

Volné plazmatické metanefriny a jejich využití v diagnostice feochromocytomu

Jan Václavík*, David Stejskal*., Bořek Lačňák*, Václav Hanák*,
Marie Lazárová*, Libor Jedelský**, Lenka Kadalová**, Marie Janošová**,
Zdeněk Fryšák***, Petr Vlček****

*Interní oddělení, **Oddělení laboratorní medicíny, Nemocnice Šternberk, Šternberk,
***III. interní klinika, Fakultní nemocnice Olomouc a Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc,
****Klinika nukleární medicíny a endokrinologie, Fakultní nemocnice Motol
a 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika

Václavík J*, Stejskal D*., Lačňák B*, Hanák V*, Lazárová M*, Jedelský L**, Kadalová I**, Janošová M**, Fryšák Z***, Vlček P**** (*Interní oddělení, **Oddělení laboratorní medicíny, Nemocnice Šternberk, Šternberk, ***III. interní klinika, Fakultní nemocnice Olomouc a Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc, ****Klinika nukleární medicíny a endokrinologie, Fakultní nemocnice Motol a 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika). **Volné plazmatické metanefriny a jejich využití v diagnostice feochromocytomu.** *Cor Vasa* 2006;48(11):384–387.

Úvod: Základním krokem v diagnostice feochromocytomu je biochemický průkaz nadprodukce katecholaminů nebo jejich metabolitů.

Metodika: Průřezová multicentrická studie zahrnující 1 234 probandů hodnotila diagnostickou validitu stanovení plazmatických metanefrinů u pacientů vyšetřovaných pro rezistentní či výrazně akcelerovanou hypertenzi, paroxysmální hypertenzi, „flushe“, incidentalom nadledviny nebo genetickou predispozici pro feochromocytom.

Výsledky: U 18 jedinců (1,5 %) byl zjištěn a histologicky verifikován feochromocytom, u zbývajících 1 216 jedinců nebyla dlouhodobým sledováním a zobrazovacími metodami diagnóza potvrzena. Plazmatický metanefrin měl senzitivitu 100%, specifitu 95%, plochu pod křivkou AUC ROC 0,99. U plazmatického normetanefrinu byla zjištěna senzitivita 94,4%, specifita 98,8%, plocha pod křivkou AUC ROC 0,99.

Závěr: Uspokojivá diagnostická validita plazmatických metanefrinů umožňuje podle našich i zahraničních zkušeností jejich využití jako jediného samostatného screeningového testu při podezření na feochromocytom.

Klíčová slova: Feochromocytom – Metanefrin – Normetanefrin – Hypertenze – Sekundární hypertenze

Václavík J*, Stejskal D*., Lačňák B*, Hanák V*, Lazárová M*, Jedelský L**, Kadalová I**, Janošová M**, Fryšák Z***, Vlček P**** (*Department of Medicine, **Department of Laboratory Medicine, Šternberk Hospital, Šternberk, ***Department of Medicine III, Olomouc University Hospital and Palacký University School of Medicine, Olomouc, ****Department of Nuclear Medicine and Endocrinology, Motol University Hospital and Charles University School of Medicine 2, Prague, Czech Republic). **Using free plasma metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma.** *Cor Vasa* 2006;48(11):384–387.

Introduction: The critical step in diagnosing pheochromocytoma is biochemical evidence of hyperproduction of catecholamines or their metabolites.

Methods: A cross-sectional multicenter study including 1,234 subjects assessed the diagnostic validity of determining plasma metanephrines in patients screened for resistant or markedly accelerated hypertension, paroxysmal hypertension, “flushes”, adrenal incidentaloma or genetic predisposition to pheochromocytoma.

Results: Pheochromocytoma was identified and verified by histology in 18 individuals (1.5%), with the diagnosis not confirmed by long-term follow-up and use of imaging techniques in the remaining 1,216 individuals. Plasma metanephrine levels showed a sensitivity of 100%, specificity of 95%, and ROC AUC of 0.99. The respective values with plasma normetanephrine levels were 94.4%, 98.8%, and 0.99.

Conclusion: Considering our and international experience, the satisfactory diagnostic validity of plasma metanephrines allows their utilization as a single screening test in cases of suspected pheochromocytoma.

Key words: Pheochromocytoma – Metanephrine – Normetanephrine – Hypertension – Secondary hypertension

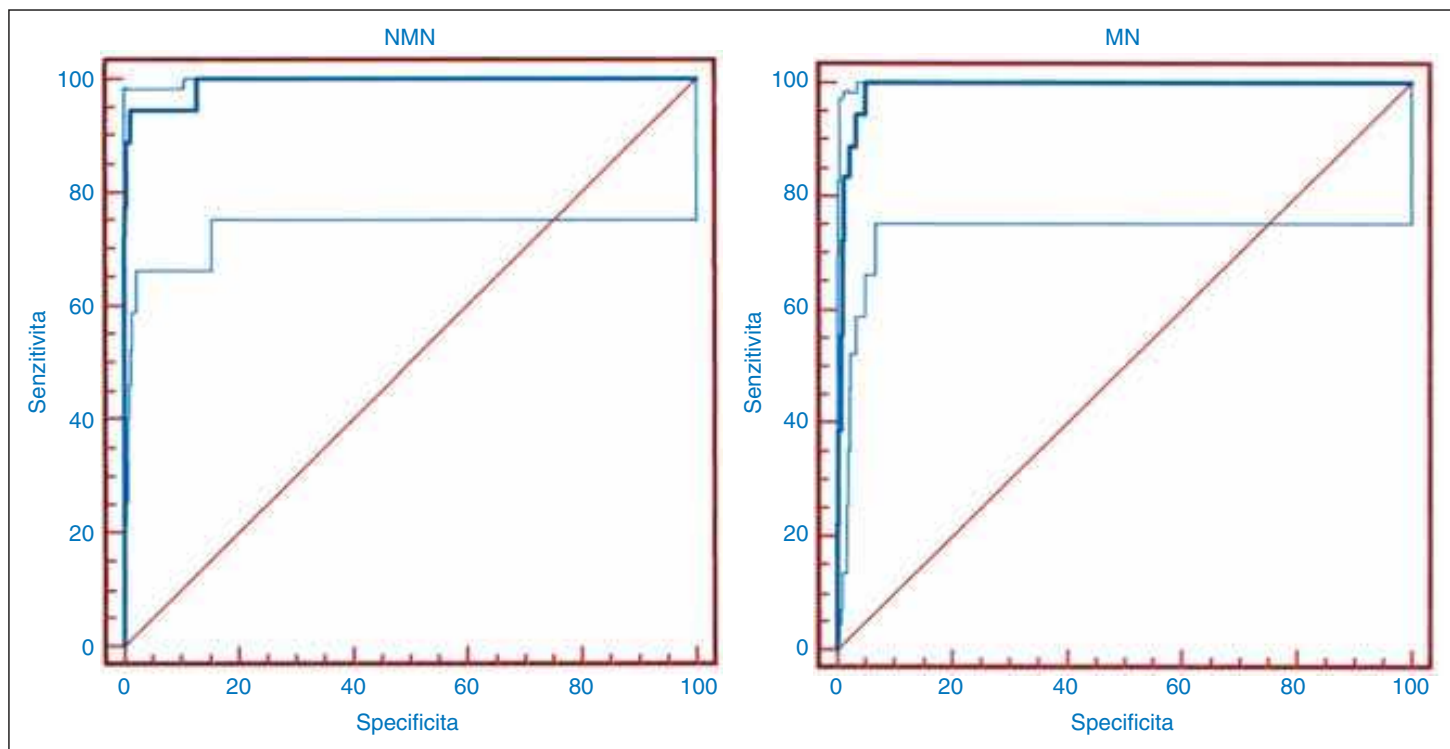
Adresa: MUDr. Jan Václavík, Interní oddělení, Nemocnice Šternberk, Jívavská 20, 785 16 Šternberk, Česká republika, e-mail: vaclavik.j@centrum.cz

ÚVOD

Fechochromocytomy jsou poměrně vzácné nádory produkující katecholaminy. Pokud nejsou včas diagnostikovány či zůstanou neléčeny, mohou mít devastující důsledky a končit až smrtí v důsledku maligní hypertenze, srdečního selhání, infarktu myokardu,

arytmií, cévní mozkové příhody nebo generalizace. Proto má zásadní význam včasná diagnostika, která je založena na biochemickém průkazu nadprodukce katecholaminů či jejich metabolitů v krvi a moči.^(1–7)

Výsledky zahraničních studií^(3,4) přinesly zprávy o vynikající diagnostické validitě stanovení metabolitů katecholaminů (metanefrinu a normetanefrinu,



Obr. 1 a 2 Plochy pod křivkou (AUC ROC – plná čára) pro normetanefrin (NMN) a metanefrin (MN)

dále metanefrinů) v diagnostice feochromocytomu. Cílem naší práce bylo ověřit diagnostickou validitu plazmatických metanefrinů u jedinců vyšetřovaných pro podezření na feochromocytom.

METODIKA

Do multicentrické průřezové studie bylo původně zahrnuto celkem 1 547 probandů, vyšetřených v období od 4. 9. 2002 do 26. 10. 2005 v Nemocnici Šternberk nebo na ostatních pracovištích v České republice pro rezistentní či výrazně akcelerovalou hypertenzi, paroxysmální hypertenzi, „flush“, incidentalom nadledviny nebo genetickou predispozici pro feochromocytom.

Pomocí metodiky HPLC-ECD („high performance liquid chromatography with electrochemical detection“ – detektor Coulochem II /ESA Biosciences, Inc.; Chelmsford, MA, USA/) byly u pacientů vyšetřeny metanefriny v plazmě.^(8–14) Krev byla odebírána po 30minutovém zklidnění na lůžku po předchozí kanylaci periferní žíly do zkumavky s EDTA, do 30 min stočena plazma v chlazené centrifuze (4 °C) a následně zmrazena při -80 °C. Postup byl na všech pracovištích prováděn podle standardního protokolu. Před provedením odběrů byla vysazována tricyklická antidepressiva a redukovány vysoké dávky betablokátorů a byla vyžadována absence kofeinu minimálně 12 hodin. Pacienti nedrželi žádnou speciální dietu.

Klinické údaje byly získávány z databází dispenzarizujících lékařů. Za „feochromocytom pozitivní“ byli považováni jedinci s tumorem nadledviny či extra-renálním tumorem (prokázaným počítačovou tomografií /CT/, magnetickou rezonancí /MR/ nebo scintigrafií s metajodbenzylguanidinem – MIBG-I¹²³ nebo MIBG-I¹³¹), u kterých byla diagnóza feochromocytomu potvrzena histologicky po operaci. Za „feochromocytom negativní“ pak byli považováni jedinci bez tumoru nadledviny (negativní sonografie, CT nadled-

vin, MR nebo scintigrafie) a bez klinických příznaků během dlouhodobého sledování nebo pacienti s adrenálním tumorem, který nebyl histologicky zhodnocen jako feochromocytom.

Údaje byly statisticky zpracovány pomocí software Medcalc, k porovnání výsledků mezi skupinami (feochromocytom pozitivní/negativní) byly použity Kruskalův-Wallisův test, analýza ROC, χ^2 test a Kolmogorovův-Smirnovův test. Za statisticky významnou byla považována hodnota $p < 0,05$.

VÝSLEDKY

Z celkového počtu 1 547 probandů (jejichž vzorky byly laboratorně vyšetřeny) se podařilo získat jednoznačné klinické údaje potvrzující či vylučující feochromocytom u 1 234 jedinců, kteří byli zahrnuti do statistické analýzy. Zbývajících 313 jedinců bylo pro nedostatek údajů ze studie vyloučeno.

Průměrný věk pacientů zahrnutých do analýzy byl 56 ± 16 let, z toho bylo 710 žen (58 %) a 524 mužů (42 %). Průměrný systolický tlak byl 150 ± 33 mm Hg, průměrný diastolický tlak 90 ± 15 mm Hg. Celkem 33 jedinců (2,7 %) bylo vyšetřeno pro hereditární predispozici k feochromocytomu, u ostatních 97,3 % nebyla hereditární predispozice k feochromocytomu známa.

Z 1 234 probandů byl feochromocytom prokázán u 18 (1,5 %). U zbylých 1 216 jedinců nebyla diagnóza feochromocytomu potvrzena. Z celkového počtu 18 jedinců s prokázaným feochromocytomem byla u dvou (11,1 %) před testováním známa hereditární predispozice.

Při testování měřených parametrů metodou operační křivky byly zjištěny tyto hodnoty: plazmatický metanefrin měl senzitivitu 100%, specifitu 95% (plocha pod operační křivkou – AUC ROC byla 0,99); plazmatický normetanefrin měl senzitivitu 94,4%, specifitu 98,8% (AUC ROC 0,99). Vypočtené plochy pod křivkou pro normetanefrin a metanefrin jsou vyobrazeny na *obrázcích 1 a 2*.

DISKUSE

Naše práce potvrzuje velmi dobrou diagnostickou senzitivitu a specifitu volných plazmatických metanefrinů. Výsledky jsou ve shodě s výsledky obdobných zahraničních studií, ve kterých měly volné plazmatické metanefriny v diagnostice feochromocytomu nejvyšší diagnostickou validitu se senzitivitou kolem 99 % (různé studie udávají senzitivitu v rozmezí 96–100 % a specifitu mezi 85–100 %).^(2–5,15)

Hlavní příčinou lepší diagnostické výtěžnosti metanefrinů oproti katecholaminům je odlišný metabolismus ve fyziologických tkáních (např. sympatiku) v porovnání s tkání feochromocytomu. Ve tkáni sympatiku jsou katecholaminy metabolizovány enzymem MAO (monoaminoxidáza) a jejím působením vzniká cestou DHPG (3,4-dihydroxyfenylglykol) a MHPG (3-metoxi-4-hydroxyfenylglykol) zejména kyselina vanilmandlová (VMA). Naproti tomu ve tkáni feochromocytomu se uplatňuje enzym COMT (katechol-O-metyltransferáza), který přeměňuje adrenalin a noradrenalin difundující ze zásobních vezikul do cytoplazmy na metanefrin a normetanefrin; ty se následně uvolňují do cirkulace.^(16,17)

Katecholaminy jsou tedy produkovány i fyziologicky v nenádorových tkáních; navíc některé feochromocytomy vylučují katecholaminy pouze epizodicky nebo jsou tzv. „němé“ a neprodukují katecholaminy v dostatečném množství, aby způsobily klinické příznaky či významné zvýšení katecholaminů v plazmě či moči.^(1,2,16,17)

Metabolity adrenalinu a noradrenalinu – metanefrin a normetanefrin – naopak vznikají téměř výhradně (v 93–94 %) v tumorózní tkáni feochromocytomu. K jejich produkci a vylučování do oběhu dochází trvale a nepřetržitě a také nezávisle na uvolňování katecholaminů ze zásobních vezikul do oběhu.^(1,2,16,17) To je příčinou vyšší diagnostické validity metanefrinů v diagnostice feochromocytomu.

Další výhodou použití plazmatických metanefrinů je snazší získání materiálu k vyšetření. Před odběry není zapotřebí dodržovat speciální režimová opatření či diety ani složitým způsobem sbírat moč. Ke stanovení metanefrinů postačuje odběr krve po několika minutovém (30 min) zklidnění vleže po předchozí kanylaci periferní žíly a výsledky nebývají obvykle zkresleny předchozím příjmem potravy (mimo kofeinu) ani podávanou léčbou (s výjimkou tricyklických antidepresiv, fenoxibenzaminu a zřejmě i vysokých dávek betablokátorů, které by měly být u pacientů vysazeny). Toto vyšetření lze provést i ambulantně, což přináší nemalé finanční úspory.^(18–20)

Plazmatické metanefriny mají velmi vysokou senzitivitu a proto se hodí k použití jako první screeningové vyšetření při podezření na feochromocytom. Jejich negativní výsledek totiž s velmi vysokou pravděpodobností svědčí proti přítomnosti feochromocytomu; v přítomnosti negativního výsledku není podle našich zkušeností i literatury již zapotřebí provádět další laboratorní ani zobrazovací vyšetření.^(2–5,15)

Problémem zůstává výskyt falešně pozitivních výsledků plazmatických metanefrinů, kterých bývá v literatuře popisováno až 15 %.^(2,19) V poslední době se nám v praxi osvědčuje korekce výsledků metanefrinů na věk⁽²¹⁾ a při výsledcích v „šedé zóně“ (meta-

nefrin 61–236 ng/l, normetanefrin 112–400 ng/l) se provádí na našem pracovišti klonidinový test se stanovením normetanefrinu a výpočet indexů normetanefrin/noradrenalin a metanefrin/adrenalin.^(2,19) Tyto postupy dokážou odhalit většinu falešně pozitivních výsledků. Při velmi vysoké elevaci plazmatických metanefrinů nad hranici „šedé zóny“ nebo při pozitivním klonidinovém testu provádíme zobrazovací vyšetření (CT, MR) a případně scintigrafii nadledvin pomocí MIBG k lokalizaci feochromocytomu.

V případech nedostupnosti stanovení volných plazmatických metanefrinů je možnou alternativou stanovení frakcionovaných močových metanefrinů, které podle našich i zahraničních zkušeností mají rovněž vysokou senzitivitu, i když ve srovnání s plazmatickými metanefriny o něco nižší specifitu.^(2,22) Ve světovém písemnictví bývá vyšetření frakcionovaných močových metanefrinů někdy označováno jako metoda druhé volby.⁽²³⁾

Naproti tomu vyšetření celkových močových metanefrinů je považováno za metodu nevyhovující vzhledem k jejich nízké senzitivitě.^(2,22)

Metoda stanovení volných plazmatických metanefrinů je ve světě považována za metodu rutinní. V České republice zatím není příliš rozšířená, ale v našem a několika dalších regionech se tato metoda postupně začíná v diagnostice feochromocytomu a sekundární hypertenze rutinně využívat.

ZÁVĚR

Diagnostická senzitivita a specifita stanovení volných plazmatických metanefrinů je uspokojivá. Toto vyšetření je možno na základě mezinárodních doporučení i našich zkušeností použít při podezření na feochromocytom jako jediný a samostatný screeningový test. Negativní výsledek testu s velmi vysokou pravděpodobností vylučuje feochromocytom, hraniční nebo pozitivní výsledek vyžaduje provedení dalších laboratorních a zejména zobrazovacích vyšetření.

LITERATURA

1. Pacak K, Keiser H, Eisenhofer G. Pheochromocytoma. In: De Groot LS, Jameson JL (eds.). Textbook of Endocrinology. 5th ed. Philadelphia: Elsevier, 2004.
2. Lenders JW, Eisenhofer G, Mannelli M, Pacak K. Pheochromocytoma. Lancet 2005;366:665–75.
3. Lenders JW, Pacak K, Walther MM, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? JAMA 2002;287:1427–34.
4. Eisenhofer G, Lenders JW, Pacak K. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma. Front Horm Res 2004; 31:76–106.
5. Pacak K, Linehan WM, Eisenhofer G, Wather MM, Goldstein DS. Recent advances in genetics, diagnosis, localization, and treatment of pheochromocytoma. Ann Intern Med 2001;134:315–29.
6. Dluhy RG. Pheochromocytoma – Death of an Axiom. New Engl J Med 2002;346:1486–8.
7. Brouwers FM, Lenders JW, Eisenhofer G, et al. Pheochromocytoma as an endocrine emergency. Rev Endocr Metab Disord 2003;4:121–8.
8. van der Hoorn FA, Boomsma F, Man in't Veld AJ, et al. Determination of catecholamines in human plasma by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr 1989;487:17–28.

9. Lenders JW, Eisenhofer G, Armando I, et al. Determination of plasma metanephrines by liquid chromatography with electrochemical detection. *Clin Chem* 1993;39:97–103.
10. Pissano JJ, Crout R, Abraham D. Determination of 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid in urine. *Clin Chem Acta* 1962;7:285–9.
11. Pissano JJ. A simple analysis of normetanephrine and metanephrine in urine. *Clin Chem Acta* 1960;5:406–14.
12. Pallant A, Mathian B, Prost L, Theodore C, Patricot M-C. Determination of plasma methoxyamines. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:513–7.
13. Roden M, Raffesberg WR, Bernroider E, Niederle B, Waldhäusl W, Gasic S. Quantification of unconjugated metanephrines in human plasma without interference by acetaminophen. *Clin Chem* 2001;47:1061–7.
14. Lagerstedt SA, O'Kane DJ, Singh RJ. Measurement of plasma free metanephrine and normetanephrine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry for diagnosis of pheochromocytoma. *Clin Chem* 2004;50:603–11.
15. Sawka AM, Prebtani AP, Thabane L, et al. A systematic review of the literature examining the diagnostic efficacy of measurement of fractionated plasma free metanephrines in the biochemical diagnosis of pheochromocytoma. *BMC Endocr Disord* 2004;4:2.
16. Eisenhofer G, Keiser H, Friberg P, et al. Plasma metanephrines are markers of pheochromocytoma produced by catechol-O-methyltransferase within tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2175–85.
17. Eisenhofer G, Huynh TT, Hiroi M, Pacak K. Understanding catecholamine metabolism as a guide to the biochemical diagnosis of pheochromocytoma. *Rev Endocrinol Metab Dis* 2001;2:297–311.
18. Eisenhofer G, Walther M, Keiser HR, et al. Plasma metanephrines: a novel and cost-effective test for pheochromocytoma. *Brazil J Med Biol Research* 2000;33:1157–69.
19. Eisenhofer G, Goldstein DS, McClellan MW, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: how to distinguish true- from false-positive test results. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2656–66.
20. Sawka AM, Gafni A, Thanabe L, et al. The economic implications of three biochemical screening algorithms for pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2859–66.
21. Sawka AM, Thabane L, Gafni A, Levine M, Youg WF. Measurement of fractionated plasma metanephrines for exclusion of pheochromocytoma: Can specificity be improved by adjustment for age? *Br Med Clin Endocr Disord* 2005;5:1.
22. Eisenhofer G. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma – is it time to switch to plasma free metanephrines? *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:550–2.
23. Ilias I, Pacak K. Diagnosis and management of tumors of the adrenal medulla. *Horm Metab Res* 2005;37:717–21.

Došlo do redakce 8. 2. 2005

Přijato po úpravách 18. 8. 2006