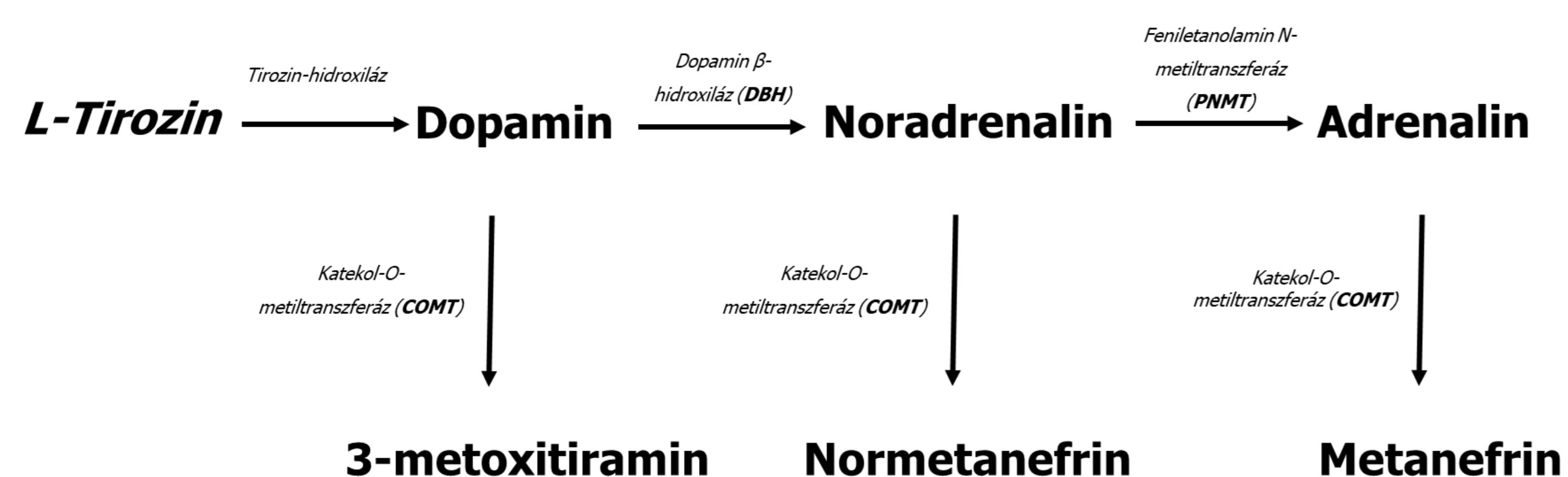


Bevezetés

Az elmúlt években a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfok (HPLC) tömegspektrométerrel történő kapcsolásával alkotott mérőrendszerek a laboratóriumi diagnosztikában új korszakot hoztak el. Az egyik kiemelt terület az endogén katekolaminok és metabolitjaik mérése.

A katekolaminok (epinefrin, norepinefrin és dopamin) neuroendokrin hatásokkal rendelkező biogén aminok (**1. ábra**). Kromaffin-sejtes daganatokban, így feokromocitómában, valamint neuroblasztómában, paragangliómában a katekolaminok és a metabolitok termelése jelentősen fokozódik. A katekolaminok szisztémás keringésbe kerülő mennyiségének impulzusszerű kiugrása súlyos, akár életet veszélyeztető szív- és érrendszeri terheléshez vezet.

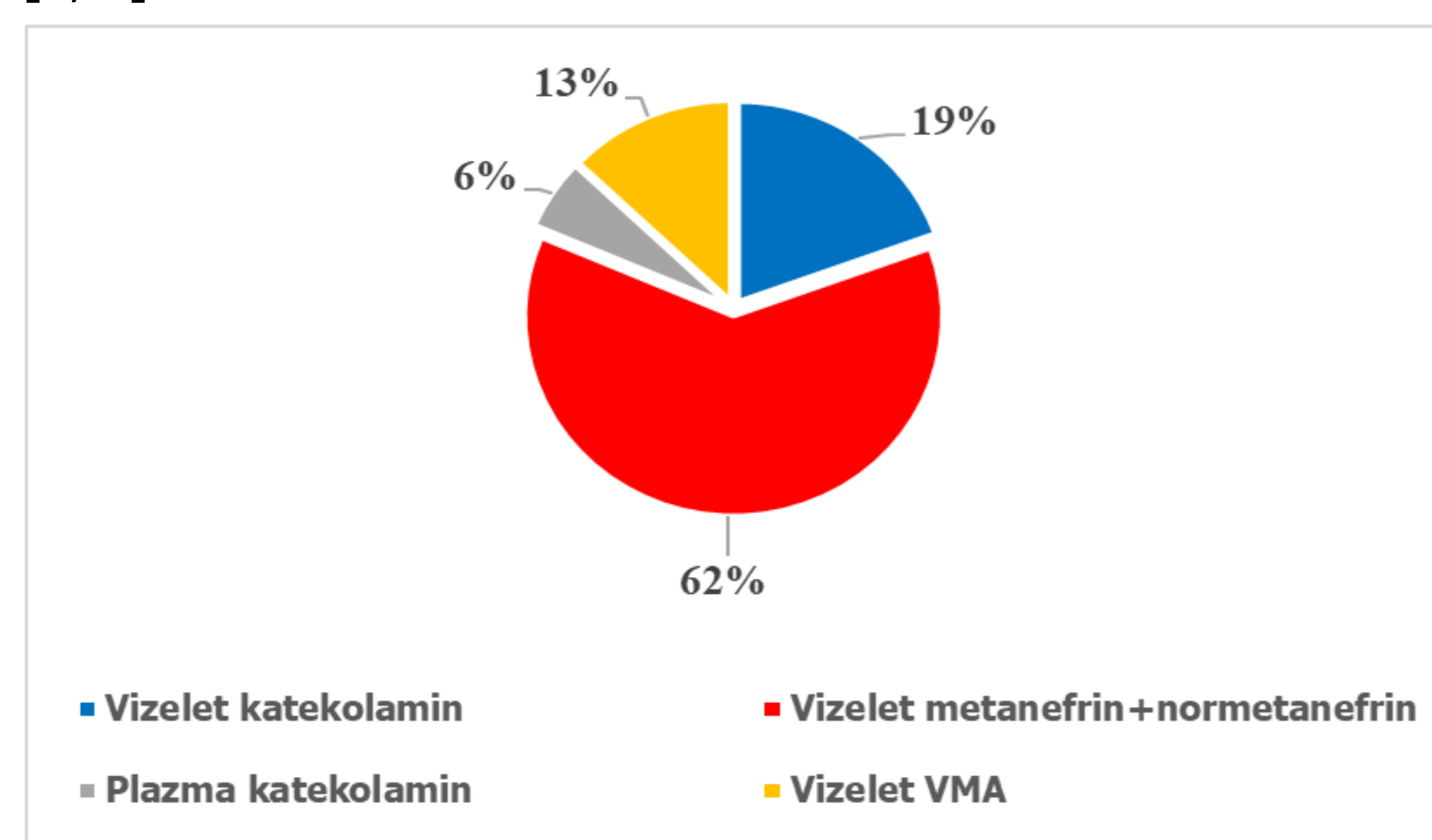


1. ábra Katekolaminok képződése és metabolizmusa a mellékvesevelőben [1]

A legmagasabb érzékenység és specifikusság a metanefrin és a normetanefrin egymás mellett, plazmában történő meghatározására jellemző (**1. táblázat**). Egyértelmű diagnózis megállapításához két eltérő vizsgálat elvégzése javasolt, legalább két-két alkalommal [2]. A hatályos nemzetközi irányelvek szerint első vizsgálatként a **plazma szabad metanefrin + normetanefrin**, míg megerősítő vizsgálatként a **vizelet frakcionált (szabad és konjugált) metanefrin + normetanefrin** teszt elvégzése javasolt [3, 4].

1. táblázat Az endogén katekolamin metabolom prediktív mutatói

Analit	Forma	Mátrix	Specifikusság (%)	Érzékenység (%)
Dopamin	szabad	24 órás vizelet	99-100	7-8
Epinefrin	szabad	24 órás vizelet	100	29-72
Epinefrin és norepinefrin	szabad	plazma	81-100	76-84
Epinefrin és norepinefrin	szabad	24 órás vizelet	88-100	71-93
metanefrin	szabad	plazma	96	46
metanefrin és normetanefrin	szabad	24 órás vizelet	100	94
metanefrin és normetanefrin	szabad	plazma	85-100	96-100
metanefrin és normetanefrin	szabad+konjugált	24 órás vizelet	98-100	71-94
norepinefrin	szabad	24 órás vizelet	100	50-61
normetanefrin	szabad	plazma	87	92
vanilmandulav	szabad	24 órás vizelet	95-96	60-72



2. ábra Laboratóriumunk vizsgálatkéréseinek megoszlása 2018-ban (n=775)

2. táblázat A vizelet metanefrin+normetanefrin, illetve a plazma metanefrin+normetanefrin vizsgálatok előnyei és hátrányai

	Előnyök	Hátrányok
Vizelet metanefrinek vizsgálata HPLC-vel	nagy mintamennyiség	a beteg együttműködése kulcsfontosságú, a savanyításhoz adott sósav az üvegből kifolyva sérülést okozhat, hosszadalmas manuális minta-előkészítés
Plazma metanefrinek vizsgálata HPLC-MS/MS-sel	kevésbé függ a beteg pillanatnyi állapotától, automatizálható minta-előkészítés, gyors mérés és kiértékelés, kisebb leletátfordulási idő	korlátozottabb mintamennyiség, alacsony koncentrációk, preanalitikai tényezőkre érzékenyebb

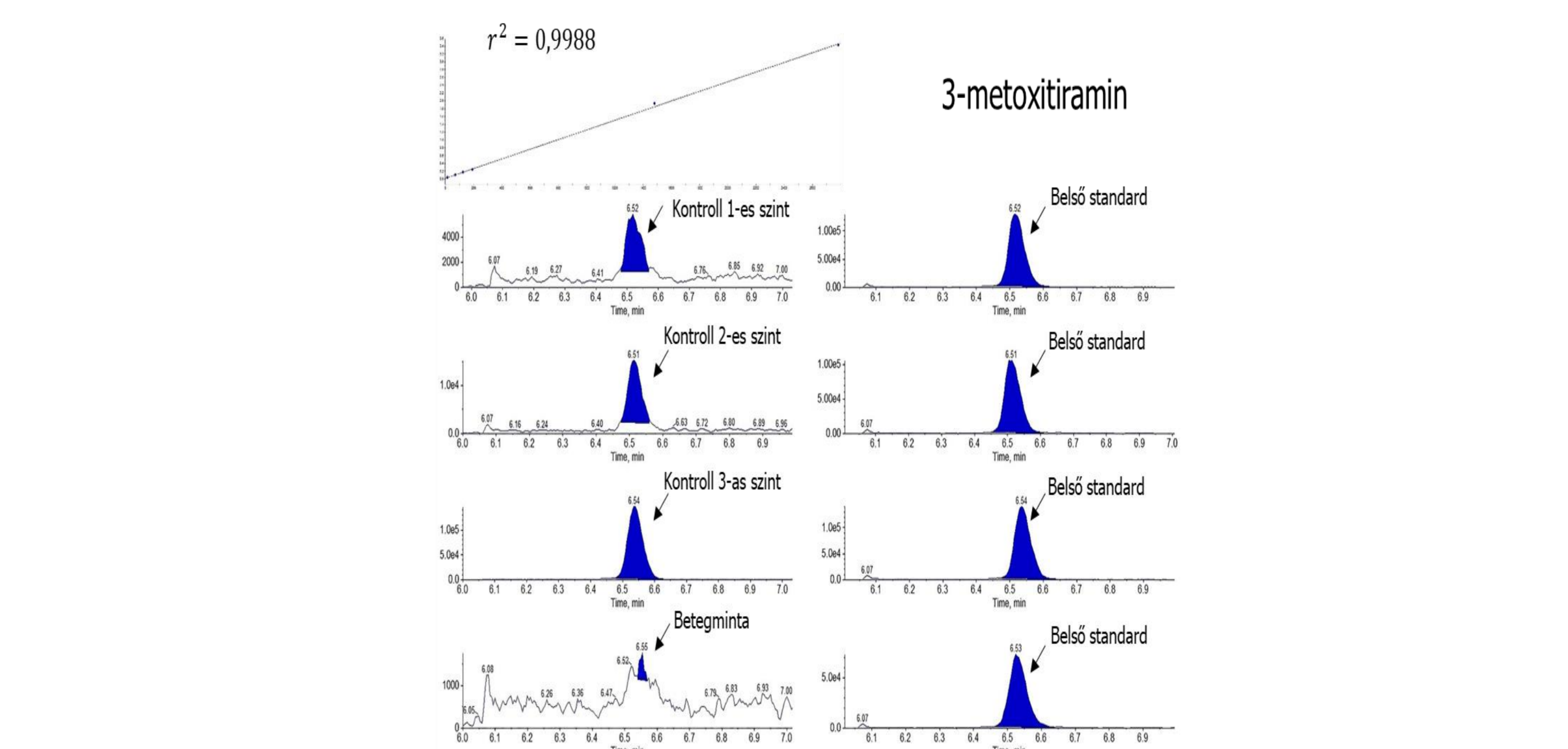
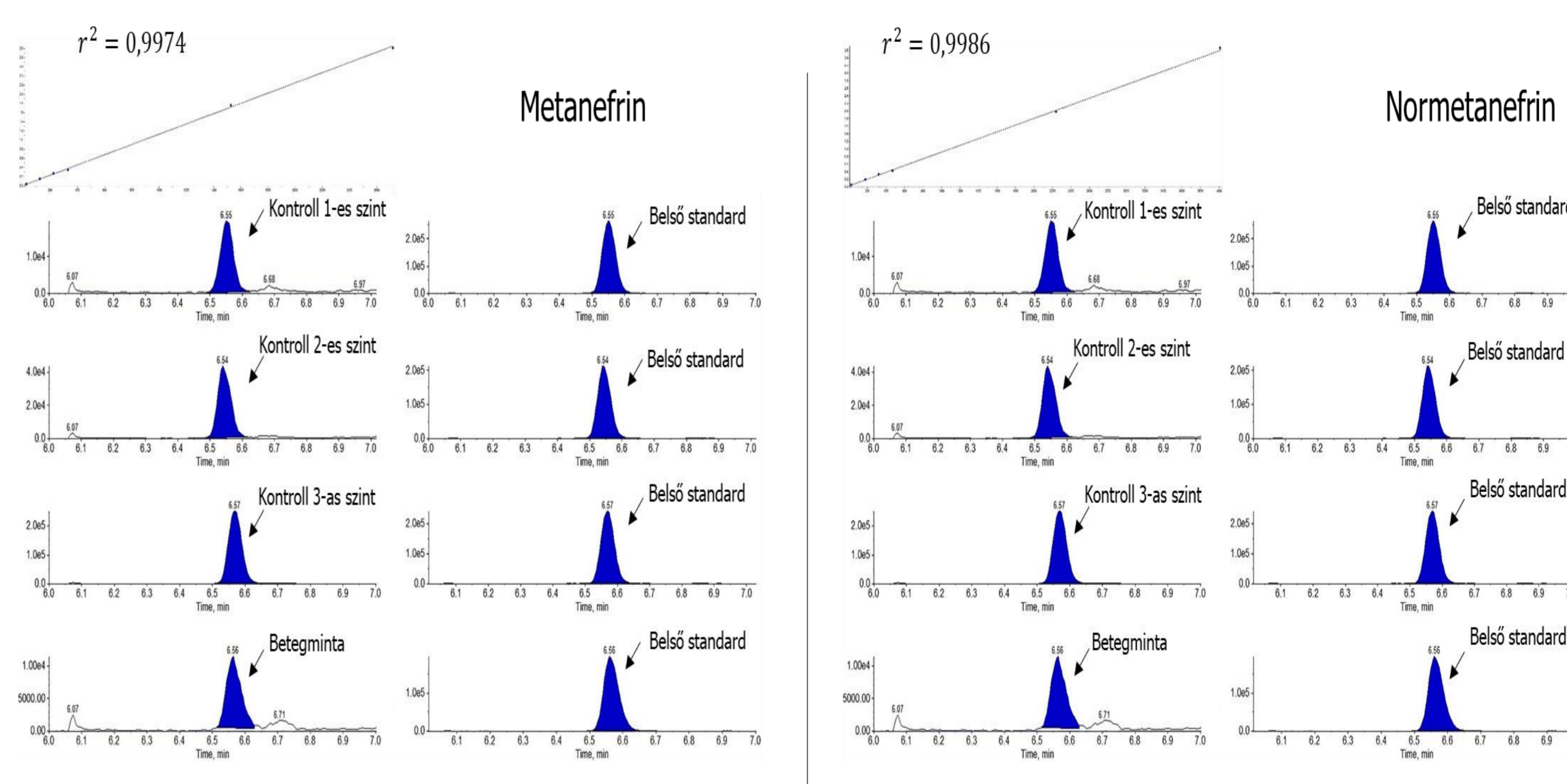
Magyarországon a kromaffin sejtes tumorok diagnosztikája elsősorban a vizelet katekolamin és frakcionált metanefrin + normetanefrin + a vanilmandulav vizsgálaton alapul (**2. ábra**).

A szabad plazma metanefrinek nagyhatékonyságú folyadékkromatográfal kapcsolt tandem tömegspektrométerrel (HPLC-MS/MS), az endogén katekolamin vegyületek vizeletből és EDTA-val alvadásgátolt vér plazmájából, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfal, elektrokémiai detektálással (**HPLC-ECD**) határozhatók meg (**3. ábra**).



3. ábra Plazma metanefrinek mérésénél alkalmazott eszközök, berendezések. A: Manuális minta-előkészítés nagy átteresztőképességű eljárás; B: Shimadzu Nexera XR-Sciex Qtrap 5500 HPLC-MS/MS mérőrendszer (elektrospray ionizációhoz konfigurálva)

A szabad metanefrin szintek plazmából, HPLC-MS/MS-sel történő klinikai célú meghatározását hazánkban elsőként laboratóriumunk végzi (**3-4. ábra**). A minta-előkészítési eljárás során 0,5 ml plazmából kiindulva az analitok szilárd fázisú extrakcióval történő kivonását és dúsítását végezzük el. A mérés gradiens elválasztással, pozitív elektrospray ionizációt követően többszörös reakciókövetés módszerrel történik.



4. ábra Szabad plazma metanefrinek HPLC-MS/MS-sel végzett meghatározása során kapott kalibrációs egyenesek, valamint a célvegyületek és az alkalmazott belső standardok kromatogramjai (kimutatás alsó határai: metanefrin - 2,5 ng/l; normetanefrin - 4,5 ng/l; 3-metoxitiramin - 2,0 ng/l)

A szabad plazma metanefrin meghatározások referencia tartománya jelentős mértékben függ a mérési módszertől és a mintavétel során alkalmazott antikoagulánstól [5]. A mérések eredményeit ezért szakorvosi véleménnyel adjuk ki.

Következtetések

A jövőben a nagy érzékenységű és kis mintaigényű HPLC-MS/MS eljárások terjedése várható. A mérések elvégzésére és az eredmények értelmezésére multidiszciplináris környezetre, illetve megfelelően képzett szakemberekre – analitikusokra, technikusokra, szakdiplomásokra - van szükség.

Egyben ez az a terület, ahol a laborautomatizáció (egyelőre) nem terjedt el széles körben és a 'klasszikus' laboratóriumi tapasztalat (manualitás, precizitás, munkaszeretet) továbbra is kiemelkedően fontos.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Nemzeti Bionika Program (1336/2017. (VI.9.) Korm. határozat) támogatásával valósult meg. A poszter elkészítésében nyújtott segítségéért köszönetünket fejezzük ki Farkas Róbertnek.

Hivatkozások

- [1] TG Rosano, G Eisenhofer, RJ Whitley. Catecholamines and Serotonin in Tietz textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Saunders. 2006;p1037.
- [2] JL Harding, MW Yeh, BG Robinson et al.: Potential pitfalls in the diagnosis of pheochromocytoma. MJA 182. 2005;637-9.
- [3] JWM Lenders, QY Duh, G Eisenhofer et al.: Pheochromocytoma and Paraganglioma: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(6):1915-42.
- [4] LJ Hoy, M Emery, JA Wedzicha et al.: Obstructive Sleep Apnea Presenting as Pseudopheochromocytoma: A Case Report. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(5):2033-2038
- [5] Chromsystems AV 81000 Free Metanephrines/plasma EN 06/2018 V3 (www.chromsystems.com)