

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Bepaling van metanefrinen

plasma of urine?

Helma de Jong
Klinisch Chemicus
10 december 2014

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Catecholamine-producerende tumoren (PPGL)

Bijniermergtumoren:

- 50% Noradrenaline (NA) en adrenaline (A)
- 50% Noradrenaline
- <1% Noradrenaline en dopamine
- MEN2A Adrenaline

Paragangliomen (thorax, abdomen, pelvis):

- Adrenaline
- Noradrenaline (meestal)
- Noradrenaline en dopamine
- Dopamine
- Geen productie

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Symptomen catecholamine overmaat

- Hypertensie
- Hoofdpijn
- Hartkloppingen
- Transpireren
- Angstaanvallen
- Hyperglycemie
- Buikpijn
- Gewichtsverlies

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Symptomen bij zeer hoge catecholamine levels

- Hypertensieve crisis
- Cerebrovasculair accident (CVA)
- Myocardinfarct
- Ritme stoornissen

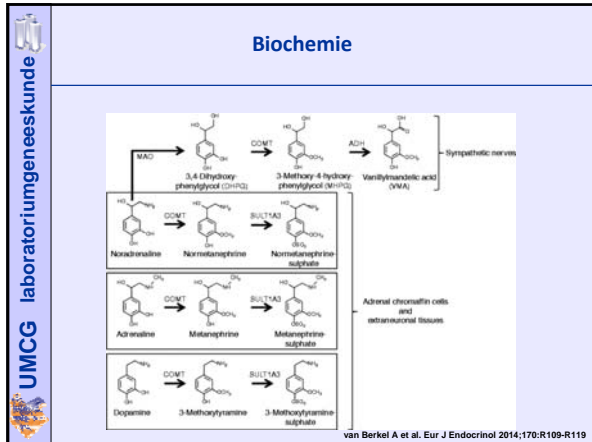
UMCG laboratoriumgeneeskunde

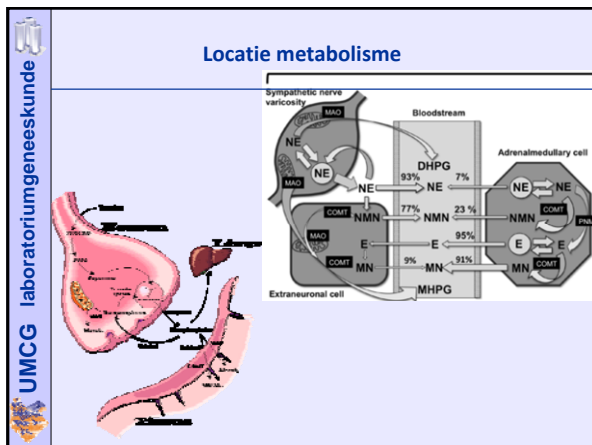
Biochemie

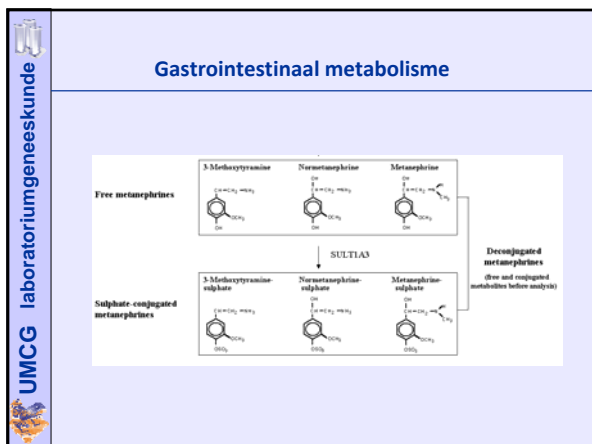
```

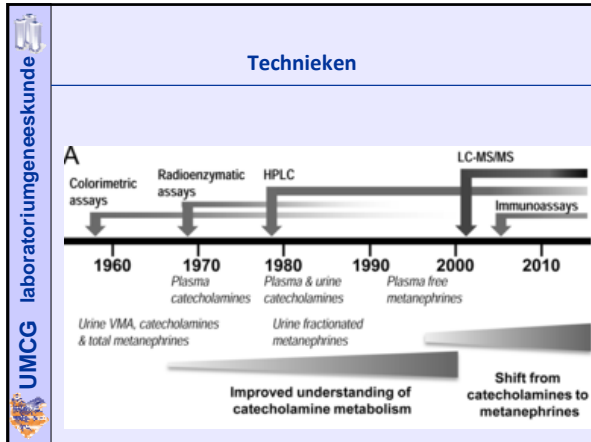
    graph TD
      Tyrosine -- Tyrosine hydroxylase --> DOPA
      DOPA -- AADC --> Dopamine
      Dopamine -- COMT --> 3-MT
      Dopamine -- Dopamine beta-hydroxylase --> Noradrenaline
      Noradrenaline -- COMT --> Normetanephrine
      Noradrenaline -- PNMT (Cortisol) --> Adrenaline
      Adrenaline -- COMT --> Metanephrine
  
```

UMCG laboratoriumgeneeskunde









- Plasma metanefrinen**
- Hogere sensitiviteit
 - COMT metabolisme **in tumor cellen**: constante afgifte aan bloed (lekken)
 - Onafhankelijk van sympathoadrenale catecholamine synthese
 - Correlatie met tumor grootte
 - Hogere specificiteit
 - Minder afhankelijk van omgevingsfactoren/pre-analyse
 - Stress
 - Dieet
 - Bloed afname procedure
 - Hoge stabiliteit

Plasma metanefrinen

Table 3. Sensitivities and Specificities of Biochemical Tests for Diagnosis of Hereditary and Sporadic Pheochromocytoma*

	Sensitivity, %†		Specificity, %‡	
	Hereditary	Sporadic	Hereditary	Sporadic
Plasma				
Free metanephrines	97 (74/76)	99 (137/138)	96 (326/339)	82 (249/305)
Catecholamines	69 (52/75)	92 (126/137)	89 (303/339)	72 (220/304)
Urine				
Fractionated metanephrines	96 (26/27)	97 (76/78)	82 (237/288)	45 (73/164)
Catecholamines	79 (54/68)	91 (97/107)	96 (312/324)	75 (159/211)
Total metanephrines	60 (27/45)	88 (61/69)	97 (91/94)	89 (79/89)
Vanillylmandelic acid	46 (30/65)	77 (66/86)	99 (310/312)	86 (132/153)

Lenders JW, Pacak K, Walther MM, Linehan WM, Mannelli M, Friberg P et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? JAMA 2002;287:1427-34.

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Immunoassays

<u>Voordelen</u>	<u>Nadelen</u>
<p>Technisch makkelijk</p> <p>Breed beschikbaar</p> <p>Toekomst random access?</p> <p>Analytisch sensitief</p>	<p>Niet juist (onderschatting)</p> <p>Geen interne standaard</p> <p>3-MT niet meetbaar</p> <p>Veel pipetteerstappen (Radioactief)</p> <p>Hoge imprecisie</p> <p>Cross reactiviteit</p> <p>Interferenties</p>

UMCG laboratoriumgeneeskunde

LC-MS/MS

<u>Voordelen</u>	<u>Nadelen</u>
<p>Juist</p> <p>Weinig analytische interferentie</p> <p>Simpele monstervoorbewerking</p> <p>Snel (batchgewijs)</p> <p>Precies</p>	<p>Dure apparatuur</p> <p>Getraind personeel</p>

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Urine metanefrinen

Totale (gedeconjugeerde) metanefrinen

- Invloed exogene factoren: verdunning signaal door sulfaatgeconjugeerde NMN in het maagdarmkanaal
- Beperking kwaliteitscontroles ivm hydrolyse
- HPLC, GC-MS, LC-MS/MS

Vrije metanefrinen urine?

- Nog niet genoeg bekend over sensitiviteit en specificiteit
- Lijkt logisch dat dit vergelijkbaar is met plasma vrije metanefrines

24 uren verzameling of portie?

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Pre-analyse

Factoren om rekening mee te houden bij interpretatie

- Dieet
- Medicatie
- Afnamehouding
- Stabiliteit
- Referentiewaarden

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Dieet: plasma metanefrinen

De Jong, 2010, J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(8)

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Dieet: urine metanefrinen

De Jong, 2010, J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(8)

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Medicatie

Fysiologische fout-positieve resultaten

- Neuronale catecholamine uptake remmers
 - Tricyclische antidepressiva
 - Gerelateerde antidepressiva
 - (Slaapproblemen, neurologische pijn)
- α 2-receptor blokkers (phenoxybenzamine)
- Sympathomimetica en stimulantia door toename van catecholamine afgifte
 - cafeïne
- β -blokkers
- Dopamine en noradrenaline

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Interferenties HPLC-ECD

- L-DOPA (dopamine precursor)
 - L-DOPA verhoogt 3-MT, NMN en MN op HPLC-ECD door analytische interferentie
- Paracetamol, mesalamine, sulfasalazine
 - plasma en urine
- Methenamine
 - urine (fout negatief)

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Interferenties LC-MS/MS

- Chromatografische scheiding van gelijksoortige componenten
- L-DOPA (dopamine precursor)
 - Verhoogt 3-MT via LC-MS/MS en NMN en MN minimaal

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Afnamehouding

- Zittend versus liggend
 - Gelijke sensitiviteit (goed voor uitsluiten, 100%)
 - Liggend mogelijk iets hogere specificiteit (minder fout-pos)
 - Echter nog steeds 95% B.I.!

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Afnamecondities

- Screening: zitten
 - Haalbaar, goedkoper, meestal negatief
- Toch verhoogd: herhalen liggend
 - Bij voorkeur met liggende referentiewaarden
 - Wanneer geen liggende refwaarden beschikbaar zijn:
Bij een feo hoogte metanefrinen niet houdingsafhankelijk
Daling waarden tov zittend sluit feochromocytoom uit

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Stabiliteit

EDTA-bloed

- Metabolisme bij kamertemperatuur in de buis zou kunnen doorgaan
 - Variabel (Clin Chem 2003;49(11):1951-3)
 - Zelf in 2006 (enkele monsters) niet gezien
 - Advies: snel koelen
 - In UMCG geen procedure ijs/spoedbode (bij referentiewaarden monsters ook niet)
- In de koelkast (6 uur) stabiel

Plasma

- Zeer stabiel in koelkast (zeker enkele dagen) en bij -20C
 - Clin Chem. 2007 Sep;53(9):1684-93.

Urine

- Niet aanzuren: geen risico op auto-oxidatie
- Overmatig aanzuren leidt tot deconjugatie (gevaar bij meten vrije fractie metanefrinen)

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Referentiewaarden

Vergelijk de patientenuitslag altijd met de goede referentiewaarden

- Zittend vs zitten
- Liggend vs liggend
 - Vooral voor NMN
- 3-MT: nuchter herhalen als verhoogd

Plasma: leeftijd

- Kinderen **lagere** waarden
- Ouderen hogere waarden

Urine

- Leeftijd:
 - Kinderen **hogere** waarden (door lage kreat)
- Geslacht:
 - Niet als genormaliseerd naar kreat waarde

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Seizoen

- Sympathische activiteit gaat omhoog bij kou
- Hogere NMN in de winter dan in de zomer

UMCG laboratoriumgeneeskunde

Managing fout-positieve resultaten

- Lage voorafkans door lage prevalentie!
- En specificiteit < 100%
- Dus: Altijd relatief veel fout-positieven (borderline)

Fout-positief, beoordeel

- Leeftijd patient
- Seizoen
- Medicatie
- Fysiologische stress (intensive care)

Helpt dit niet:
Herhaal liggend en kijk naar daling

Bronnen

Eisenhofer	Clin Chem	2014	60(12):1486-1499
Van Berkel	Eur J Endocrinol.	2014	170(3):R109-19
Pussard	Clin Chem Lab Med	2014	52:437- 44
Mullins	Clin Chem Lab Med	2011	50:105-10
Whiting	Ann Clin Biochem	2009	46:129-36
Davidson	Ann Clin Biochem	2002	39:557- 66
Willemssen	Clin Chem	2003	49(11) 1951-3
De Jong	J Clin Endocrinol Metab.	2009	94(8): 2841-9
De Jong	Clin Chem.	2007	53(9):1684-93
