

מדידת תוצרי פירוק של קטכולאמינים בשתן - יממה או לילה?

ד"ר ענת יפה

מנהלת מרפאת 'מבט אחר' קיסריה,

מנהלת יח' לאנדוקרינולוגיה וסוכרת מ"ר הלל יפה

תיאור קליני

- ח.ס בת 45, ג+1,
- לאחרונה כאבים בבטן ימנית עליונה, מזה שנתיים-שלוש קפיצות ל"ד, פלפיטציות.
- עודף משקל נצבר לאחר הלידה ועקב טיפול בסטרואידים פומיים. ללא אבני כלייה, אין עצירות.
- תרופות: סרטייד באופן קבוע, ונטולין, אלטרוקסין 150 מק"ג ליום, לוסרדקס 2*50, טלפסט
- בבדיקה: משקל-113ק"ג, ג-170סמ', ל"ד-136/79, דופק-75. עודף משקל ניכר, פנים סמוקות, לב, ראות-ב.מ.פ, בטן שמנה, רכה, ללא רגישות וללא גושים, ללא סטריות, רגליים ללא בצקות

שאלות

- האם לבדוק בכיוון פאוכרומציטומה?
- איזה בדיקות לעשות?

מידע נוסף

- מאושפזת לקראת ניתוח כריתה מלאה של בלוטת מגן עקב סרטן מדולרי של הבלוטה
- בעבר כריתה של אדרנל- עקב פאוכרומציטומה
- האם משנה את ההחלטה על ברור בכיוון של פאוכרומציטומה?
- איזה בדיקות לבצע?

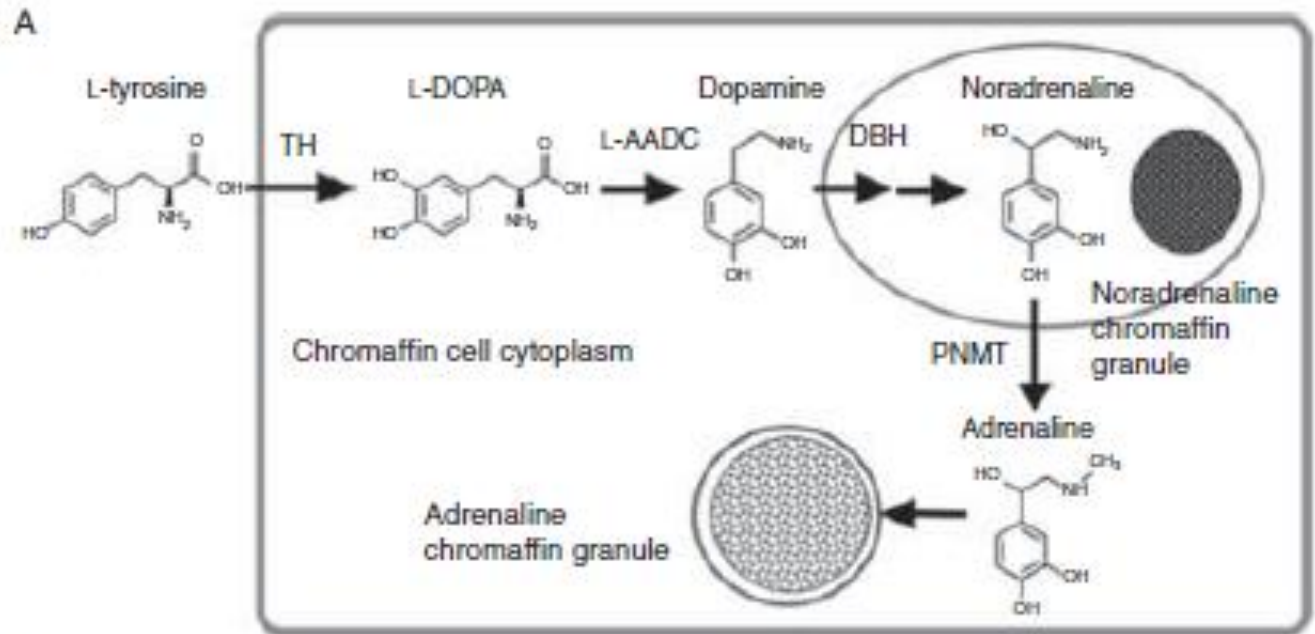
בדיקות

- קט"א באיסוף שתן 24 שעות- תקין [סך / ומתוקן לקראטינין]
- מטנפרינים באיסוף 24 שעות:
NMN סך/ מתוקן לקראטינין- תקין,
MN - סך/ מתוקן לקראטינין מוגבר גבולי; +10%
- ב-CT בטן, אדרנל ימין חסר, אדרנל שמאל מוגדל הודגמו **שני גושים**
האחד 40 על 38 ממ זרוע מדיאלית עליונה והשני 14 על 14 ממ זרוע
לטרלית נמוכה. הבדיקה בוצע עם ח.נ. לא בפרוטוקול אדרנל צפיפות 40-
HU 60
- **מטנפרינים [חוזר] באיסוף 24 שעות: ללא שינוי**
NMN סך/ מתוקן לקראטינין- תקין,
MN - סך/ מתוקן לקראטינין מוגבר גבולי

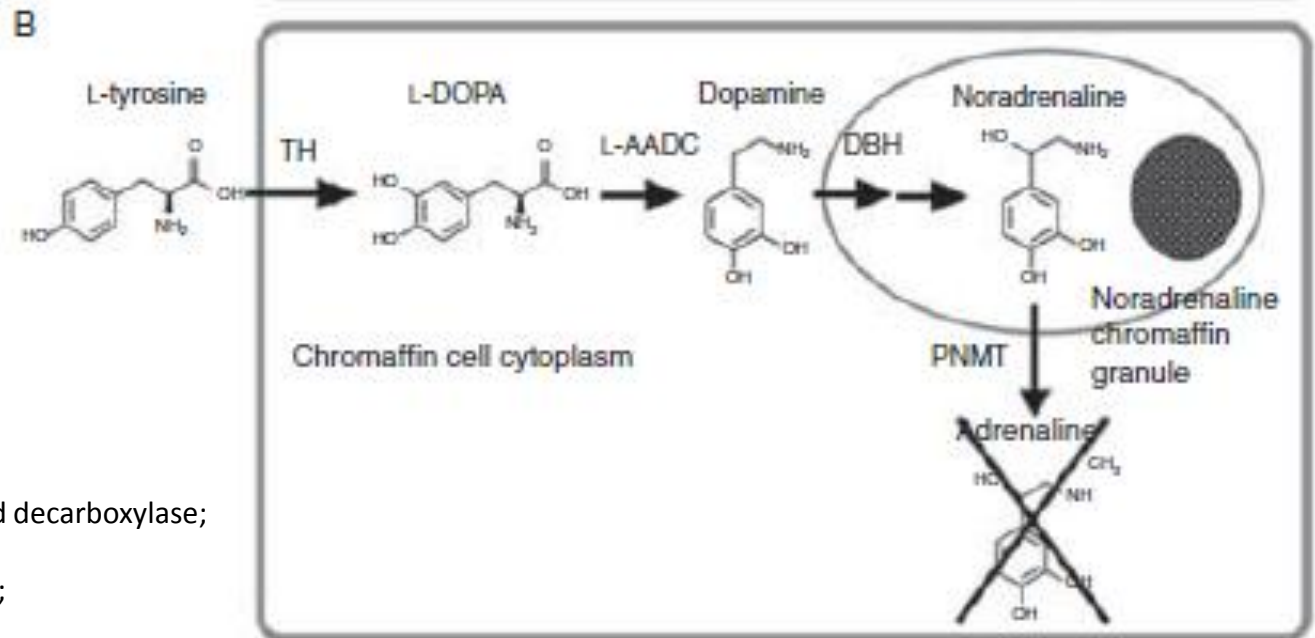
נדבר על..

- ייצור והפרשה של אמינים ביוגנים
- מי מפריש מה
- מה אפשר למדוד
- איך להכין למדידה
- איסוף דגימה מותאם לחולה
- שיטות מדידה- הכנת הדגימה [ניקוי , ריכוז, מיכשור, קולונות, תמיסות מיצוי, אמידה]- לא נדבר

Adrenal medulla



Sympathetic NS

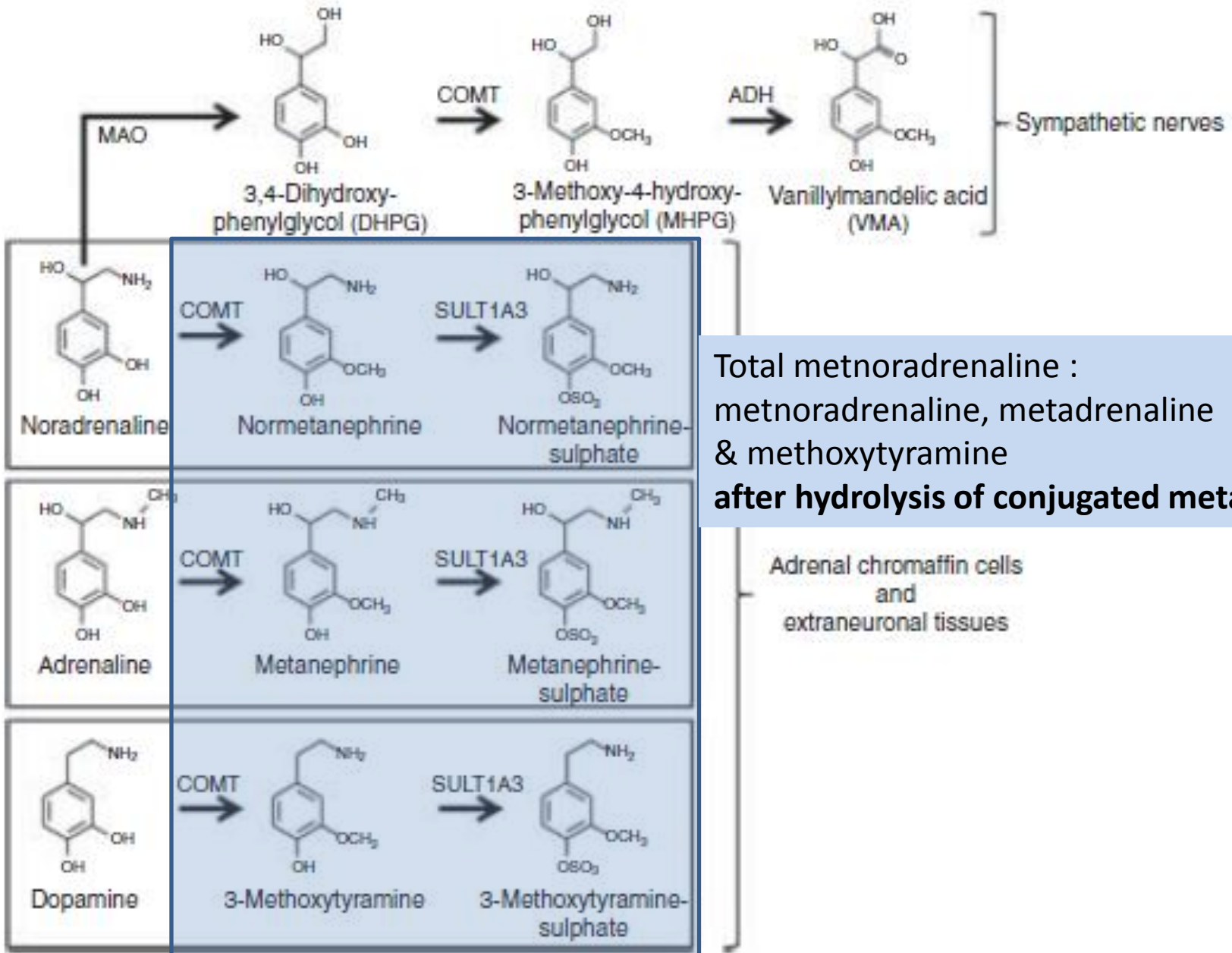


TH=tyrosine hydroxylase;

L-AADC, aromatic L-amino-acid decarboxylase;

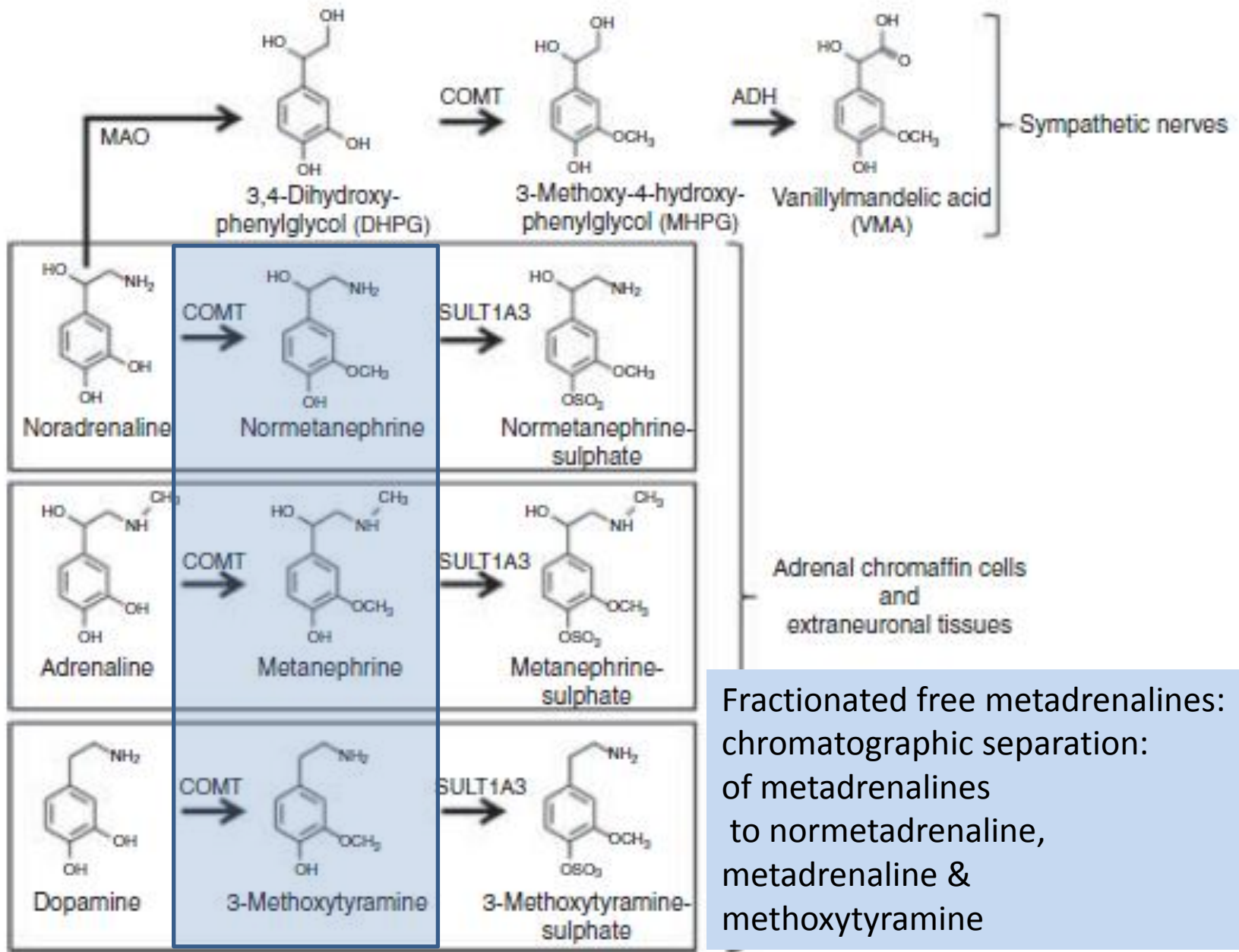
DBH, dopamine- β -hydroxylase;

PNMT, phenylethanolamine-N-methyltransferase.



Total metnoradrenaline :
metnoradrenaline, metadrenaline
& methoxytyramine
after hydrolysis of conjugated metabolites

Adrenal chromaffin cells
and
extraneuronal tissues

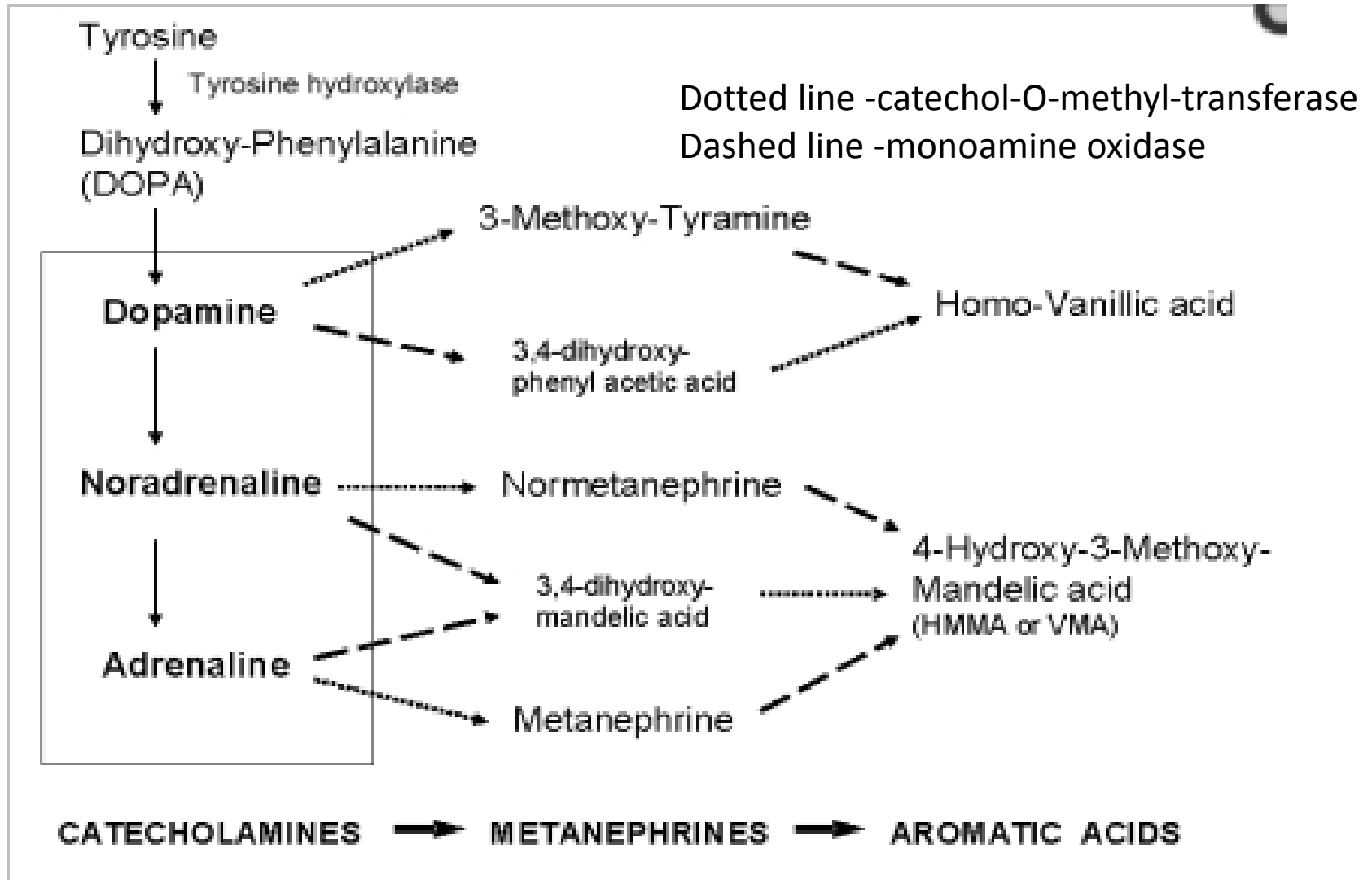


Fractionated free metadrenalines:
 chromatographic separation:
 of metadrenalines
 to normetadrenaline,
 metadrenaline &
 methoxytyramine

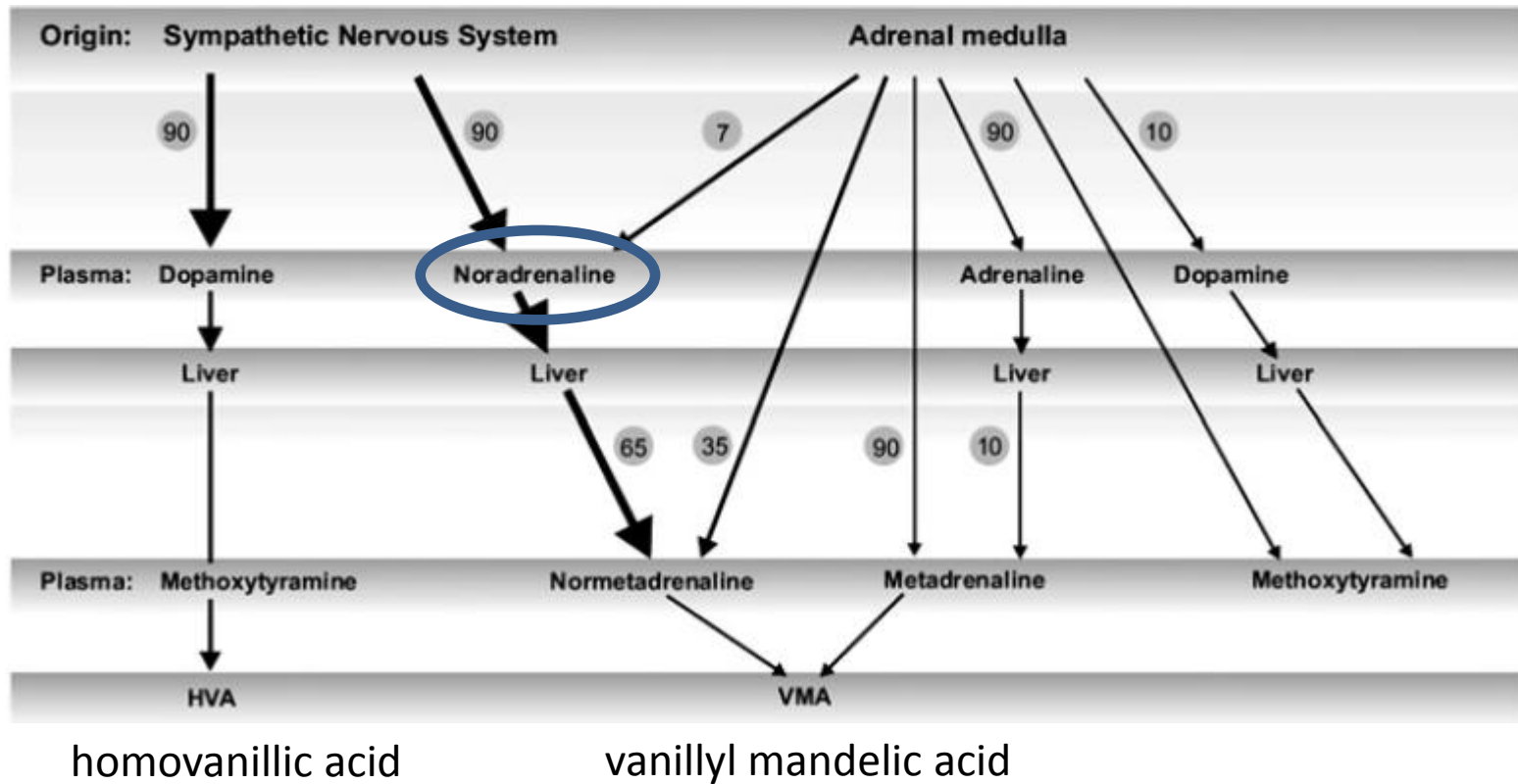
איך מודדים

- Radioenzymatic assays
- HPLC methods:
 - Electrochemical detection (HPLC-ECD)
 - The liquid chromatography tandem quadrupole mass spectrometry- (LC-MS/MS)
- LC-MS/MS :
 - higher specificity ,
 - smaller sample volumes,
 - cost-effective – reduced specimen processing and analysis time- **Not available in Israel**

Biochemical pathways for the metabolism of catecholamines



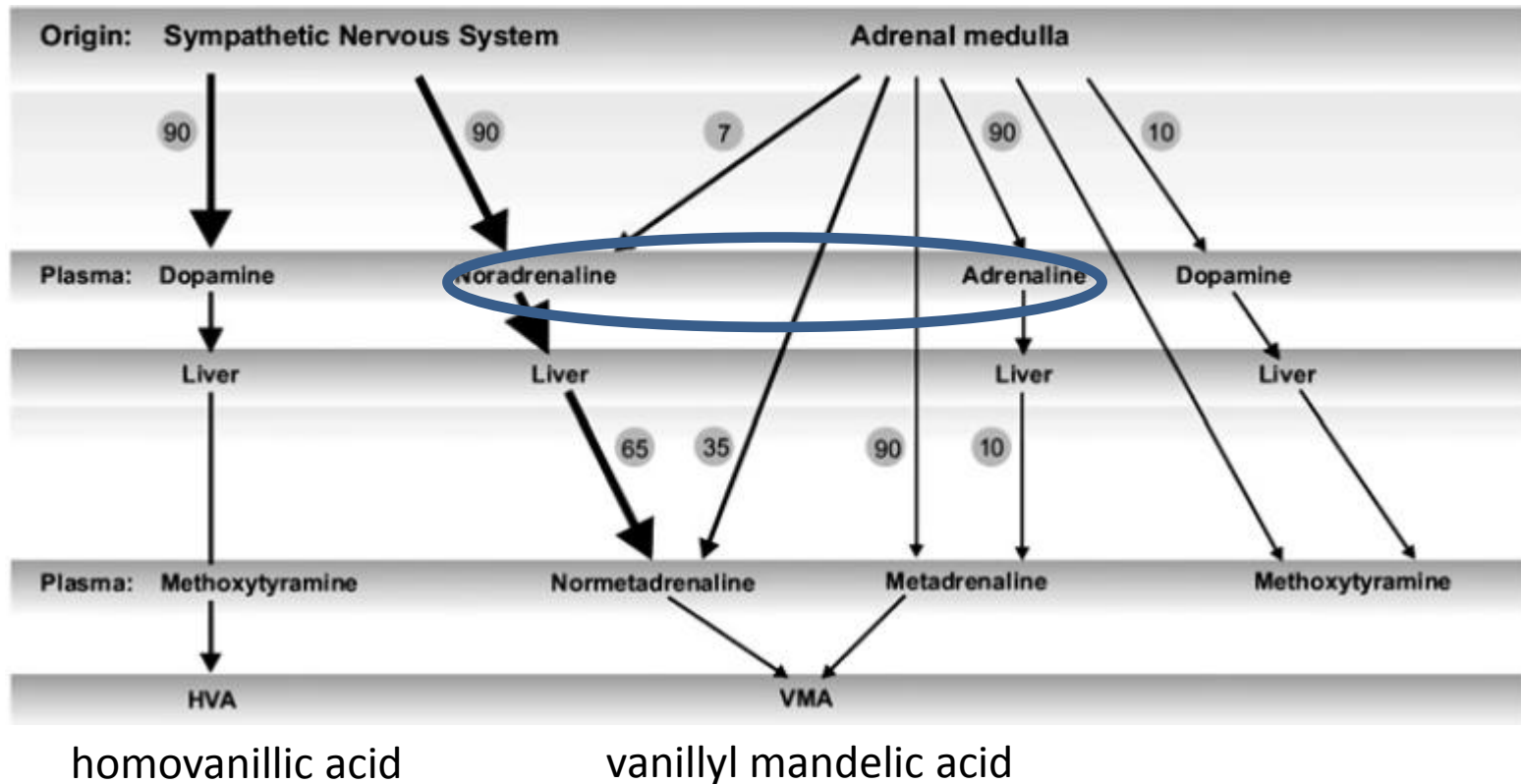
Origin of plasma catecholamines and metadrenalines -% of the total



The metabolism of the catecholamines, with metabolites -% of the total

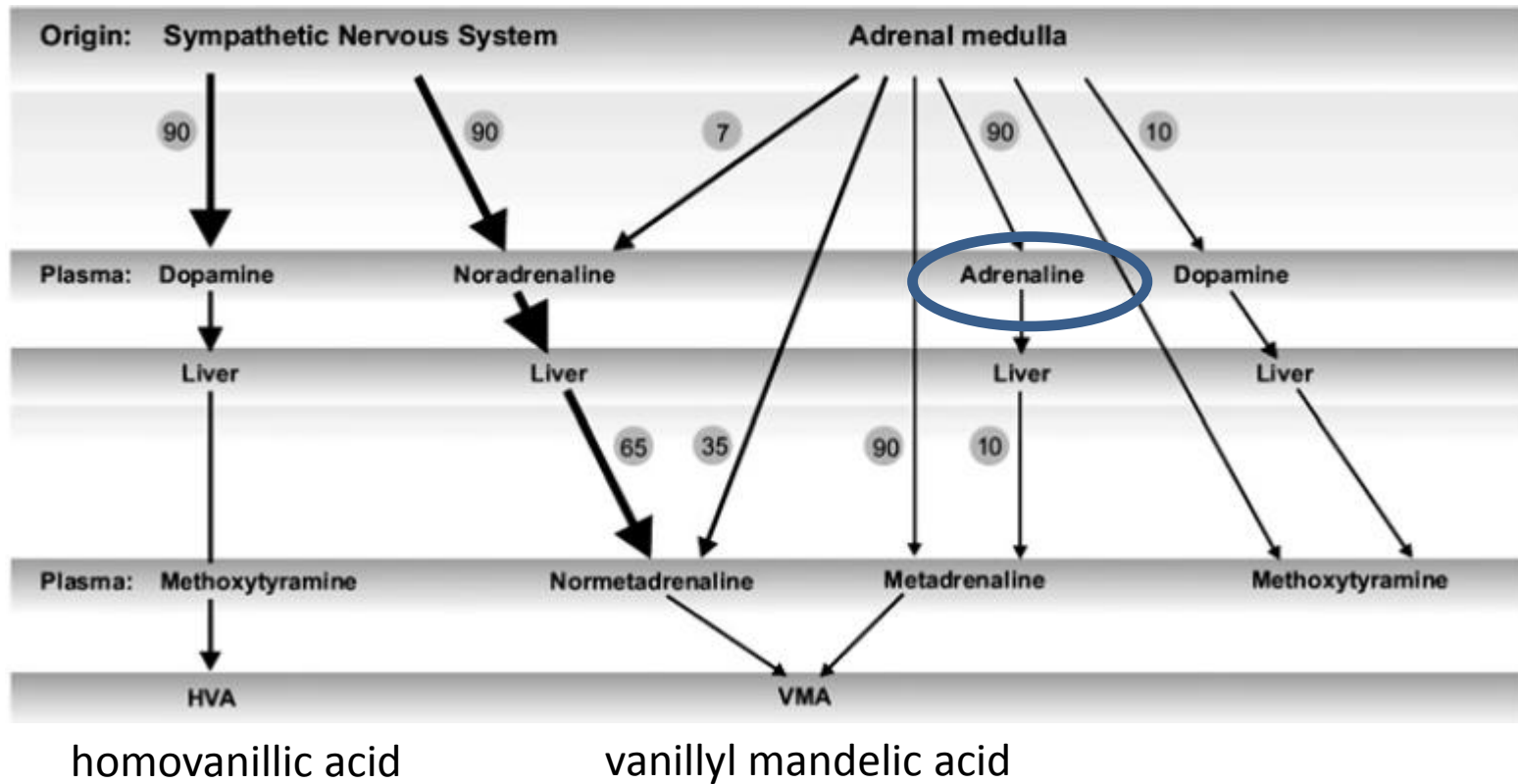
בכחול – איכות ההפרשה בדם ובשתן, להלן ע"פ הארעות סוגי הגידולים השונים

Origin of plasma catecholamines and metadrenalines -% of the total



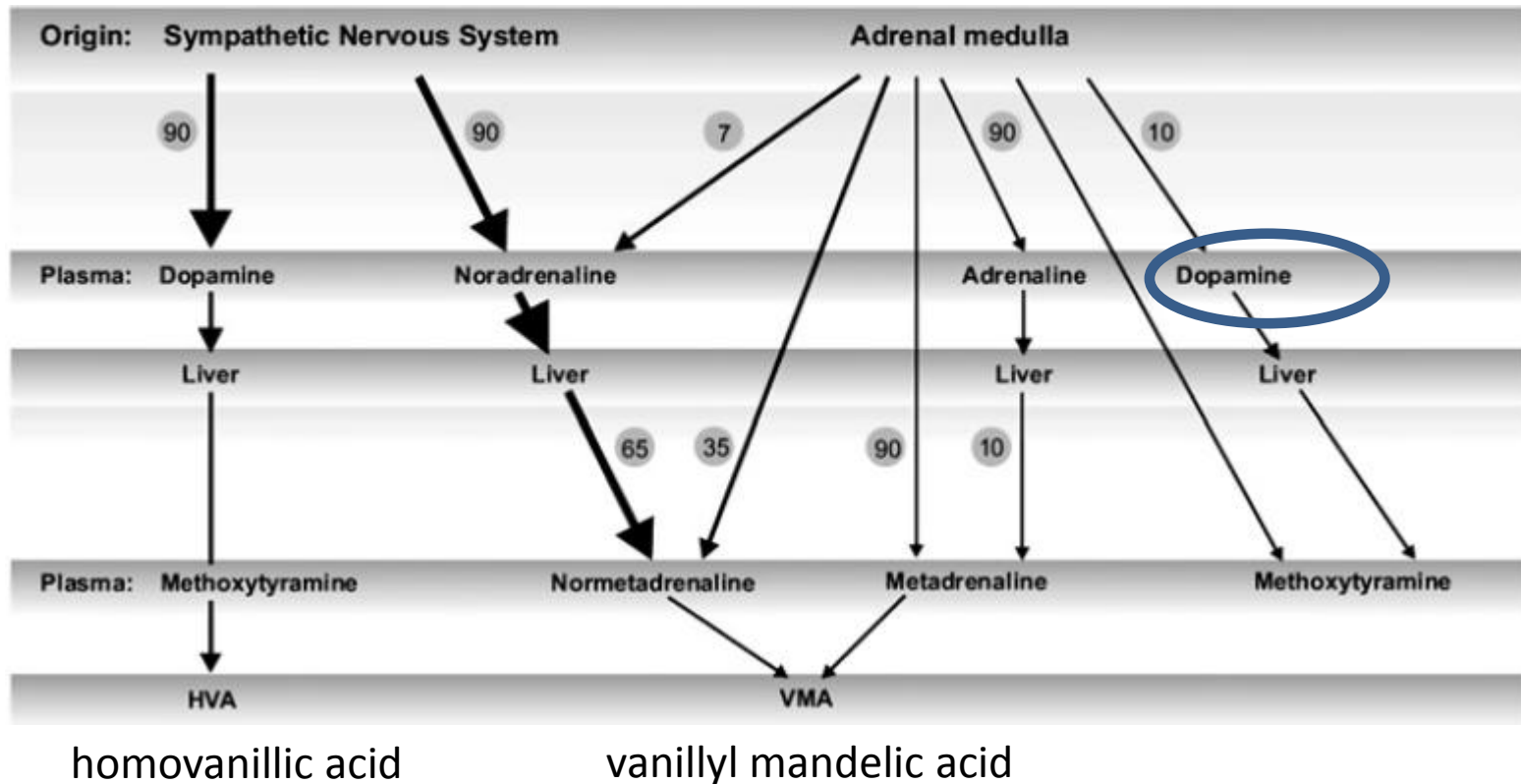
The metabolism of the catecholamines, with metabolites -% of the total

Origin of plasma catecholamines and metadrenalines -% of the total



The metabolism of the catecholamines, with metabolites -% of the total

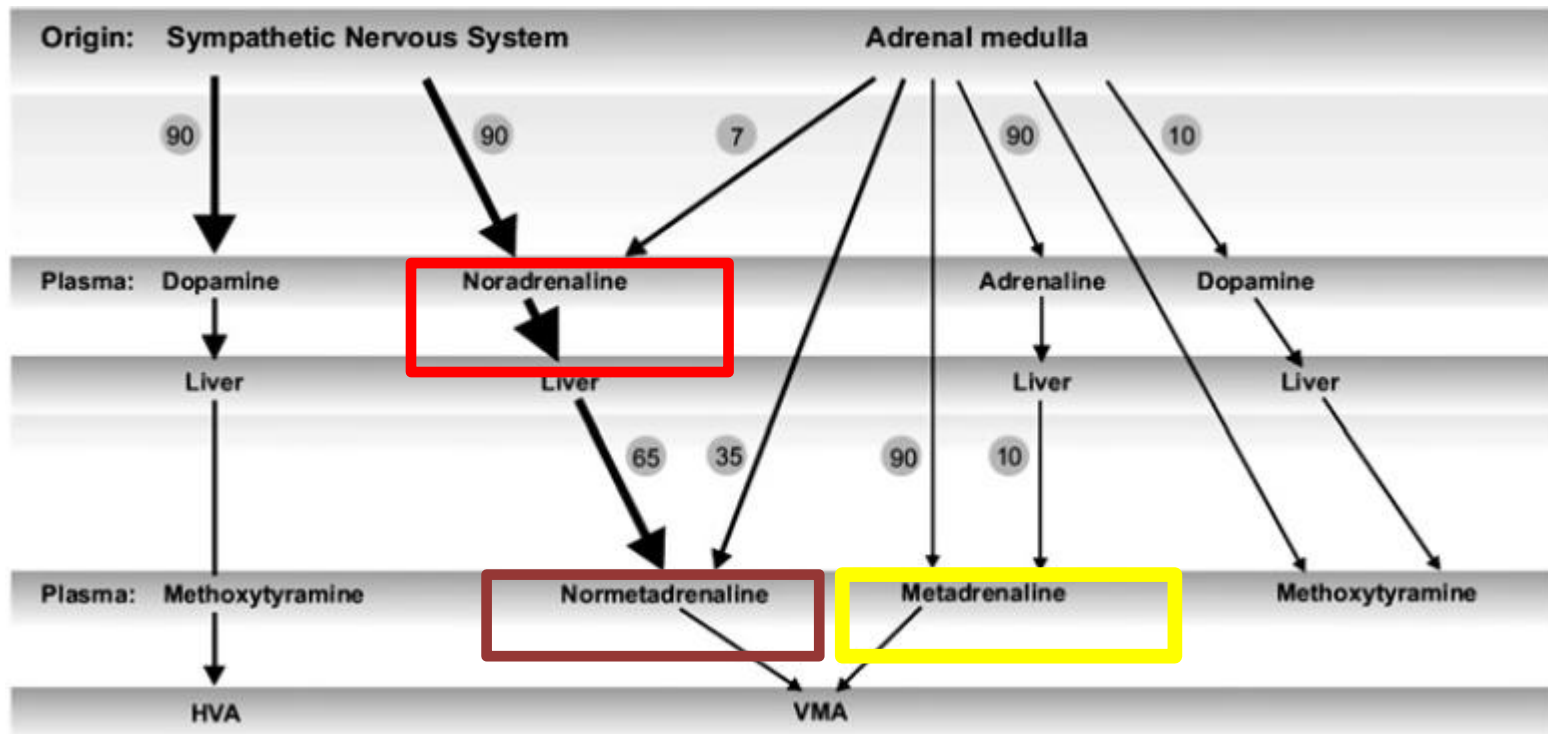
Origin of plasma catecholamines and metadrenalines -% of the total



The metabolism of the catecholamines, with metabolites -% of the total

Biochemically detectable phaeochromocytoma

- **Metnoradrenaline X 4**
- **Noradrenaline X 15**



Less fluctuations, RF

מה אפשר למדוד

- Catecholamines or Metanephrines
- Plasma or Urine
- Free or Total Metanephrines
- Total or Fractionated Metanephrines

Catecholamines or Metanephrines

- Catecholamines –urine vs plasma, very short plasma $t_{1/2}$, ~ 80s –adrenalin, 150s noradrenaline
- Urine free catecholamines= 24h production total filtered at the glomerulus **but** also renal tubular reabsorption
- -----
- Metanephrines- the catecholamine metabolites of COMT, -reduced interference from catecholamines from Sym. NS
- Metanephrines longer $t_{1/2}$
- Validity of metanephrines -demonstrated in several large case control studies and a meta-analysis ,including ROC curve evaluation

Plasma or Urine

- Both –high sensitivity for **metanephrines**
- Plasma - high sensitivity
- Plasma - convenience of sample collection
- Urine- greater specificity --- reduction in false positives.

- Guidelines accept either specimen

- Choice ; test threshold and analytical precision, patient preparation & sampling environment

Free or Total Metanephrines

- **In urine, total metanephrines** - preferred analyte :
 - Higher concentrations
 - The 24hour ; production of all metanephrines filtered at the glomerulus~ catecholamine production, Free urine metanephrine excretion has not yet been robustly
- **In urine, Free urine metanephrine** – not evaluated in clinical studies
- **In plasma**-function of production and clearance
- **In plasma- Free metanephrine** reflects production
- **In plasma- Total metanephrine** reflects production & clearance of conjugated metanephrine

In plasma- Free metanephrines or In urine total metanephrines are the currently recommended biochemical tests

Features of published methods for the determination of biogenic amines by tandem mass spectrometry

Analyte	Fluid/Volume	Clean-Up	LC Column	MRM Ion Pairs m/z	Imprecision Inter-assay CV	Internal Standards	Reference
Free catecholamines	Urine/0.3 mL	Liquid-liquid extraction (LLE)	Allure Basix 50 x 2 mm RT 3.5 min	9 ion pairs	4 to 7%	Deuterated	Kushnir et al. ⁶⁵
Total metanephrines	Urine/1 mL	SPE Oasis HLB	RP Amide C16 50 x 4.6 mm RT 3 min	180 to 148 183 to 151 166 to 134 169 to 137	6 to 9%	Tri-Deuterated	Taylor and Singh ⁶⁶
Free metanephrines	Plasma/1 mL	SPE Oasis HLB	Luna CN 150 x 4.6 mm RT 6 min	180 to 148 183 to 151 166 to 134 169 to 137	6 to 13%	Tri-deuterated	Lagerstedt et al. ⁵⁸
Free metanephrines	Plasma/0.5 mL	On-line SPE	Atlantis HILIC 50 x 2.1 mm RT 8 min	9 ion pairs	2 to 14%	Deuterated	De Jong et al. ⁶⁰
Combined catecholamines and metanephrines	Urine/0.5 mL	SPE Bond-Elut Plexa	Atlantis T3 150 x 2.1 mm RT 5 min	15 ion pairs	5 to 7%	Four deuterated, one 13C, 15N	Whiting ⁵⁶
HMMA (VMA)	Urine/0.6 mL	SPE Oasis HLB Automated	RP Amide C16 50 x 4.6 mm RT 3 min	197 to 137 200 to 140	2.5%	D3-VMA	Magera et al. ⁶⁷
HVA	Urine/1.2 mL	SPE Accu-Bond C18 Automated	RP Amide C16 50 x 4.6 mm RT 3 min	181 to 137 189 to 145	3 to 5%	13C-18O-HVA	Magera et al. ⁶⁸

Recommended conditions for biochemical testing

Patient preparation

Avoid sympathomimetic agents (including ephedrine, amphetamine, nicotine)

Avoid interfering medication (including labetalol, sotalol, acetaminophen, methyl dopa, antidepressants)

Overnight fast, no caffeinated or decaffeinated beverages

Conditions for blood sampling of metanephrines

Supine condition, after 30 min rest^a

Collection in heparinised tubes on ice

Storage of plasma in freezer at -20°C if measured within 3 months

Conditions for urine sampling of metanephrines

Collection in a container without additives or eventually only sodium bisulphate

Storage of urine container in a cold place

Acidify urine in the laboratory to pH 4 before storing

Table 1 Drug-induced physiological and analytical interference with catecholamines and metadrenalines

Interference	Urine						Plasma				Reference
	NA	A	D	MNA	MA	MT	NA	A	MNA	MA	
Physiological interference											
Alpha blocker	X										Eisenhofer <i>et al</i> (2003) ⁸
Beta blocker	X	X		X	X					X	Eisenhofer <i>et al</i> (2003) ⁸
Calcium channel blocker	X	X					X				Eisenhofer <i>et al</i> (2003) ⁸
Tricyclic antidepressant	X			X			X		X		Eisenhofer <i>et al</i> (2003) ⁸
Phenoxylbenzamine	X			X			X		X		Eisenhofer <i>et al</i> (2003) ⁸
MAOI, phenothiazines					X					X	Eisenhofer <i>et al</i> (2003) ⁸
Methylphenidate, amphetamines, ephedrine	X	X		X	X		X	X	X	X	Eisenhofer <i>et al</i> (2003) ⁸
Dopamine agonists			X			X					Davidson <i>et al</i> (2007) ⁵⁸
Analytical interference											
Buspirone					X						Cook <i>et al</i> (1995) ⁵⁹
Paracetamol	X	X		X	X				X	X	Brown and Grossman (2008) ⁴⁴ ;

A, adrenaline; D, dopamine; MA, metadrenaline; MNA, normetadrenaline; MT, methoxytyramine NA, noradrenaline.

איסוף דגימה

- Urine catecholamines are labile unless collected in acid,
- Urine metadrenalines are stable ~7days w/o acid
- Plasma metadrenalines are stable at 4⁰ C 3days & posted cooled.

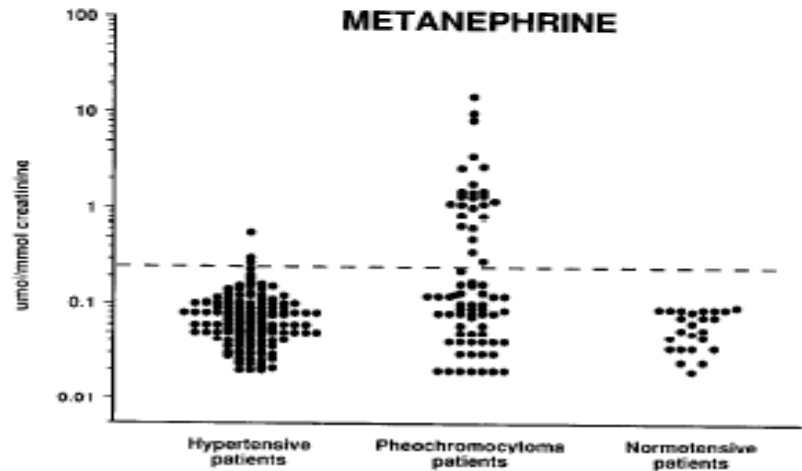
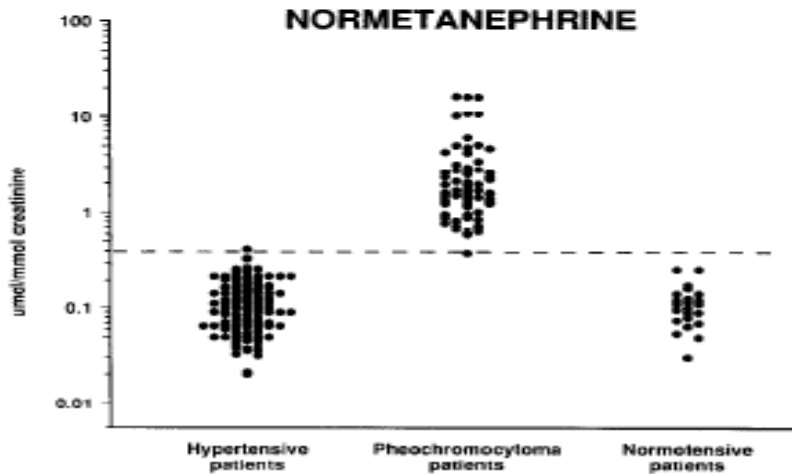
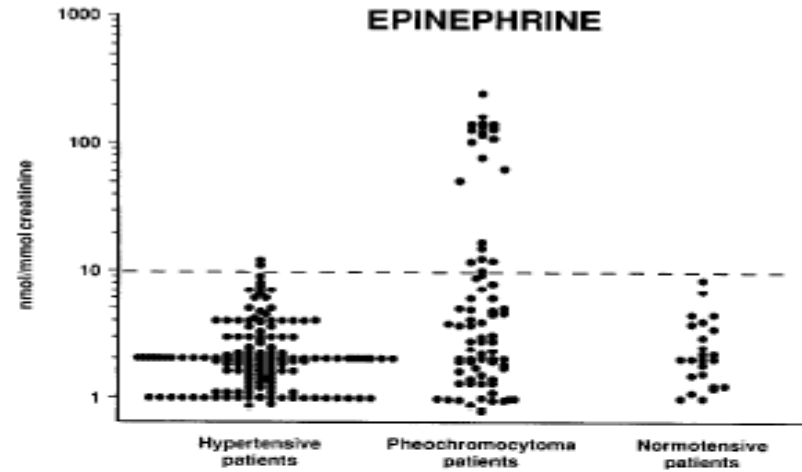
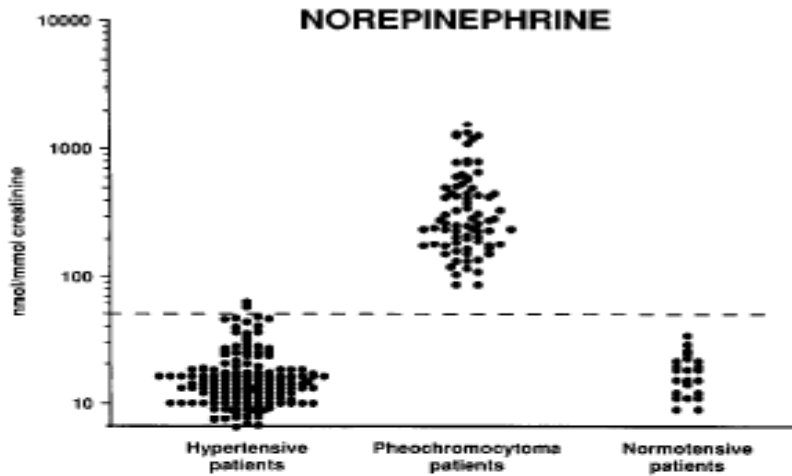
מדידת הפרשה בשתן

- Traditionally X 3d 24 h urine collections {intermittent secretion}.
- Adequate collection of 24 h urine is difficult to control.
- Express in terms of urine creatinine {Ucr- high variability~ muscle mass & urine flow rate}
- Catecholamine secretion is lower during decumbency and sleep.

איסוף דגימה מותאם לחולה

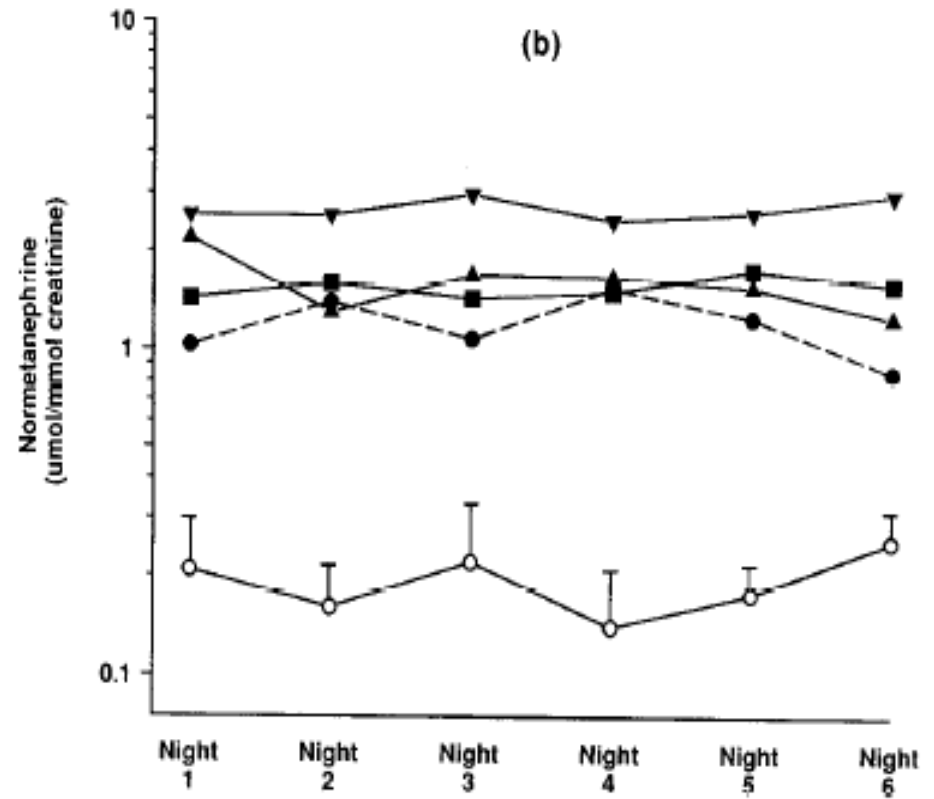
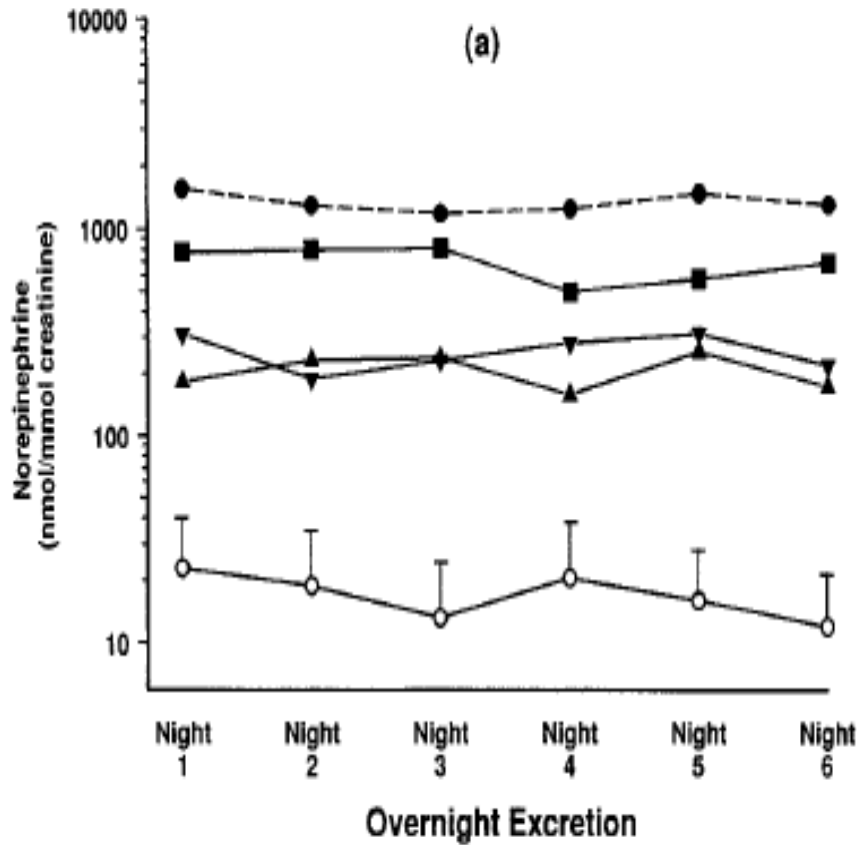
- **Diagnosis and localization of pheochromocytoma. Detection by measurement of urinary norepinephrine excretion during sleep, plasma norepinephrine concentration and computerized axial tomography (CT-scan).** [Ganguly A](#), [Henry DP](#), [Yune HY](#), [Pratt JH](#), [Grim CE](#), [Donohue JP](#), [Weinberger MH](#). [Am J Med](#). 1979
- **Overnight clonidine suppression test in the diagnosis and exclusion of pheochromocytoma.** [Macdougall IC](#)¹, [Isles CG](#), [Stewart H](#), [Inglis GC](#), [Finlayson J](#), [Thomson I](#), [Lees KR](#), [McMillan NC](#), [Morley P](#), [Ball SG](#). [Am J Med](#). 1988
- **Overnight excretion of urinary catecholamines and metabolites in the detection of pheochromocytoma.** [Peaston RT](#)¹, [Lennard TW](#), [Lai LC](#). [JCEM](#) 1996

Over night urinary catecholamines & metadrenalins



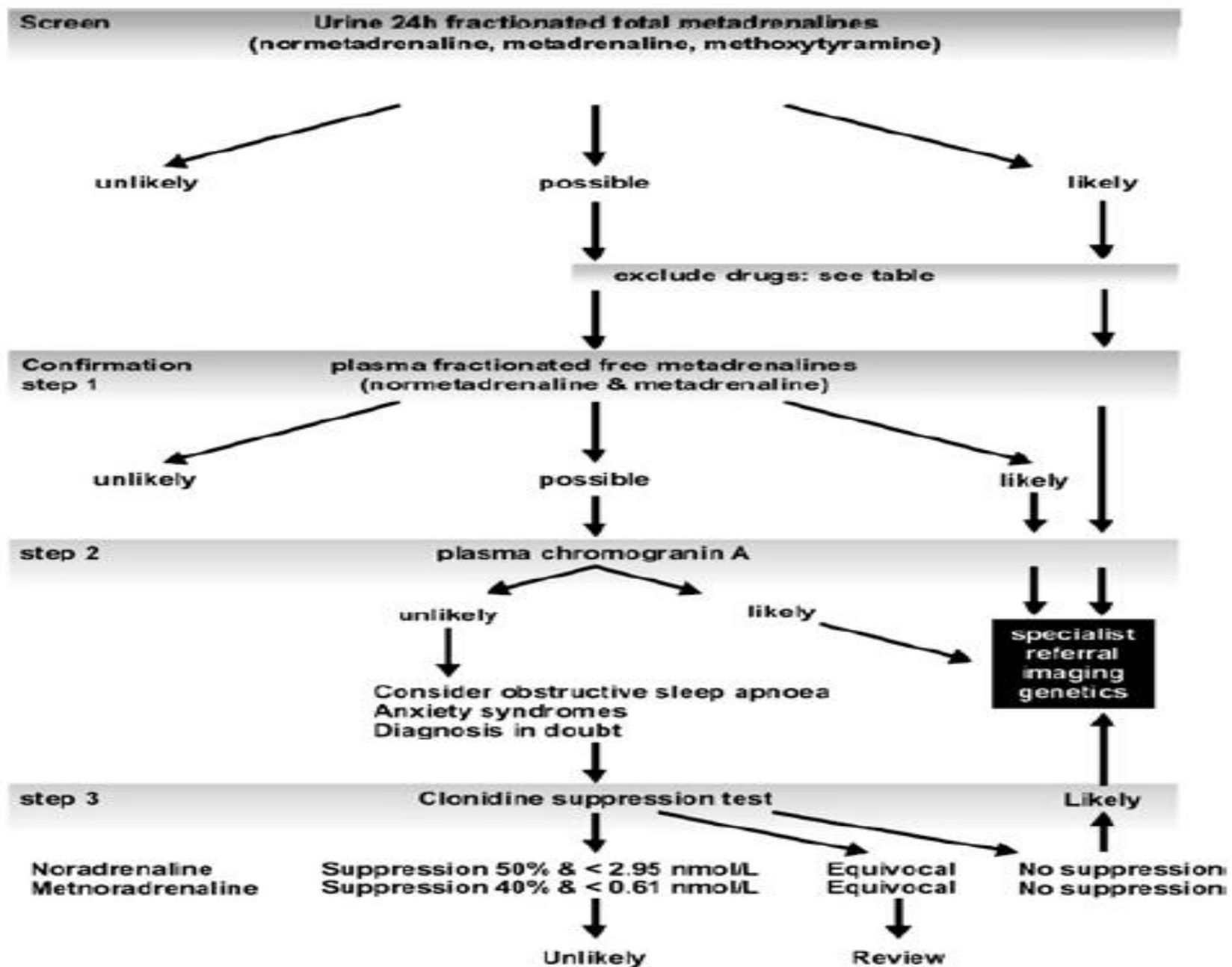
166-HTN, 16-PPGLs, 24-normal

הפרשה לילית של 4 - PPGLs ו-HTN-12

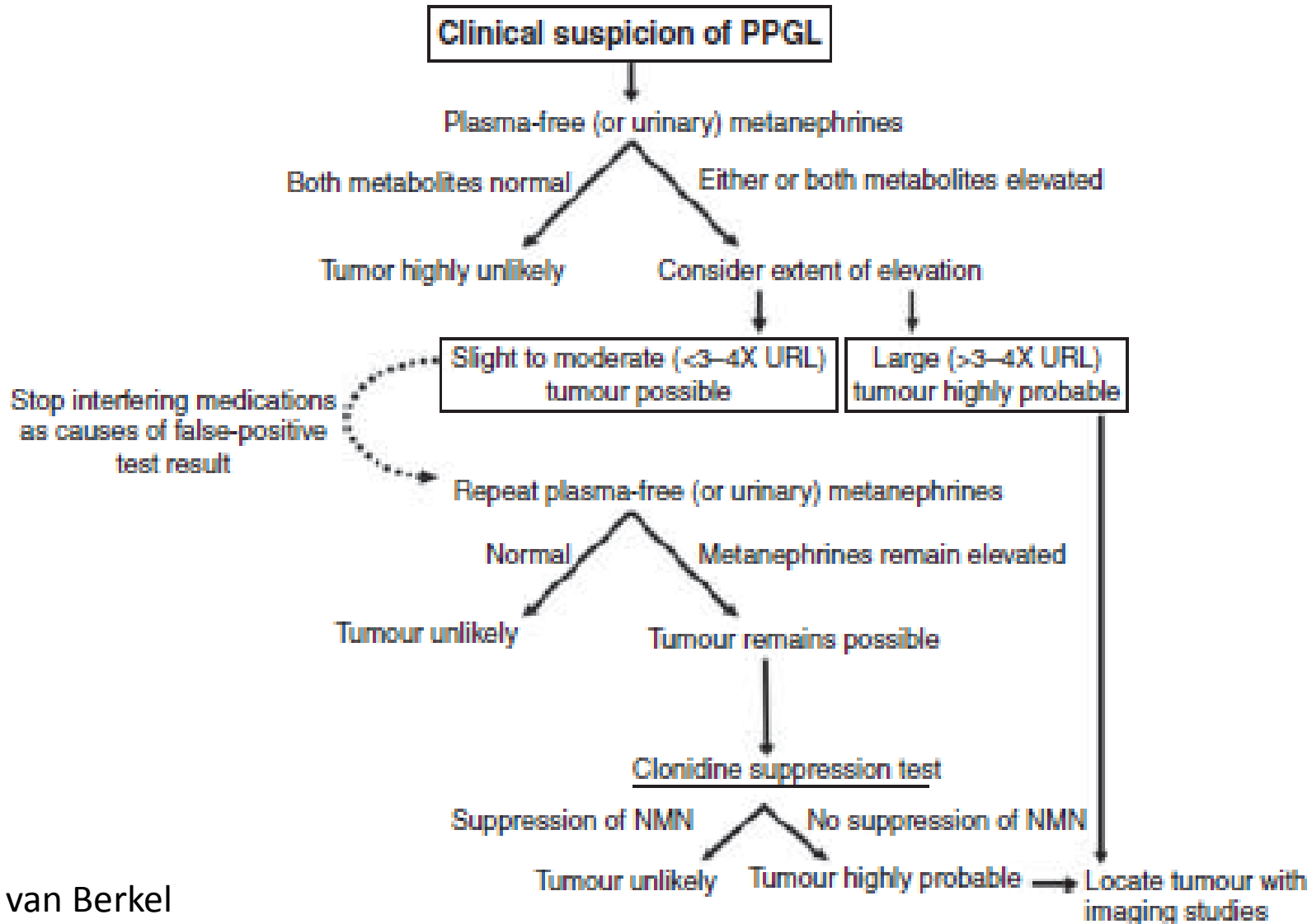


מה קורה בארץ

- רמב"ם- פרקציונציה של קט"א ושל סך מטנפרינים מחולק לקראטינין וסך יומי
- ON- אין מידע לאחר העבודה של פיטרסון
- תוצאות של 7 נבדקים: 2 פאוכרומציטומות בהלל- יפה טובות 1- לא נשא, 4 HTN.



Biochemical testing algorithm



An Approach to Biochemical Testing for Suspected Pheochromocytoma

- Pre-test probabilities of the presence of a pheochromocytoma: hereditary, incidentaloma, sporadic
- Plasma free fractionated metadrenalines as the first-line test : sensitivity 98% but specificity 77%
- Mind your lab assay!

בריאות טובה