

ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ МОЧИ КАК МЕТОД БИОХИМИЧЕСКОЙ УТОЧНЯЮЩЕЙ ДИАГНОСТИКИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ОБМЕНА ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ

*Яновская А. А., Белецкая С. В., Колосюк А. С., Канюка М. В.
Харьковский специализированный медико-генетический Центр,
г. Харьков, Украина, e-mail: mgc@ukr.net*

Введение

Определение концентрации органических кислот в биологических жидкостях является необходимым условием диагностики широкого спектра врождённых и приобретённых нарушений обмена органических кислот. Органические кислоты являются ключевыми метаболитами практически всех путей промежуточного метаболизма: аминокислот, углеводов, жирных кислот, пуринов, пиримидинов, а также метаболитами лекарственных препаратов и продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. Количественное определение органических кислот мочи особенно важно для диагностики органических ацидурий – наследственных нарушений промежуточного метаболизма с характерным накоплением карбоксилых кислот.

Исследование органических кислот включает в себя 4 этапа:

- экстракция кислот из биологических жидкостей;
- получение триметилсилил производных органических кислот;
- разделение полученных образцов с использованием газовой хроматографии масс-спектрометрии;
- идентификация и количественный расчёт метаболитов с использованием компьютерной программы.

Количественный расчёт органических кислот мочи проводится в перерасчёте на уровень креатинина, согласно принятым в мировой медицине единицам измерения.

Цель исследования: диагностировать наследственные болезни обмена органических кислот мочи с помощью газовой хроматографии.

Материалы и методы исследования

Приводим собственное наблюдение диагностики глутаровой ацидурии I типа. Больной Е., 2010 г. р., направлен в ХСМГЦ в связи с задержкой темпов психо-моторного развития.

Родители предъявляли жалобы на задержку темпов психомоторного развития (голову не удерживает, не сидит), задержку речевого развития (не говорит), беспокойный сон.

Из анамнеза заболевания известно, что в возрасте 5 месяцев на фоне ОРВИ с повыше-

нием температуры тела появились судорожные приступы в виде фиксации взора, тонического напряжения конечностей. Госпитализирован в стационар, состояние оценено как тяжёлое: ребёнок был вялым, сонливым; двигательная активность резко снижена; голову не удерживал; периодически наблюдался симптом Греффе; орофациальные, торсионные гиперкинезы, мышечная дистония на гипотоничном фоне; рефлексы с рук снижены, с ног оживлены. В крови отмечалась анемия (гемоглобин 104, 105 г/л). При ЯМРТ головного мозга (22 марта 2011 г.) выявлено: смешанная гидроцефалия; киста промежуточного паруса, гипотрофия лобных и височных долей. Глазное дно без патологии.

Установлен диагноз: нейро-дегенеративное заболевание нервной системы.

Из анамнеза жизни известно, что мальчик родился от III беременности, протекавшей без осложнений, III родов физиологических в сроке гестации 39-40 недель. Вес при рождении 4490 гр., рост 57 см; оценка по шкале Апгар 8-9 баллов. До 5 месяцев физическое и психомоторное развитие соответствовало возрасту, в 5 месяцев пытался самостоятельно сидеть.

Особенности фенотипа: телосложение астеническое, поверхностное расположение подкожных вен, бледность и мраморность кожных покровов, периорбитальные тени, макроцефалия, выступающие лобные бугры, короткий нос, низко расположенные ушные раковины, короткая шея, гипертрихоз на спине, гипермобильность суставов, клинодактилия III пальца кистей.

Клинико-генеалогический анализ: у родственников I-II степени родства сердечно-сосудистая (варикозное расширение вен, инсульт, ишемическая болезнь сердца) и онкопатология.

Результаты исследований

– биохимический анализ крови: сывороточное железо 8,29 (9,0-21,5); уровень глюкозы, лактата, холестерина, мочевой кислоты, билирубина в пределах нормы;

– исследование мочи методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии: глутарат 1849,5 ммоль/моль креат (до 3,62 ммоль/моль креат); умеренное повышение ряда других органических кислот;

– гомоцистеин крови – 8,4 мкмоль/л (норма до 5);

– исследование полиморфных вариантов генов системы фолатного цикла – выявлен ген MTRR A66G в гомозиготном состоянии;

– ЯМРТ головного мозга: смешанная гидроцефалия; киста промежуточного паруса, гипотрофия лобных и височных долей;

– УЗИ внутренних органов: умеренное повышение эхоплотности печени; признаки ДЖВП; неоднородная структура поджелудочной железы.

– исследование методом ПДРФ гена GCDH (глутаровая ацидемия, тип 1) обнаружена мутация Arg402Trp в гомозиготном состоянии.

На основании жалоб (задержка психомоторного и речевого развития), анамнестических данных (острое начало заболевания в возрасте 5 месяцев), особенностей фенотипа (макроцефалия, клинические признаки дефицита ферментов фолатного цикла), клинико-генеалогического анализа (сердечно-сосудистая и онкопатология), а также результатов дополнительных методов исследования (выраженное повышение уровня глутарата при проведении газовой хроматографии мочи; обнаружена мутация Arg402Trp в гомозиготном состоянии; гипергомоцистеинемия).

При исследовании полиморфных вариантов генов системы фолатного цикла выявлен ген

MTRR A66G в гомозиготном состоянии) установлен диагноз – врожденное нарушение обмена органических кислот – глутаровая ацидурия, тип I. Полиморфизм гена MTRR A66G в гомозиготном состоянии. Гипергомоцистеинемия.

Даны рекомендации: диетотерапия с ограничением белка (триптофана, лизина, метионина), обогащение рациона продуктами с высоким содержанием витаминов B₆, B₁₂ и фолиевой кислоты, карнитин.

Выводы

Описанный метод является важным в диагностике метаболических нарушений благодаря тому, что с его помощью можно определять широкий спектр различных органических соединений. Вместе с этим данный метод является достаточно сложным и для его реализации необходимы глубокие узкоспециализированные знания в области органической и биологической химии. Основываясь на опыте работы ХСМГЦ и метаболических центров за рубежом, оптимальный результат в диагностике и лечении нарушений метаболизма достигается при тесном сотрудничестве врача-генетика и врача-биолога.