

Fractionated Plasma Metanephrines

Orit Twito

Endocrinology, Diabetes & Metabolism Institute

Meir Medical Center

על סדר היום

- בדיקות הסקירה לפאנורמוציטומה
- בדיקת מטנפרינים בפלסמה ביחס לבדיקות אחרות
- פרמטרים המשפיעים על תוצאות הבדיקה
- פענוח תוצאות הבדיקה ובעיקר תוצאות חיוביות

הצורך הקליני

- חשד קליני לפאזכרומוציטומה/פרה-גנגליומה

- ממצא גושי אדרנלי או אחר הדורש בירור



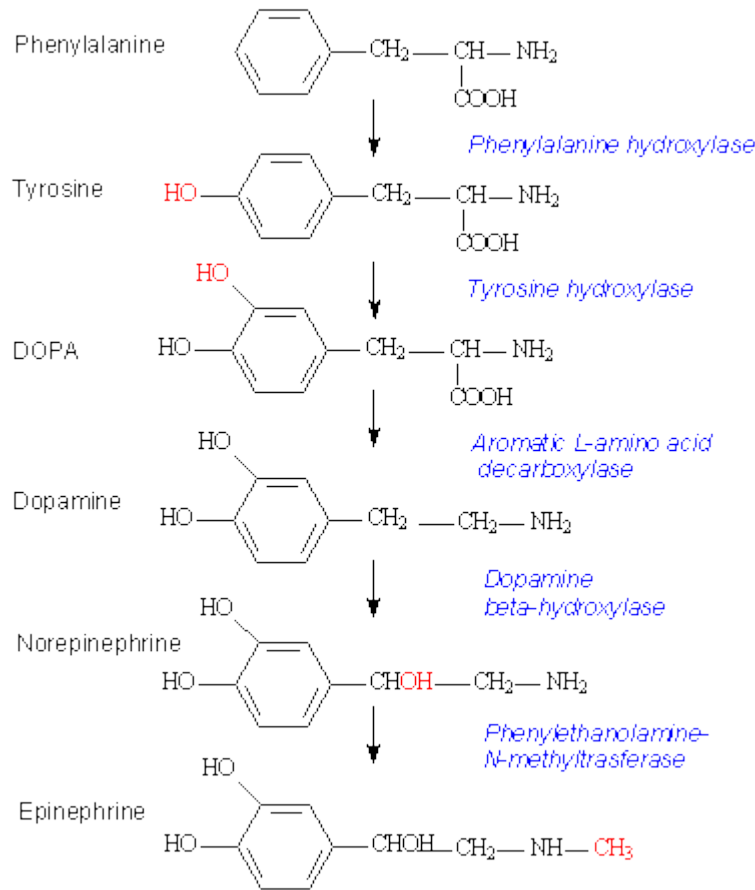
אפשרויות לסקירה ביוכימית

- קטכולאמינים בשתן
- מטנפרינים ונורמטנפרינים בשתן
- קטכולאמינים בדם
- מטנפרינים ונורמטנפרינים בדם

- כרומוגרפין A
- מבחן קלונידין

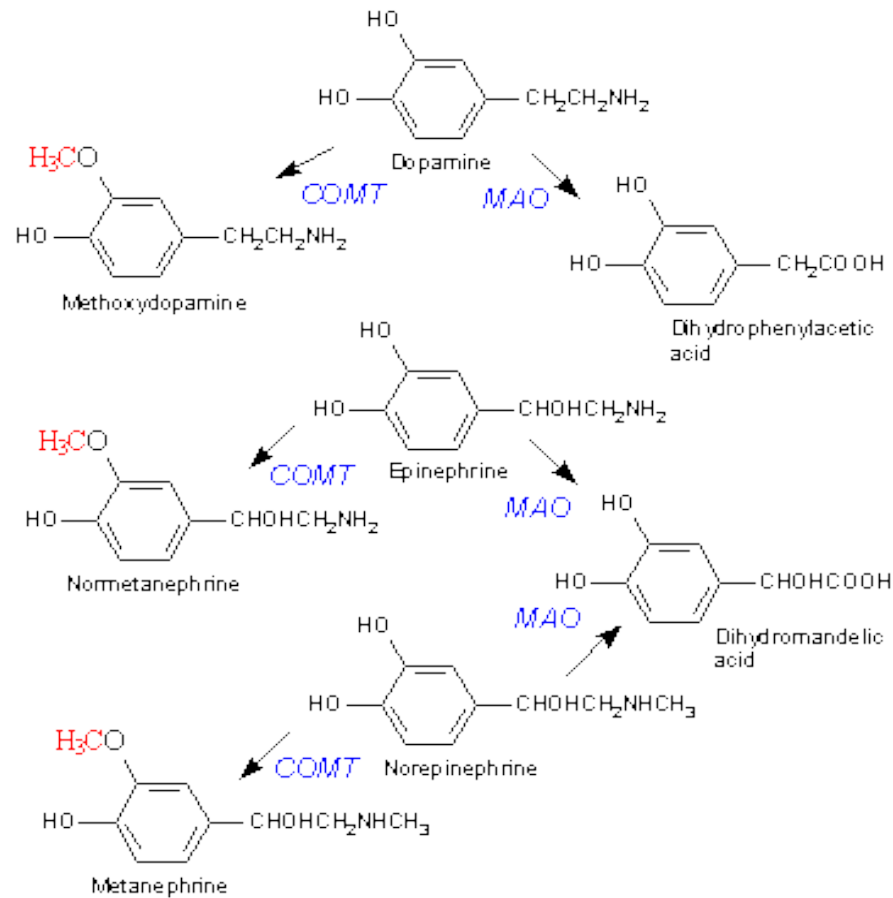
ייצור קטכולאמינים אנדוגני

קטכולאמינים מיוצרים בסיבי עצב
סימפתטים (נוראדרנלין) ובמדולת
האדרנל (אדרנלין+נוראדרנלין)



הקטכולאמינים מהאדרנל
מופרשים לזרם הדם.
קטכולאמינים מקצות העצבים
עוברים uptake מקומי.

תהליך פירוק הקטכולאמינים

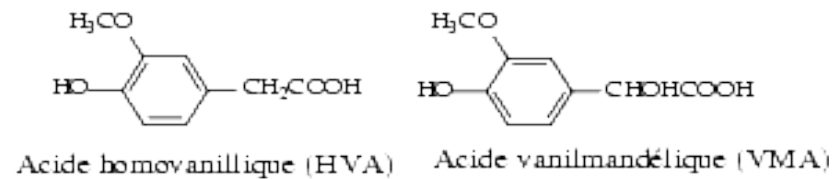


אנוימי המפתח הם
COMT
MAO-1

תהליך פירוק הקטכולאמינים

תוצרי פירוק נוספים שהם תולדה של פעילות משותפת של COMT

MAO-1



סקירה ביוכימית

קטכולאמינים

לקטכולאמינים רגישות וסגוליות ירודות

✓ מופרשים גם ע"י מערכת העצבים הסימפתטית ולא רק ע"י

גידולים

✓ לעיתים הפרשה אפיזודית של קטכולאמינים מן הגידול בעוד

הפרשת המטנפרינים קבועה

✓ בעיקר בגידולים גדולים- ייתכן מטבוליזם מסיבי בתוך תאי הגידול

לדוגמא

בן 72

גידול 6*6 ס"מ באדרנל שמאל

יל"ד קשה לאיזון

היפרטרופיה של שריר הלב

שם בדיקה	תוצאה	יחידות	טווח	טווח גרפי
<u>EPINEPHRINE-U SAMPLE</u>	מתחת לסף רג	µg/L		
<u>EPINEPHRINE- U 24h</u>	לא ניתן לחי	µg/24 h	2.10 - 27...	
<u>NOREPI- URINE SAMPLE</u>	33.62	µg/L		
<u>NOREPI- URINE 24h</u>	67.24	µg/24 h	2.10 - 97...	[.....*...]
<u>DOPAMINE- U SAMPLE</u>	86.41	µg/L		
<u>DOPAMINE- URINE 24h</u>	172.82	µg/24 h	לא ניתן ל	
<u>NORMETANEPH SAMPLE</u>	1441	µg/L		
<u>NORMETANEPH- U 24h</u>	2881	µg/24 h	5 - 390	[.....]*
<u>METANEPHRINE U SAM</u>	692	µg/L		
<u>METANEPHRINE U 24h</u>	1384	µg/24h	5 - 320	[.....]*

שם בדיקה	תוצאה	יחידות	טווח	טווח גרפי
<u>EPINEPHRINE- BL</u>	65	pg/mL	5 - 67	[.....]*
<u>NOREPINEPHRINE- BL</u>	572	pg/mL	50 - 446	[.....]*
<u>DOPAMINE- BLOOD</u>	20	pg/mL	0 - 1000	[.*.....]

סקירה ביוכימית

מטנפרינים בשתן

החל משנות ה-80 נתונים ברורים המצביעים על רגישות גבוהה יותר של מטנפרינים בשתן לעומת קטכולאמינים בשתן

- **Manu P, Runge LA. Biochemical screening for pheochromocytoma.** Superiority of urinary metanephrines measurements. *Am J Epidemiol.* 1984.
- **Gerlo EA, Sevens C. Urinary and plasma catecholamines and urinary catecholamine metabolites in pheochromocytoma: diagnostic value in 19 cases.** *Clin Chem.* 1994
- **Shawar L, Svec F. Pheochromocytoma with elevated metanephrines as the only biochemical finding.** *J La State Med Soc.* 1996
- **Gardet V, Gatta B, Simonnet G, et al. Lessons from an unpleasant surprise: a biochemical strategy for the diagnosis of pheochromocytoma.** *J Hypertens.* 2001

סקירה ביוכימית מטנפרינים בפלסמה

- בשנות ה-90 פרסומים ראשונים לגבי עדיפות בדיקת המטנפרינים בפלסמה
- הסגוליות זהה לבדיקות השתן
- הרגישות גבוהה משמעותית

- **Lenders JW, Keiser HR, Goldstein DS, et al. Plasma metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma. *Ann Intern Med.* 1995;**
- **Lenders JW, Pacak K, Walther MM, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? *JAMA.* 2002**

סקירה ביוכימית

מטנפרינים בפלסמה

- במחקר של ה-NIH שסקר חולים עם תסמונות גנטיות הכוללות פאוכרוציטומה/פרה-גנגליומה
 - למטנפרינים בדם נמצאה רגישות של 97% וסגוליות של 96%
 - למטנפרינים בשתן נמצאה רגישות של 65% וסגוליות של 95%
 - *בחולי 2-MEN נמצאה רמה גבוהה של מטנפרינים*
 - *בחולי VHL נמצאה רמה גבוהה של נורמטנפרינים*
-
- Eisenhofer G, Lenders JW, Linehan WM, Walther MM, Goldstein DS, Keiser HR. Plasma normetanephrine and metanephrine for detecting pheochromocytoma in von Hippel-Lindau disease and multiple endocrine neoplasia type 2. *N Engl J Med.* 1999

סקירה ביוכימית

מטנפרינים בפלסמה

Table 4. Summary Characteristics of 15 Diagnostic Studies Involving Measurements of Plasma Free Normetanephrine and Metanephrine for Diagnosis of PPGL

First Author, Year (Ref.)	Analytical Method	Sampling Position	URL NMN, nmol/L	URL MN, nmol/L	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity	Area Under ROC Curve	Analytical Test Comparisons
Raber, 2000 (40)	LC-ECD	Supine	0.66	0.30	100% (17/17)	100% (14/14)	nd	UC
Lenders, 2002 (39)	LC-ECD	Supine	0.61	0.31	99% (211/214)	89% (575/644)	0.985	UFM, UTM, UC, UV, PC
Sawka, 2003 (41)	LC-ECD	Seated	0.90	0.50	97% (30/31)	85% (221/261)	0.965	UTM, UC
Unger, 2006 (42)	RIA	Seated	0.69 ^a	0.19 ^a	96% (23/24)	79% (54/68)	nd	UFM, UC, PC
Giovannella, 2006 (43)	LC-ECD	Not stated	0.50	Sum NMN & MN	95% (42/44)	94% (140/148)	nd	CgA
Vaclavik, 2007 (44)	LC-ECD	Supine	0.61	0.31	100% (25/25)	96.7% (1194/1235)	nd	None
Gao, 2008 (45)	EIA	Supine	0.73	0.47	97% (29/30)	86% (44/51)	0.965	None
Hekman, 2009 (46)	LC-ECD	Not stated	0.90	0.60	100% (22/22)	98% (40/41)	0.993	UFM, UC, UV, PC
Procopiou, 2009 (47)	EIA	Not stated	1.09	0.46	91% (20/22)	100% (156/156)	0.987	UC
Grouzmann, 2010 (48)	LC-ECD	Supine	1.39	0.85	96% (44/46)	89% (102/114)	0.993	UFM, PC
Passon, 2010 (49)	LC-MS/MS	Seated	1.18	0.51	100% (38/38)	96% (108/113)	1.000	PM by EIA
Mullins, 2011 (50)	EIA	Seated	0.98	0.46	100% (13/13)	88% (51/60)	0.969	PM by LC-MS/MS
Sarathi, 2011 (51)	EIA	Seated	0.98	0.46	94% (32/34)	94% (62/66)	nd	None
Christiansen, 2011 (52)	EIA	Seated	1.09	0.46	91% (10/11)	99% (172/174)	0.970	UC
Unger, 2012 (53)	EIA	Seated	0.91 ^a	0.13 ^a	90% (17/19)	90% (54/60)	nd	UFM, CgA

Abbreviations: CgA, chromogranin A; EIA, enzyme immunoassay; MN, plasma free metanephrine; nd, no data; NMN, plasma free normetanephrine; PC, plasma catecholamines; PM, plasma metanephrines; RIA, radioimmunoassay; UC, urine catecholamines; UFM, urine fractionated metanephrines; URL, upper reference limit; UTM, urine total metanephrines; UV, urine VMA.

מטנפרינים בפלסמה ושיטות אחרות

- מטנפרינים בפלסמה מפיקים רגישות וסגוליות גבוהות יותר לעומת קטכולאמינים בפלסמה או בשתן
- מטנפרינים בפלסמה מפיקים סגוליות גבוהה יותר לעומת מטנפרינים בשתן

Table 5. Comparison of Diagnostic Performance of Plasma Free Versus Urinary Fractionated Metanephrines from 5 Available Studies

First Author, Year (Ref.)	Sensitivity		Specificity	
	Plasma	Urine	Plasma	Urine
Lenders, 2002 (39)	98.6% (211/214)	97.1% (102/105)	89.3% (575/644)	68.6% (310/452)
Unger, 2006 (42)	95.8% (23/24)	93.3% (14/15)	79.4% (54/68)	75.0% (39/52)
Hickman, 2009 (46) ^a	100.0% (14/14)	85.7% (12/14)	97.6% (40/41)	95.1% (39/41)
Grouzmann, 2010 (48)	95.7% (44/46)	95.0% (38/40)	89.5% (102/114)	86.4% (121/140)
Unger, 2012 (53)	89.5% (17/19)	92.9% (13/14)	90.0% (54/60)	77.6% (38/49)

^a Data restricted to that available from Table 4 of those studies where all measurements were made.

מטנפרינים בפלסמה - שיקולים מעבדתיים

● שיטות בדיקה אפשריות:

- Liquid chromatography with electrochemical or fluorometric detection (LC-ECD)
 - Liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS)
 - Immunoassay methods
-
- Weissmann et Al, Measurement of plasma metanephrines by immunoassay vs liquid chromatography with tandem mass spectrometry for diagnosis of pheochromocytoma. Eur J Endocrinol 2015

מטנפרינים בפלסמה-שיטת הלקיחה

- מצב עמידה או ישיבה מגבירים הפרשת נוראפינפרין ונורמטנפרין בבריאים

- בקבוצה של נבדקים עם יל"ד נטילת דם במצב ישיבה הגבירה את שיעור ה-false positive פי 2.8!!

- בחולי פאוכרומוציטומה התנוחה אינה משפיעה על הרמות

- *יש ליטול בדיקת מטנפרינים בשכיבה*

- במידה ונלקחה בדיקה בישיבה וחזרה מוגברת יש לחזור עליה בשכיבה

מטנפרינים בפלסמה-

מה עושים עם תוצאה חיובית?

- רגישות גבוהה- שיעור false negative נמוך מאד

- מה לעשות עם תוצאה חיובית?

- Pre-test probability < 1%

- False positive >> true positive

- כ-20% מהתשובות החיוביות הן כוזבות!

מטנפרינים בפלסמה-

מה עושים עם תוצאה חיובית?

● גורמים העשויים לגרום ל- false positive:

● בדיקה בישיבה

● בדיקה במצב דחק (אשפוז)

● תרופות

Table 7. Major Medications That May Cause Falsely Elevated Test Results for Plasma and Urinary Metanephrines

	Plasma		Urine	
	NMN	MN	NMN	MN
Acetaminophen ^a	++	-	++	-
Labetalol ^a	-	-	++	++
Sotalol ^a	-	-	++	++
α -Methyldopa ^a	++	-	++	-
Tricyclic antidepressants ^b	++	-	++	-
Bupirone ^a	-	++	-	++
Phenoxybenzamine ^b	++	-	++	-
MAO-inhibitors ^b	++	++	++	++
Sympathomimetics ^b	+	+	+	+
Cocaine ^b	++	+	++	+
Sulphasalazine ^a	++	-	++	-
Levodopa ^c	+	+	++	+

מטנפרינים בפלסמה-

מה עושים עם תוצאה חיובית?

● האם יש התאמה לתמונה הקלינית?

➤ האם לחולה תסמינים חשודים?

➤ האם גוש אדרנלי או חוץ-אדרנלי מתאים?

➤ האם יש חשד לתסמונת גנטית רלוונטית?

● האם תמונת המעבדה חשודה?

➤ רמה מטנפרינים או נורמטנפרינים מעל פי 3 מהנורמה חשודה יותר

כ-true positive

➤ שילוב של עליית מטנפרינים+נורמטנפרינים חשוד יותר כ-true

positive

מטנפרינים בפלסמה-

מה עושים עם תוצאה חיובית?

- מבחן קלונידין
- למבחן זה סגוליות המוערכת ב-100%!!!
- מטרת המבחן: אבחנה בין נורמטנפרין מוגבר בשל פעילות סמפתטית מוגברת לבין גידול מפריש קטכולאמינים

כעבור 3 שעות
דגימת דם חוזרת
לנורמטנפרינים

מעקב ל"ד
ודופק

מתן קלונידין 300
מק"ג

דגימת דם
לנורמטנפרינים

הכנסת קנולה לווריד
שכיבה של 15 דקות

- בנבדק בריא צפויה ירידה של מעל 40% ברמת הנורמטנפרינים
- העדר דיכוי של רמת הנורמטנפרינים = גידול מפריש קטכולאמינים

מטנפרינים בפלסמה-

מה עושים עם תוצאה חיובית?

- בדיקת כרומוגרנין A בדם
- חלבון המצוי בגרנולות הפרשה
- מדד בלתי רגיש ובלתי ספציפי
- רמתו עולה בגידולים נירואנדוקרינים ממקורות שונים
- תשובה חיובית כוזבת שכיחה מאד בעיקר בנבדקים הנוטלים PPI או סובלים מגסטריטיס אטרופית
- 73% רגישות, 74% סגוליות
- Unger et Al, Plasma and urinary metanephrines determined by an enzyme immunoassay, *but not serum Chromogranin A* for the diagnosis of pheochromocytoma in patients with adrenal mass. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2012

כשקליניקה ומעבדה נפגשים

- **בת 65, גוש צווארי, חשוד כפרה-גנגליומה**
- **בדיעבד קליניקה מתאימה- התקפי הזעה, יל"ד קשה לאיזון**
- **נורמטופרינים בשתן פי 2-3 מהנורמה**
- **לאחר הכנה תרופתית-כריתת פרה-גנגליומה צווארית**
- **לאחר הניתוח-ל"ד משתפר מאד, התקפי ההזעה פוחתים משמעותית**
- **בירור גנטי חלקי שלילי למוטציות ב-SDHB ו-SDHD**
- **כעבור מספר חודשים- התקפי ההזעה מתחדשים**
- **נורמטופרינים בשתן פי-2-3 מהנורמה-במגמת עליה**
- **מה לעשות?**

כשקליניקה ומעבדה נפגשים

- בדיקות הדמיה-US צוואר, CT-PET - ללא ממצא גושי חשוד
- נורמטופרינים בפלסמה- תקינים לחלוטין!
- *מה לעשות?*
- *לאיזו בדיקה להאמין?*

סיכום

- בדיקות מטנפרינים בדם ו/או בשתן הן בדיקת הבחירה בחשד לפאוקרומוציטומה
- ככל הנראה למטנפרינים בדם רמת דיוק גבוהה יותר, אך טרם מידע מספק
- חשיבות גדולה לשיטה אנליטית איכותית ותנאי לקיחת דם נכונים
- ניתוח התוצאות בהתייחסות לפרמטרים מעבדתיים וקליניים

תודה

orit.twito@clalit.org.il