

1.5 气相色谱质谱联用法在有机酸尿症诊断中的应用

摘要：有机酸尿症是儿童遗传代谢性疾病中较常见的病种，是重要的遗传代谢疾病筛查项目。

本文介绍了岛津公司开发的有机酸遗传代谢病分析方法和辅助诊断软件，可使用岛津 GC/MS 自动对 40 种有机酸代谢病进行分析并给出诊断结果，大大提高分析效率。

关键词：有机酸尿症 GC/MS 遗传代谢疾病筛查

有机酸尿症又称有机酸血症，是儿童遗传代谢性疾病中较常见的病种，是导致小儿神经系统损害的重要原因，迄今已发现了近 40 种疾患，总体发病率较高，如不能及时诊断、合理治疗，死亡率很高，存活者常遗留严重神经系统损害。

有机酸尿症临床诊断困难，目前应用 GC/MS 分析尿中有机酸是有机酸尿症筛查与诊断的可靠方法，已开始作为常规筛查手段运用于新生儿筛查或高危筛查。为了进一步提高分析速度和准确性，岛津公司开发了有机酸遗传代谢病辅助诊断软件，可自动对 40 种有机酸代谢病（表 1）给出诊断结果，大大提高了分析效率。

表 1. 可自动诊断的 40 种有机酸代谢病

1	甲基丙二酸尿症	15	羟甲戊酸尿症	28	二羧基酸尿症
2	丙酸尿症	16	甘油尿症	29	3-羟基-二羧基酸尿症
3	β -酮硫解酶缺乏症	17	草酸尿症	30	泽尔韦格氏综合征
4	异戊酸尿症	18	L-甘油酸尿症	31	卡纳万氏综合征
5	甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶 缺乏症	19	2-酮酯酸尿症	32	丙戊酸治疗
6	多种羧化酶缺乏症	20	黑酸尿症	33	羧甲半胱氨酸摄入
7	3-羟基-3-甲基戊二酸尿症	21	鸟氨酸氨甲酰基转移酶 缺乏症	34	延胡索酸酶缺乏症
8	3-甲基戊烯二酸尿症	22	乳清酸尿症	35	维生素 C 摄入
9	戊二酸尿症 I 型	23	枫糖酸尿症	36	中链脂肪酸去氢醇素 缺乏症
10	戊二酸尿症 II 型	24	酪氨酸尿症 I 型	37	苯丙酮酸尿症
11	3-羟基异丁酸尿症	25	酪氨酸尿症	38	甲基丙二酸半醛脱氢酶 缺乏症
12	5-氧合脯氨酸尿症	26	乳酸尿症	39	阿司匹林摄入
13	2-羟基戊二酸尿症	27	酮症	40	维生素 B1 缺乏病
14	4-羟基丁酸尿症				

■ 分析条件

气相条件

色谱柱: DB-5 30 m × 0.25 mm. × 1.0 μm

柱箱温度: 100 °C (4 min) - (4 °C/min)

-280 °C(10 min)

进样口温度: 280 °C

线速度: 43.0cm/sec

分流比: 20:1

MS 离子源温度: 200 °C

接口温度: 280 °C

扫描范围: m/z 50~500

仪器与试剂

仪器: GCMS-QP2010 Ultra

试剂: 正构烷烃标样

软件: GCMSsolution

Inborn Errors of Metabolism

Screening System

■ 样品前处理

取相当于含 0.2 mg 肌酐的尿样, 依次加入 MGA (托品酸) 和 C24 烷酸作为内标, 加水稀释到 2.0 mL。加入 2.5 N 的氢氧化钠调节 pH 值为 12~14, 添加 5 % 盐酸羟胺在室温下反应 60 min, 加入 6.0 N 的盐酸调节 pH 值为 1.0, 用 6 mL 乙酸乙酯萃取两次, 分取有机相, 加无水硫酸钠 5 g 去除残余水分, 60 °C 氮气吹干, 加入 100 μL BSTFA 和 TMCS(10:1), 80 °C 下反应 30 min, 进行甲基硅烷化衍生。

■ 实验结果

图 1-4 为 GC-MS 分析色谱图及诊断结果。

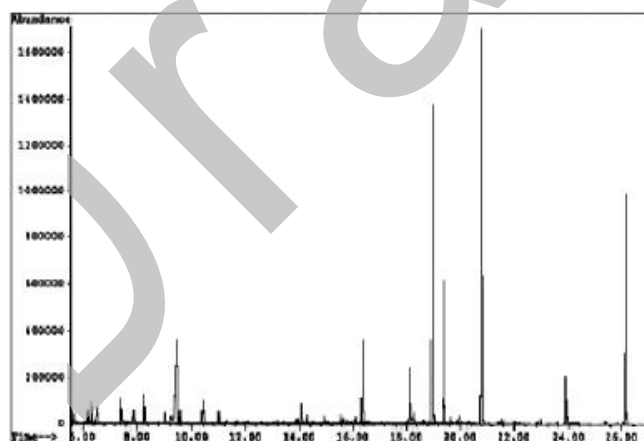


图 1. 正常尿有机酸谱

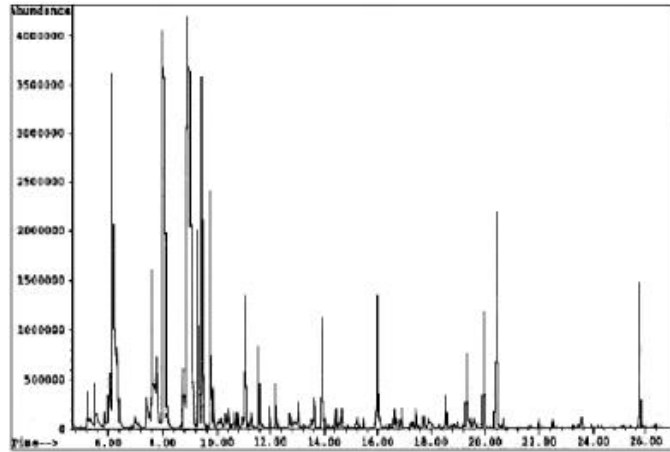


图 2. 甲基丙二酸尿症患者尿有机酸谱

ID	Compound Name	MRA	MARK	NORMAL	NORMAL (low)	NORMAL (high)	FACTOR
39	Succinic-2	15.49		32.70	6.50	65.80	0.47
42	Uracil-2	9.15		2.80	0.00	7.00	3.27
71	5-Oxoproline-2(pyroglutamic)	2.40		0.90	0.00	7.60	2.67
86	3-OH-phenylacetic-2	7.51	*	0.40	0.00	0.90	18.77
87	2-Ketoglutaric-OX-2(0)	6.23		26.10	3.00	102.90	0.24
88	4-OH-benzoic-2	44.73	*	3.80	0.00	7.80	11.77
89	4-OH-phenylacetic	13.03		27.10	8.60	73.20	0.48
90	2-Ketoglutaric-OX-2(0)	6.23		3.50	0.30	21.30	1.78
100	Aconitic-3	25.21		64.70	15.10	86.10	0.39
103	Homovanillic-2(HVA)	7.12		16.30	5.80	24.90	0.44
105	Hippuric-2	2.44		2.20	0.00	11.70	1.11
106	Isocitric-4	8.57		22.90	8.30	29.00	0.37
107	Citric-4	125.37		441.10	31.40	572.30	0.28
109	Hippuric-1	30.60		30.10	6.20	284.10	1.02
133	Tetracosane(C24)	76.05		0.00	0.00	0.00	?
134	IS-2(tropic acid)	300.04	*	0.00	0.00	0.00	?
No. Disease suspected of:							

图 3. 正常尿有机酸诊断结果

ID	Compound Name	MRA	MARK	NORMAL	NORMAL (low)	NORMAL (high)	FACTOR
4	Glycolic-2	5.33	*	0.70	0.00	2.20	7.62
12	3-OH-isobutyric-2	11.29		2.50	0.00	9.00	4.51
14	2-Methyl-3-OH-butyric-1-2	197.76	*	0.10	0.00	0.30	1977.61
15	Malonic-2	25.17	*	0.00	0.00	0.10	?
18	Methylmalonic-2	197.76	*	0.30	0.20	3.60	659.20
32	Phosphoric-3	80.38	*	6.60	0.00	43.00	12.18
34	Ethylmalonic-2	4.56		0.90	0.00	6.20	5.07
36	Acetylglutamic-1	13.94	*	0.00	0.00	0.10	?
39	Succinic-2	130.23	*	32.70	6.50	65.80	3.98
51	Glutaric-2	8.33		1.90	0.00	4.00	4.38
64	3-Methylglutaconic-2	6.22		1.50	0.00	2.90	4.15
73	Thiodiglycolic-2	258.27	*	0.00	0.00	0.00	?
76	5-OH-methyl-2-furoic-1	9.80	*	0.00	0.00	0.00	?
83	Phenylacetic-2	4.83		0.30	0.00	4.90	16.10
86	3-OH-phenylacetic-2	7.25	*	0.40	0.00	0.90	18.12
88	4-OH-benzoic-2	40.57	*	3.80	0.00	7.80	10.68
89	4-OH-phenylacetic	36.77		27.10	8.60	73.20	1.36
100	Aconitic-3	117.80		64.70	15.10	86.10	1.82
102	Vanillic-2	17.68	*	0.90	0.00	0.00	19.64
103	Homovanillic-2(HVA)	27.53		16.30	5.80	24.90	1.69
104	Azelaic-2	6.16		3.90	0.00	10.70	1.58
105	Hippuric-2	9.55		2.20	0.00	11.70	4.34
106	Isocitric-4	44.39		22.90	8.30	29.00	1.94
107	Citric-4	1107.92	*	441.10	31.40	572.30	2.51
109	Hippuric-1	63.74		30.10	6.20	284.10	2.12
116	Sebacic-2	4.58		2.20	0.40	7.00	2.08
129	Uric-4	16.02		2.60	0.00	7.20	6.16
133	Tetracosane(C24)	82.53		0.00	0.00	0.00	?
134	IS-2(tropic acid)	300.40	*	0.00	0.00	0.00	?
No. Disease suspected of:							
1 Methylmalonic acidemia							

图 4. 甲基丙二酸尿症患者尿有机酸诊断结果

■ 结论

应用 GC-MS 检测尿中有机酸，是有机酸尿症筛查与诊断的可靠方法。应用有机酸遗传代谢病辅助诊断软件，可对 GC-MS 的结果进行自动分析，无需有机酸标样，即可对 40 种有机酸代谢病给出诊断结果，大大提高了有机酸尿症的诊断与筛查的效率。目前，GC-MS 分析技术已开始作为常规筛查手段运用于新生儿筛查或高危筛查，为有机酸尿症的早期诊断和治疗提供了很好的依据。