіту з сечею зросла до 55,9 мкмоль на добу. У порівнянні з групою контролю це збільшення у 4,3 рази. Вміст ГВК у добовій сечі хворих дітей також збільшився у 2,9 разів та склав 126,7 мкмоль/добу (таб. 3.1).

Таблиця 3.1 – Вміст метаболітів катехоламінів у добовій сечі хворих на феохромоцитому

Показник	Група контролю (здорові діти)	Діти, хворі на феохромоцитому
ВМК, мкмоль/добу	13,1 ± 0,9	55,9 ± 2,1*
ГВК, мкмоль/добу	43,5 ± 4,9	126,7 ± 4,3*
Метанефрини загальні, мкг/добу	153,9 ± 15,8	481,1 ± 20,7*

Примітка. \* - показники, що статистично значимо відрізняються від даних групи контролю ( $p \leq 0,05$ ).

Визначення вмісту загальних метанефринів у сечі є менш характерним лабораторним тестом, ніж вивчення у плазмі крові рівня вільних метанефринів, але чутливість даного лабораторного тесту складає 95%. Подібними за чутливістю та точністю є показники норадреналіну та адреналіну сечі. Проведені дослідження показали зростання метанефринів у пацієнтів з феохромоцитомою у 3,1 рази.

На сьогодні основний критерій діагнозу феохромоцитомою – підвищений рівень КА у сечі або плазмі. Найбільш доступна проба – визначення загальної концентрації метанефринів (метанефрину і норметанефрину – біологічно неактивних продуктів метилювання адреналіну та норадреналіну) в добовій сечі. Більше ніж у 95% хворих з феохромоцитомою мають у сечі підвищений рівень метанефринів. Можна визначати загальну концентрацію метанефринів і в разовій порції сечі; цей аналіз особливо інформативний, коли досліджують сечу, отриману відразу після КАП. Для підтвердження діагнозу феохромоцитомою у хворих з підвищеним рівнем КА або ВМК визначають загальну концентрацію вільних КА (норадреналіну, адреналіну и дофаміну) в сечі. Для диференційованої діагностики слід цілеспрямовано визначати окремі КА, особливо в тих випадках, коли пухлина секретує тільки один з видів гормонів [14, 25, 50].

### 3.2 Дослідження метаболітів катехоламінів у добовій сечі пацієнтів з нейробластомою

Важливим тестом у діагностиці нейробластом є визначення добової екскреції з сечею КА, їх попередників та метаболітів. У хворих нейробластомою, на відміну від інших пухлин, часто виявляється різке підвищення екскреції вказаних речовин (у 85% випадків). Суто специфічними та такими, що легко визначаються, є метаболіти

катехоламінів: ВМК, ГВК. Рівень цих речовин визначається в добовій сечі і в сироватці крові дитини. Діагностично значущим є підвищення вмісту ВМК, ГВК и ДА в 3 рази порівняно з віковою нормою. Метод визначення метаболітів КА у сечі є більш чутливий (приблизно на 15%), ніж в сироватці крові [6, 51].

Лабораторне обстеження дітей з нейробластомою включало в себе визначення аналогічних показників метаболітів катехоламінів у добовій сечі. Проведені аналізи показали значне зростання основних маркерів обміну КА в організмі – ВМК, ГВК та метанефринів загальних. Так, концентрація ВМК збільшилась у 4,3 рази, вміст ГВК зріс у 3,1 рази та склали 56,5 та 134,6 мкмоль/добу відповідно. Для загальних метанефринів зареєстроване зростання у 3,2 рази – з 153,9 до 496,4 мкг/добу. Вказані результати представлені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Вміст метаболітів катехоламінів у добовій сечі хворих на нейробластому

Показник	Група контролю (здорові діти)	Діти, хворі на нейробластому
ВМК, мкмоль/добу	13,1 ± 0,9	56,5 ± 1,14*
ГВК, мкмоль/добу	43,5 ± 4,9	134,6 ± 2,9*
Метанефрини загальні, мкг/добу	153,9 ± 15,8	496,4 ± 11,2*

Примітка. \* - показники, що статистично значимо відрізняються від даних групи контролю ( $p \leq 0,05$ ).

Таким чином, підвищення ВМК та ГВК у сечі підвищується майже у 100% випадків нейробластоми. Підвищена концентрація ВМК та ГВК також може спостерігатися і при більш зрілих та менш агресивних пухлинах клітин нервового гребню. Визначення вказаних метаболітів є додатковим

лабораторним тестом для діагностики нейробластоми. Однак результати лабораторних обстежень необхідно завжди інтерпретувати, враховуючи дані радіологічного та гістологічного досліджень. Також слід відзначити, що рівень метаболітів КА у сечі залежить від особливостей дієти, прийому лікарських препаратів та наявності супутніх захворювань. Тому результати лабораторних аналізів необхідно оцінювати з урахуванням додаткових лабораторних та інструментальних досліджень, а також враховуючи дані анамнезу.

### 3.3 Визначення кореляційних зв'язків між вивченими лабораторними показниками

Використовуючи методи статистичного аналізу нами був проведений аналіз масиву числових значень визначених лабораторних показників. На першому етапі аналізу провели вивчення кореляційних зв'язків між рівнем ВМК та ГВК. Отримані дані представлені на рис. 3.1

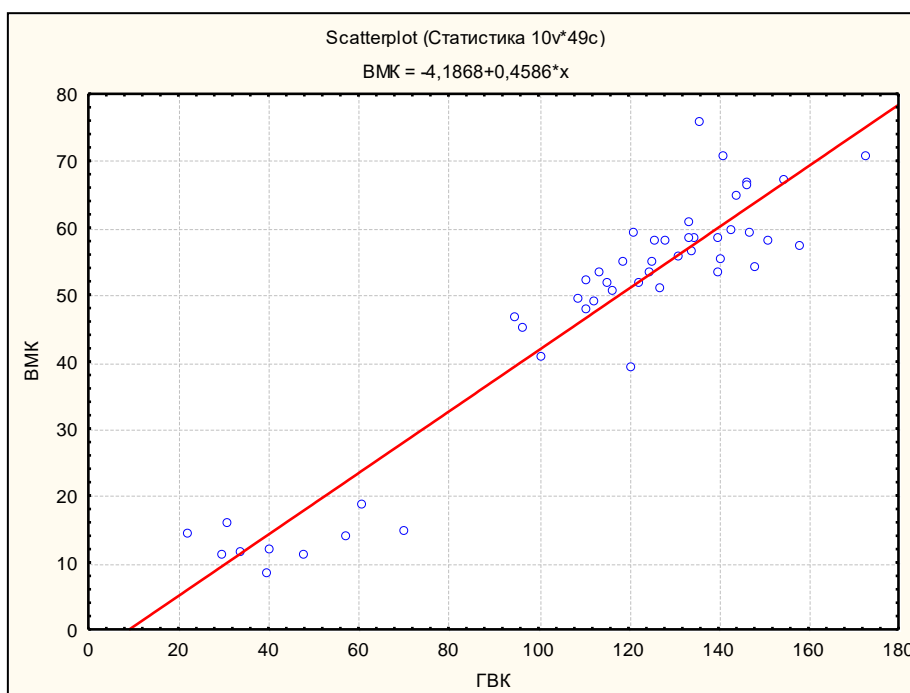


Рисунок 3.1 – Кореляційний зв'язок між показниками ВМК та ГВК

Враховуючи отримані програмою коефіцієнти кореляції, можна стверджувати про наявність чіткої прямопропорційної залежності між концентрацією ВМК та ГВК. Вказані коефіцієнти кореляції між дослідженими показниками становлять (-4,1868) та 0,4586 одиниць. Рівняння кореляції можна надати у такому вигляді:  $ВМК = -4,1868 + 0,4586 * ГВК$ . Наявність стійкого кореляційного зв'язку пояснюється загальними шляхами метаболізму та біохімічних реакцій перетворення катехоламінів з утворенням проміжних та кінцевих продуктів обміну.

На другому етапі нами був проведений аналіз наявності кореляційного зв'язку між ВМК та загальними метанефринами. Проведений математичний аналіз підтвердив існування прямо пропорційної залежності між концентрацією ВМК та вмістом загальних метанефринів у добовій сечі пацієнтів у всіх дослідних групах. Слід відзначити, що у даному випадку кореляційний зв'язок між дослідженими показниками більш виражений, ніж у першому випадку. Коефіцієнти кореляції склали (-1,3066) та 0,116 одиниць. Отримані статистичні дані графічно представлені на рис.3.2.

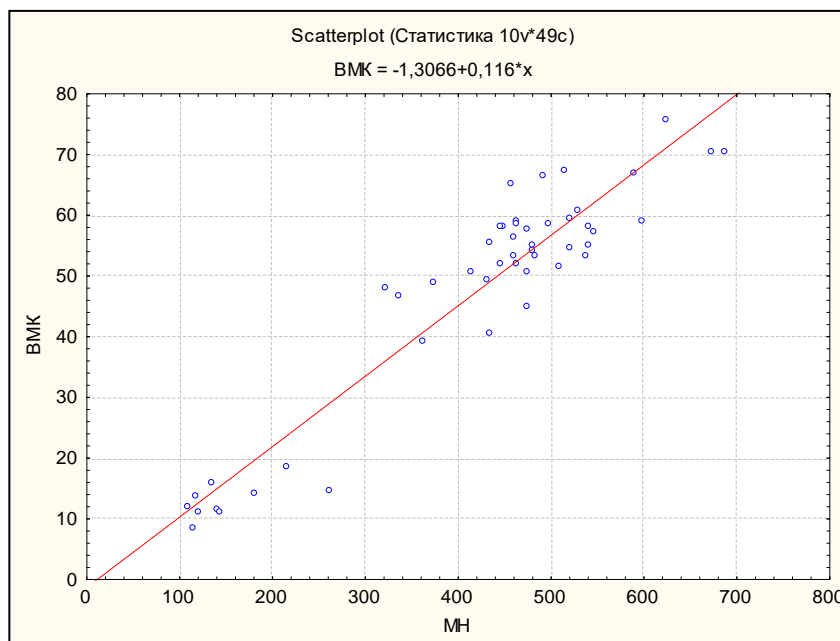


Рисунок 3.2 – Кореляційний зв'язок між показниками ВМК та загальних метанефринів



Рівняння кореляції можна надати у такому вигляді:  $ВМК = -1,3066 + 0,116 \cdot \text{загальні метанефрини}$ . Наявність стійкого кореляційного зв'язку також пояснюється загальними шляхами метаболізму катехоламінів.

Ключовим показником при проведенні порівняльного кореляційного аналізу нами була вибрана ВМК, так як саме вона є кінцевим продуктом метаболізму катехоламінів – адреналіну та норадреналіну, що виділяється з організму з сечею. ВМК утворюється з адреналіну та норадреналіну не відразу, а через цілий ряд проміжних сполук: дигідроксифенілгліколь, метанефрин та норметанефрин. На другому етапі біохімічних перетворень ВМК синтезується з метанефрину та норметанефрину за участі ферменту МАО.

Враховуючи спільні біохімічні шляхи метаболізму та результати проведених математичних тестів з встановленням кореляційних індексів, стало доречним встановити наявність спряженого зв'язку між всіма досліджуваними показниками.

Викладені дані дослідження підтверджуються візуальною 3D-діаграмою, що представлена на рис. 3.3.

На візуальній 3D-діаграмі зображений прямий взаємозв'язок між рівнем ВМК, ГВК та загальними метанефринами добової сечі. З наведеної діаграми видно, що у всіх досліджуваних пацієнтів, як контрольної групи, так і дітей з феохромоцитомою та нейробластомою, наявний тісний однонаправлений взаємозв'язок між вивченими показниками.

Таким чином, визначення ВМК у добовій сечі – високочутливий та специфічний маркер як феохромоцитомі, так і нейробластомі. Якщо рівень ВМК та сечові фракції метанефринів в межах норми – діагноз феохромоцитомі і нейробластомі повинен бути виключеним. Якщо їх величина перевищує верхню межу норми в 2,5 – 4 і більше разів – діагноз безсумнівний і пухлина повинна бути локалізована.

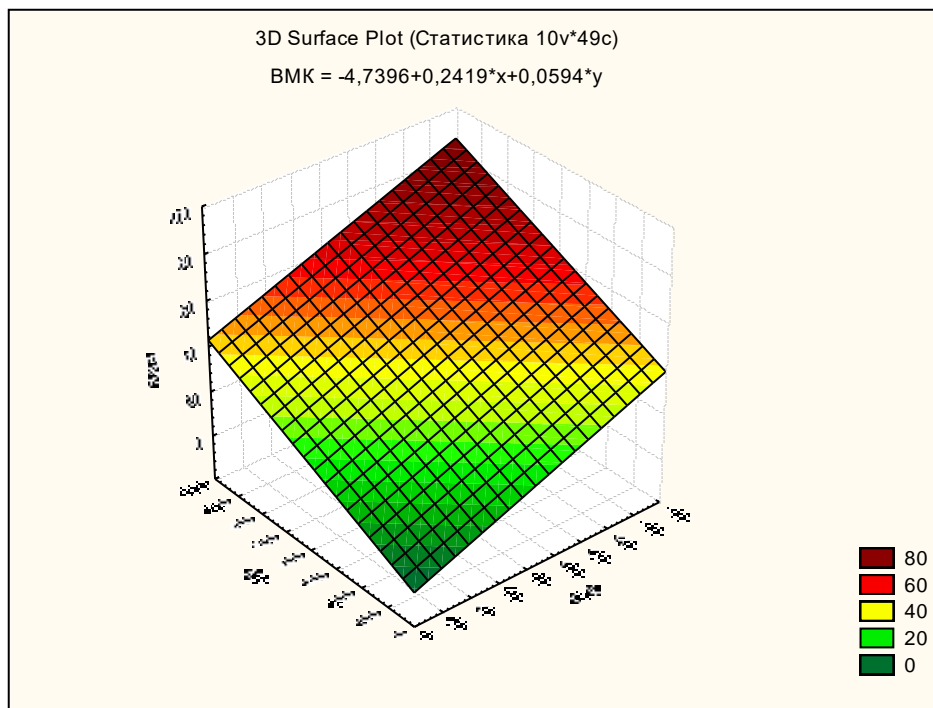


Рисунок 3.3 – Спряжений взаємозв'язок між показниками у вигляді 3D-діаграми

## 4 ОХОРОНА ПРАЦІ

Робота в КДЛ відноситься до роботи з підвищеною небезпекою. До небезпечних та шкідливих виробничих факторів робочих зон лабораторії відносять концентровані та розведені кислоти, луги; різноманітні реактиви та продукти отруйних речовин; легко займисті рідини /ЛЗР/ спирт, ефір; електрична напруга 380, 220 В; вибухонебезпечні речовини: пікринова кислота; підвищена температура робочої зони; механізми, що обертаються (центрифуги). Співробітники лабораторії зобов'язані піклуватися про власну безпеку, а також про безпеку та здоров'я інших людей в процесі виконання будь-яких робіт або під час перебування та території клініки.

Співробітники лабораторії забезпечуються спецодягом та захисними засобами (окулярами, гумовими рукавичками). Роботу повинні виконувати, дотримуючись санітарних вимог, вимог інструкцій з охорони праці, інструкції з виробничої санітарії, інструкції з профілактики розповсюдження інфекційних захворювань та інструкцій з експлуатації відповідного обладнання та апаратів (напівавтоматичного біохімічного аналізатора, імуноферментного ридера, центрифуг, термостата ТС-80 М2, шафи ЩСС-250, піпеткових дозаторів).

Приміщення лабораторії повинні бути забезпечені справною припливно-витяжною вентиляцією, засобами пожежогасіння. Освітлення робочих місць повинне відповідати санітарним нормам. Металеві корпуси електрообладнання, апаратів, включаючи й переносні, повинні бути заземлені. Заземлення виконується через розетку, яка має два пружних контакти, з'єднаних з заземлюючим проводом або заземлюючим провідником, що підключений до шини «Земля» і корпусу апарата. До роботи у лабораторії допускаються особи, яким виповнилося 18 років та які мають відповідну медичну освіту та навчені методам та прийомам безпечної роботи, а також за станом здоров'я.

Перед початком роботи персонал КДЛ повинен перевірити на своєму робочому місці: відсутність ушкоджень корпусів апаратів, обладнання, інструментів; справність заземлюючих провідників, надійність їх з'єднання до шини «Земля» і корпусу обладнання; відсутність механічних пошкоджень розеток «220 В», вимикачів; цілісність шнурів живлення апаратів,обладнання; ввімкнути витяжну вентиляцію та впевнитися в її роботі за рухом повітря; перевірити роботу освітлення на робочому місці.

Перед початком роботи необхідно надіти спецодяг та підготувати робоче місце до роботи. Всі роботи, які пов'язані з виділенням шкідливих випаровувань та газів, проводити тільки у витяжних шафах з ввімкненою витяжною вентиляцією. Необхідно слідкувати за справністю скляних та поліетиленових пляшок, в яких зберігаються кислоти та луги. Зберігати невеликі кількості кислот та лугів слід під витяжною шафою на спеціальних підносах. Використовувати необхідно лише ті кислоти, луги, хімреактиви, посуд яких має етикетку з чіткою назвою реактиву. Дотримуватись правил розбавлення кислот: лити кислоту у воду тонким струменем при постійному перемішуванні.

Під час роботи усі співробітники зобов'язані користуватись спецодягом, засобами індивідуального захисту, мити та обробляти дезинфікуючими засобами руки та гумові рукавички після кожного дослідження. З непомитими та необробленими дезинфікуючими засобами руками не виходити з приміщення лабораторії. При роботі з електрообладнанням суворо дотримуватись інструкції по експлуатації та правил техніки безпеки даного обладнання. При небезпечних відхиленнях від нормального режиму роботи, електрообладнання (холодильник, сушильно-стерілізаційна шафа, ФЕК, дозатор, електробаня і т. ін.) необхідно негайно вимкнути їх від електропостачання та прийняти заходи по усуненню їх несправностей – визвати медтехніка, електрика. При проведенні досліджень слід дотримуватись вимог правил санітарії та гігієни праці, а також правил безпеки праці згідно методики досліджень. Необхідно утримувати робоче

місце у безпечному стані. Дотримуватись правил безпеки при роботі з кислотами та лугами.

Працівникам лабораторії у процесі роботи забороняється:

- 1) користуватися кислотами, лугами і іншими розчинами не забезпеченими етикетками або підписами з повною назвою розчину і вказівкою його концентрації;
- 2) працювати з міцними кислотами і лугами без гумових рукавичок і без захисних окулярів, зберігати їх поза витяжною шафою;
- 3) проводити нейтралізацію міцних розчинів кислот і лугів міцними лугами і кислотами;
- 4) переносити кислоти або луги без належного спецодягу, в несправних корзинах;
- 5) при розфасовці хімічних розчинів, реактивів нахилитися над отвором посуду, щоб уникнути попадання бризок на обличчя;
- 6) торкатися до електричних вимикачів, електроприладів, устаткування мокрими руками;
- 7) користуватися хімічним посудом для побутових потреб;
- 8) зберігати їжу на робочому місці;
- 9) захарашувати проходи і коридор, а також підходи до пожежного гідранта.

В процесі роботи з сечею або іншим біологічним матеріалом і після її закінчення використовувані предмети (скло, піпетки, шпателя) занурюють на одну добу в банки з дезинфікуючим розчином, потім миють і кип'ятять. Посуд з використаною сечею знешкоджують дезинфікуючим розчином або кип'ятять. Після роботи всі робочі поверхні обробляють дезрозчином.

Лабораторні інструменти, пробірки, меланжери, кювети фотоелектроколориметру, піпетки, наконечники і інший посуд після кожного використання повинні піддаватися дезинфекції.

Використані вироби промивають в ємності з водою. Лабораторні інструменти можуть бути знезаражені зануренням в розчин здезинфікуючим

розчином. Як дезинфікуючі використовуються розчини: 3% розчин хлораміну, 6% перекис водню з 0,5% миючим засобом («Прогрес», «Лотос», та ін.), розчини «Неохлор», «Неохлор-табс», сульфохлоратин та інші наявні у лабораторії. Час знезараження 60 хвилин. Дезинфікуючі розчини використовуються одноразово. Ємкості для проведення дезинфекції мають бути чітко марковані, мати кришки. При дезинфекції виробів, що мають внутрішні канали, розчини дезинфекційного засобу об'ємом 5-10 мл пропускають через канал за допомогою груші для видалення залишків крові, сироватки і ін., після чого вироби повністю занурюють в дезинфікуючий розчин, в другу ємність. При зануренні інструментів в горизонтальному положенні, порожнини кожного інструменту мають бути заповнені дезинфікуючим розчином.

Посуд, що контактує з біологічним матеріалом (сечею) і не призначений для подальшого контакту з обстежуваним, після дезинфекції промивають проточною водою для повного видалення дезинфектанта і проводять необхідну технологічну обробку.

Блоки кювет-аналізаторів, кювети вимірювальної апаратури, пробірки і т. п., знезаражують тільки 6% розчином перекису водню і промивають проточною водою.

Залишки сечі та інших видів біологічного матеріалу зливають в спеціальну тару і знезаражують сухим хлорним вапном, посуд можна не піддавати стерилізації.

Гумові рукавички після закінчення роботи знезаражують зануренням в 3% розчин хлораміну або 6% розчин перекису водню на 1 годину або кип'яченням протягом 30 хвилин. Одноразовий інструмент (плашки, наконечники автоматичних піпеток і т. д.) знезаражують і утилізують в паровому стерилізаторі при тиску 2,0 кг/см (132 °C) протягом 60 хв.

Після закінчення роботи необхідно вимкнути нагрівальні прилади, устаткування від електричної мережі, закрити вікна; помити хімічний посуд і привести в порядок робоче місце, спецодяг і захисні засоби розташувати у

відведеному місці. При виході з приміщення лабораторії необхідно щільно закрити крани холодної води, вимкнути витяжну вентиляцію, відключити освітлювальні прилади в приміщенні лабораторії.

Дія персоналу лабораторії у аварійних ситуаціях.

При розливі кислоти необхідно одягнути гумові чоботи, рукавички, фартух прогумований, захисні окуляри і засипати місце аварії піском. Після того, як кислота вбереться, зібрати пісок совком у відро. Потім обробити це місце кальцинованою содою і промити водою. Провітрити приміщення.

При розливі лугу необхідно місце розливу засипати піском, видалити пісок у відро, залити місце розливу сильно розбавленою соляною або оцтовою кислотою і ганчіркою зібрати її; а потім вимити місце розливу і рукавички водою;

При проливанні неотруйних речовин досить витерти стіл ганчіркою, тримаючи її гумовими рукавичками.

При хімічних опіках шкіри необхідно уражене місце обмити великою кількістю води, а потім нейтралізуючим розчином, а саме:

- при опіках кислотою - 10% розчином натрію бікарбонату;
- при опіках лугом - 3-4 % оцтової кислоти.

У разі появи почервоніння на шкірі додатково промити обпечене місце етиловим спиртом. Про випадок повідомити завідувача лабораторією.

При попаданні кислоти або лугу в очі, на губи або слизову оболонку рота необхідно промити уражене місце водою і звернутися до лікаря.

При тепловому опіку уражене місце слід накрити стерильним матеріалом. Зверху покласти шар вати і перебинтувати.

При порізах склом необхідно промити рану великою кількістю води і переконатися в тому, що в рані немає осколків скла; змазати краї рани розчином йоду і перев'язати стерильним матеріалом; за наявності сильної кровотечі накласти джгут вище пораненої ділянки.

При раптовій появі на корпусі електричного апарату відчутного електричного струму, появі запаху гару, припиненні подачі електричної

енергії, або інших неполадках в роботі, необхідно вимкнути прилад від мережі і повідомити завідувача лабораторії або адміністрацію.

Таким чином, робота у клінічній лабораторії пов'язана з підвищеною небезпекою. Співробітники лабораторії зобов'язані піклуватися про власну безпеку, а також про безпеку та здоров'я інших людей в процесі виконання будь-яких робіт при виконанні своїх робочих обов'язків. Для цього необхідно добре знати та чітко дотримуватись усіх правил з охорони праці, виробничої санітарії, пожежної та електричної безпеки.



## ВИСНОВКИ

1. Лабораторне обстеження дітей з феохромоцитомою та нейробластомою показало значне зростання вмісту ванілілмигдальної кислоти у добовій сечі у 4,3 рази у обох дослідних групах.

2. Концентрація гомованілінової кислоти у добовій сечі дітей з феохромоцитомою та нейробластомою збільшилася у 2,9 та 3,1 рази відповідно.

3. У дітей з феохромоцитомою та нейробластомою встановлено зростання метанефринів загальних у 3,2 рази.

4. Проведеними дослідженнями встановлено наявність стійкого кореляційного зв'язку між вмістом ванілілмигдальної кислоти, гомованілінової кислоти та метанефринів загальних.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Результати кваліфікаційної роботи можуть бути використані при обстеженні хворих на феохромоцитому та нейробластому на етапі первинної діагностики, в процесі їх стаціонарного та амбулаторного лікування, при розробці алгоритму лабораторного обстеження пацієнтів з метою диференційної діагностики катехол-секретуючих пухлин.

2. Лабораторне дослідження вмісту ванілілмигдальної кислоти у добовій сечі – високочутливий, специфічний та неінвазивний маркер феохромоцитом і нейробластом у дітей. Проте результати лабораторних обстежень необхідно завжди інтерпретувати, враховуючи дані радіологічного та гістологічного досліджень.

3. Отримані результати можуть бути використані при провадженні навчального процесу в закладах вищої освіти, зокрема при викладанні дисциплін «Імунологічні методи лабораторної діагностики», «Біохімічні методи лабораторної діагностики», «Клінічна (лабораторна) імунологія», «Клінічна біохімія».

## ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Феохромоцитома та парагангліоми. URL: <https://empendium.com/ua/manual/chapter/B72.IV.E.3>. (дата звернення: 28.11.2021).
2. Чехлова О. В. Ендокринні захворювання. URL: [http://www.medclinic.od.ua/site.php/endokr\\_zobolev.php](http://www.medclinic.od.ua/site.php/endokr_zobolev.php). (дата звернення: 20.11.2021).
3. Паньків В. І. Феохромоцитома: етіологія, патогенез, діагностика, клінічні особливості, лікування. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/25215>. (дата звернення: 09.01.2022).
4. Эндокринология / Под ред. проф. П.Н. Боднара. Винница: Новая книга, 2007. 233 с.
5. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: Руководство. М.: Медицина, 2002. 217 с.
6. Калинин А.П., Казанцева И.А., Полякова Г.А. и др. Надпочечниковые и вненадпочечниковые феохромоцитомы: Уч. пособие. М., 1998. 183 с.
7. Черенько С.М. Артериальная гипертензия и опухоли надпочечников. *100 избранных лекций по эндокринологии*. Харьков, 2009. С. 925-933.
8. Чихладзе Н.М., Чазова И.Е. Феохромоцитома. *Consilium medicum: Журнал доказательной медицины для практикующих врачей*. 2008. Т. 10, № 9. С. 92-98.
9. Hande K.R. Adrenal medulla, catecholamines, and pheochromocytoma / Ed. by Goldman L., Ausiello D. Cecil Medicine. 23<sup>rd</sup> ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2007. Chap. 246.

10. Kazic M.R., Zivaljevic V.R., Milan Z.B., Paunovic I.R. Perioperative risk factors, morbidity, and outcome of 145 patients during pheochromocytoma resection. *Acta Chir. Belg.* 2011. Vol. 111, № 4. P. 223-227.
11. Stepan J., Shields J., Lebron R. Pheochromocytoma presenting as acute heart failure leading to cardiogenic shock and multiorgan failure. *Case Report. Med.* 2011. № 5. P. 45 – 48.
12. Феохромоцитома. URL: <https://empendium.com/ua/chapter/B27.II.11.7>. (дата звернення: 16.02.2022).
13. Хвороби надниркових залоз. URL: <https://vita-sana.com.ua/ua/hvorobi-nadnirkovih-zaloz/>. (дата звернення: 25.06.2022).
14. Довідник з онкології / За ред С. О. Шалімова, Ю. Я. Гриневича, Д. В. М'ясоєдова. К: Здоров'я, 2000. 125 с.
15. Румянцева А. Г., Масчан А. А. Трансплантація гемопоетических стволових кліток у дітей: Руководство для врачей. М: Мед информ агентство, 2003. 652 с.
16. Atkinson K. Clinical bone marrow and blood stem cell transplantation. 2nd ed. 2003: 381. 95 p.
17. Pinkerton C.R, Plowman P.N. Paediatric Oncology. 2 nd ed. 2000. 1500 p.
18. Pizzo P.A, Poplack D.G. Principles and Practice of Pediatric Oncology. 4th ed. 2003. 1692 p.
19. Мечев Д.С, Москалець О.І, Бондарук О.С та ін. Гормони та пухлинні маркери: клініко-методичні аспекти (навчальний посібник). Київ: ВІЦ «Медицина України», 2007. 96 с.
20. Опухолевые маркеры в клинической практике: Пособие для врачей / Под ред В. Ф. Сухого, В. С. Первого, Н. В. Сухой и др. / Днепропетровск: АРТ-ПРЕСС, 2003. 44 с.
21. Опухолевые маркеры и их обследование. Praha: IMMUNOTECH, 1999. 28 с.

22. Nuclear Oncology: diagnosis and therapy / Eds I. Khalkhaly, J. Maublant, S. Goldsmith. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. 563 p.
23. Маршутина Н. В., Сергеева Н. С. Серологические опухолевые маркеры в первичной диагностике и мониторинге больных раком молочной железы. *Рос. онкол. Журнал*. 2002. № 4 (45). С. 8 – 13.
24. Нейробластома. URL: <https://www.msdmanuals.com/uk-ua/professional/pediatrics/pediatric-cancers/neuroblastoma>. (дата звернення: 12.10.2021).
25. Deutsches Kinderkrebsregister DKKR German Childhood Cancer Registry GCCR. URL: <https://www.kinderkrebsregister.de/dkk/ergebnisse/jahresberichte.html>. (дата звернення: 12.10.2021).
26. Erdmann F., Kaatsch P., Grabow D., Spix C.: German Childhood Cancer Registry - Annual Report 2019 (1980-2018). Institute of Medical Biostatistics, Epidemiology and Informatics (IMBEI) at the University Medical Center of the Johannes Gutenberg University Mainz. 2020. 28 p.
27. Simon T. Leitlinie: Neuroblastom. S1-Leitlinie 025-008 (Leitlinie der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie) AWMF-online 2019.
28. Eggert A, Simon T, Hero B, Lode H, Ladenstein R, Fischer M, Berthold F: Neuroblastom. in: Niemeyer C, Eggert A (Hrsg.): Pädiatrische Hämatologie und Onkologie Springer Verlag GmbH GDeutschland. 2018. 420 p.
29. Berthold F., Spix C., Kaatsch P., Lampert F. Incidence, Survival, and Treatment of Localized and Metastatic Neuroblastoma in Germany 1979-2015. *Paediatric drugs*. Vol. 19, 2017. 577 p.
30. Fischer J., Pohl A., Volland R., Hero B., Dübbers M., Cernaianu G., Berthold F., von Schweinitz D., Simon T. Complete surgical resection improves outcome in INRG high-risk patients with localized neuroblastoma older than 18 months. *BMC cancer* 2017 Aug 4. P. 517-520.

31. Simon T., Hero B., Schulte J.H., Deubzer H., Hundsdorfer P., von Schweinitz D., Fuchs J., Schmidt M., Prasad V., Krug B., Timmermann B., Leuschner I., Fischer M., Langer T., Astrahantseff K., Berthold F., Lode H., Eggert A. GPOH Guidelines for Diagnosis and Treatment of Patients with Neuroblastic Tumors. *Klinische Padiatrie*. Vol. 2. 2017. P. 147-159.
32. Oberthuer A., Berthold F., Hero B., Till H. Neuroblastome. Stuttgart, 2012. 77 p.
33. Brisse H.J., McCarville M.B., Granata C., Krug K.B., Wootton-Gorges S.L., Kanegawa K., Giammarile F., Schmidt M., Shulkin B.L., Matthay K.K., Lewington V.J., Sarnacki S., Hero B., Kaneko M., London W.B., Pearson A.D., Cohn S.L., Monclair T. International Neuroblastoma Risk Group Project: Guidelines for imaging and staging of neuroblastic tumors. *Radiology*. №3. 2011. P. 243-261.
34. Ora I., Eggert A. Progress in treatment and risk stratification of neuroblastoma: impact on future clinical and basic research. *Seminars in cancer biology*. Vol. 21. P. 2011-2017.
35. Hero B., Papenheim H., Schuster U. Neuroblastom – Informationen für Eltern. Fördergesellschaft Kinderkrebs-Neuroblastom-Forschung e.V. Baden, 2011 [URI: <http://www.neuroblastoma.de/fileadmin/PDF/Neuroblastom.pdf>]
36. Maris J.M. Recent advances in neuroblastoma. *The New England journal of medicine*. №10. 2010. P. 2202-2236.
37. Monclair T., Brodeur G.M., Ambros P.F., Brisse H.J., Cecchetto G., Holmes K., Kaneko M., London W.B., Matthay K.K., Nuchtern J.G., Schweinitz D., Simon T., Cohn S.L., Pearson A.D. INRG Task Force: The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) staging system. *Journal of clinical oncology*. №27. 2009. P. 298-327.
38. Oberthuer A., Theissen J., Westermann F., Hero B., Fischer M. Molecular characterization and classification of neuroblastoma. *Future oncology* (London, England). №5. 2009. P. 605-625.

39. Fischer M., Spitz R., Oberthür A., Westermann F., Berthold F. Risk estimation of neuroblastoma patients using molecular markers. *Klinische Padiatrie*. №6. 2008. P. 120-137.
40. Hero B., Simon T., Spitz R., Ernestus K., Gnekow A.K., Scheel-Walter H.G., Schwabe D., Schilling F.H., Benz-Bohm G., Berthold F. Localized infant neuroblastomas often show spontaneous regression: results of the prospective trials NB95-S and NB97. *Journal of clinical oncology*. №26. 2008. P. 1504-1526.
41. Gadner H., Gaedicke G., Niemeyer C.H., Ritter J. Pädiatrische Hämatologie und Onkologie. Springer-Verlag, 2006. 66 p. [ISBN: 3540037020]
42. Claviez A., Lakomek M., Ritter J., Suttorp M., Kremens B., Dickerhoff R., Harms D., Berthold F., Hero B. Low occurrence of familial neuroblastomas and ganglioneuromas in five consecutive GPOH neuroblastoma treatment studies. *European journal of cancer*. №4. 2004. P.2740-2760.
43. Berthold F., Hero B., Kremens B., Handgretinger R., Henze G., Schilling F.H., Schrappe M., Simon T., Spix C. Long-term results and risk profiles of patients in five consecutive trials (1979-1997) with stage 4 neuroblastoma over 1 year of age. *Cancer letters*. 2003. P. 197-211
44. Hero B, Berthold F: Neuroblastom. *Monatschr Kinderheilkd*. 2002. 775 p. [DOI: 10.1007/s00112-002-0493-0].
45. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиасфера, 2002, 312 с.
46. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. К.: «МОРИОН», 2002. 640с.
47. Гривкова Л. В., Зотов О. С. Методи діагностики злоякісних новоутворень. URL: <https://compendium.com.ua/uk/tutorials-uk/onkologiya/rozdil-nbsp-4-metodi-diagnostiki-zloyakisnih-novoutvoren/>. (дата звернення: 18.10.2021).

48. Pacak K. Pheochromocytoma: recommendations for clinical practice from the First International Symposium. October 2005. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* Vol. 3, №2. 2007. P. 92-102.

49. Chernecky C. C., Berger B.J. *Laboratory Tests and Diagnostic Procedures.* Saunder Elsevier, 2008. 26 p.

50. Eisenhofer G., Kopin I. J., Goldstein D. S. Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacol Rev.* Vol. 56, №3. 2004. P 341 - 349.

51. Klegman R.M. *Textbook of Pediatrics.* Saunder Elsevier, 2007. 318 p.