

Оценка масс-спектрометрических показателей для дифференциальной диагностики наследственных нарушений обмена органических кислот у детей

И.С. Мамедов¹, В.С. Сухоруков^{2,3}, И.В. Золкина¹, М.И. Савина³, Е.А. Николаева⁴

¹Научно-лабораторный комплекс «Хромолаб», Москва, Россия;

²ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

⁴ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Evaluation of mass spectrometric indicators for the differential diagnosis of inherited disorders of organic acid metabolism in children

I.S. Mamedov¹, V.S. Sukhorukov^{2,3}, I.V. Zolkina¹, M.I. Savina³, E.A. Nikolaeva⁴

¹Scientific and laboratory complex "Chromolab", Moscow, Russia;

²Scientific Center for Neurology, Moscow, Russia;

³Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

⁴Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Цель исследования. Рассчитать референсные интервалы содержания органических кислот в моче у детей различных возрастных групп на основе результатов, полученных с помощью метода газовой хроматографии с масс-спектрометрией; выяснить их диагностическую значимость как биохимических маркеров органических ацидемий и других нарушений обмена. **Материалы и методы.** Группу пациентов составили 80 детей с подозрением на органические ацидемии. Контрольная группа состояла из 443 практически здоровых детей разных возрастов. Анализ проб мочи на содержание 28 органических кислот проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией.

Результаты. Установлены референсные интервалы содержания 28 органических кислот мочи. Выявлены отличия в референсных интервалах, определенных в настоящей работе, от полученных в других исследованиях. По результатам анализа проб мочи пациентов методом газовой хромато-масс-спектрометрии были выявлены 37 детей с нарушениями в спектре органических кислот. На основании характерных клинико-лабораторных данных и изменений в показателях органических кислот у 23 пациентов диагностированы разные формы органических ацидемий.

Выводы. Метод газовой хроматографии с масс-спектрометрией показал свою эффективность и надежность для диагностики наследственных заболеваний из группы органических ацидемий.

Ключевые слова: дети, наследственные болезни обмена, аминокислоты, жирные кислоты, органические кислоты, референсные интервалы, газовая хромато-масс-спектрометрия.

Для цитирования: Мамедов И.С., Сухоруков В.С., Золкина И.В., Савина М.И., Николаева Е.А. Оценка масс-спектрометрических показателей для дифференциальной диагностики наследственных нарушений обмена органических кислот у детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2019, 64:(1): 61–67. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-61-67

The objective. To calculate the reference intervals of the content of organic acids in the urine of the children of different age groups based on the results of gas chromatography with mass spectrometry; to find out their diagnostic value as biochemical markers of organic acidemia and other metabolic disorders.

Materials and methods. The group consisted of 80 children with suspected organic acidemia. The control group consisted of 443 practically healthy children of different ages. The urine samples were analyzed for the content of 28 organic by gas chromatography with mass spectrometry.

The results. The authors established reference intervals of 28 organic urine acids. The differences in the reference intervals defined in this work were isolated from those obtained in other studies. There were identified 37 children with abnormalities in the spectrum of organic acids according to the results of the analysis of the urine samples of patients by gas chromatography-mass spectrometry. 23 patients were diagnosed with various forms of organic acidemia on the basis of characteristic clinical and laboratory data and changes in the indicators of organic acids.

The conclusion. The method of gas chromatography with mass spectrometry has proved its effectiveness and reliability for the diagnosis of hereditary diseases from the group of organic acidemias.

Key words: children, hereditary metabolic diseases, amino acids, fatty acids, organic acids, reference intervals, gas chromatography-mass spectrometry.

For citation: Mamedov I.S., Sukhorukov V.S., Zolkina I.V., Savina M.I., Nikolaeva E.A. Evaluation of mass spectrometric indicators for the differential diagnosis of inherited disorders of organic acid metabolism in children. Ros Vestn Perinatol i PEDIATR 2019; 64:(1): 61–67 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-61-67

© Коллектив авторов, 2019

Адрес для корреспонденции: Мамедов Ильгар Салехович – к.м.н., зам. генерального директора по инновационным технологиям научно-лабораторного комплекса «Хромолаб», e-mail: is_mamedov@mail.ru

Золкина Ирина Вячеславовна – к.б.н., рук. службы качества научно-лабораторного комплекса «Хромолаб» 117246, Москва, Научный пр. 20/2, оф. 225-230

Сухоруков Владимир Сергеевич – д.м.н., проф., зав. лабораторией Научного центра неврологии, проф. кафедры гистологии, эмбриологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова, ORCID: 0000-0002-0552-6939

Савина Марина Ивановна, д.б.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФДПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Николаева Екатерина Александровна – д.м.н., рук. отдела клинической генетики Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтишева РНИМУ им. Н.И. Пирогова,

ORCID: 0000-0001-7146-7220

125412, Москва, ул. Талдомская, д.2

Органические кислоты представляют собой низкомолекулярные соединения, являющиеся продуктами промежуточного обмена аминокислот, углеводов, липидов, стероидов и биогенных аминов. Показатели их концентрации в различных биологических жидкостях, в частности в моче, служат специфичными лабораторными маркерами ряда наследственных болезней обмена веществ.

Органические ацидемии (органические ацидурии) – заболевания, обусловленные нарушением обмена органических кислот и их накоплением в биологических жидкостях. Большинство органических ацидемий – результат нарушения трансформации в катаболизме аминокислот или жирных кислот; обычно причиной является снижение активности фермента, что ведет к накоплению токсичных органических кислот и может вызывать тяжелый метаболический кетоацидоз (или гипокетонемию при нарушениях обмена жирных кислот), вторичную гипераммониемию, гипогликемию, гиперглицинемию и другие расстройства [1–3]. Заболевания характеризуются тяжелым нарушением развития детей, прогрессирующим или приступообразным течением и в совокупности занимают существенное место среди причин инвалидности и смертности детского возраста [4].

С середины 90-х годов прошлого столетия почти во всех экономически развитых странах проводится диагностика нарушений обмена органических кислот методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией. В настоящее время этот метод является «золотым стандартом» для определения органических кислот в биологических жидкостях.

Цель исследования: рассчитать референсные интервалы содержания органических кислот в моче у детей различных возрастных групп на основе результатов, полученных с помощью метода газовой хроматографии с масс-спектрометрией; выяснить их диагностическую значимость как биохимических маркеров органических ацидемий и других нарушений обмена.

Характеристика детей и методы исследования

Характеристика пациентов

Группу пациентов составили 80 детей (48 мальчиков и 32 девочки в возрасте от 6 мес до 16 лет) с подозрением на органические ацидемии. Показаниями к исследованию были задержка психомоторного и физического развития, особенно в сочетании с судорогами, нарушением мышечного тонуса, атаксией, увеличением печени, дерматитом, снижением остроты зрения.

Критерии исключения: возраст старше 18 лет, наличие сопутствующих заболеваний с тяжелым течением, которое могло осложнить выполнение условий обследования.

Определение референсных интервалов

В настоящей работе для установления референсных интервалов был использован «косвенный» метод набора референсной группы, т.е. ретроспективный. Достоинствами этого подхода, заключающегося в обработке результатов, собранных и сохраненных в базе данных, являются доступность и значительное количество данных, экономия времени и средств. Для установления референсных диапазонов были использованы результаты контрольной группы, которая состояла из 443 практически здоровых детей разных возрастных групп. С помощью Лабораторной информационной системы «АльфаЛАБ» (ЛИС) отслеживались история пациентов и результаты сделанных анализов. По результатам комплексных анализов и в отсутствие отклонений в общем анализе крови и мочи принималось решение о взятии результатов в статистическую обработку.

Биоматериал от пациентов был получен из следующих клинических центров и лабораторий: НИКИ педиатрии им. Ю.Е. Вельтишева, Российская детская клиническая больница, НЛК «Хромолаб». Предварительно от родителей пациентов и практически здоровых детей из контрольной группы было получено подписанное информированное согласие на проведение исследования. Биоматериал был получен от пациентов и здоровых детей, проживающих в Московском регионе и в европейской части России.

Методика количественного определения органических кислот методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией

Для определения органических кислот использовался метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии по двум методикам с некоторыми модификациями [5, 6]. В процессе постановки методики был изменен дериватирующий реагент и изменены параметры хроматографирования для лучшего разделения искомым компонентов в биообразцах.

Реактивы и используемое оборудование: стандарты органических кислот, гидроксилламин, этилацетат, пиридин («Sigma-Aldrich», Германия), фенацетин, гидроксид натрия, хлорид натрия, соляная кислота («Химмед», Россия), дериватирующий реагент N-метил-N-(триметилсилил)трифторацетамид – MSTFA («Macherey-Nagel», Германия), лабораторный шейкер (ELMI, Латвия).

Забор биоматериала и пробоподготовка. Разовую порцию мочи в количестве 100 мл отбирали в пластиковый контейнер с крышкой. До проведения анализа пробы хранили при температуре –20 °С. Пробоподготовка биоматериала включала этапы двойной экстракции, последующее концентрирование пробы и дериватизацию.

Хроматографические условия. Анализ на органические кислоты проводили с использованием газового хроматографа с масс-спектрометром SHIMADZU QP2010 (Япония). Газохроматографическое разделение определяемых веществ осуществляли на колонке HP-5MS (30 м×0,32 мм×2,5 мкм; «Agilent», США). Расчет полученных результатов выполняли с помощью программного обеспечения LabSolutions («Shimadzu», Япония). Калибровочные кривые являлись линейными для всех соединений в диапазоне концентраций 0,01–500 мкмоль/л.

Статистический анализ. Полученные результаты для расчета референсных интервалов после статистической обработки представляли в виде 2,5-го и 97,5-го перцентилей распределения. Для оценки различий между возрастными группами использовали непараметрический метод сравнения множества независимых групп – метод Краскела–Уоллиса.

Результаты и обсуждение

Результаты определения референсных интервалов содержания отдельных органических кислот

На основании анализа результатов проб мочи 443 практически здоровых детей были определены референсные интервалы для распределения содержания 28 органических кислот (см. таблицу). Референсные значения представлены как пределы, соответствующие 2,5–97,5% разбросу аналитов в выборке результатов пациентов, в которой дети были распределены по пяти возрастным группам: 1-я неделя жизни, 7–30 дней, 1–23 мес, 24 мес–8 лет и 9–17 лет. Наличие различий между пятью возрастными группами оценивали в помощью непараметрического метода сравнения множества независимых групп; статистически значимыми считали различия, для которых уровень значимости $p < 0,0051$.

При анализе полученных данных видно, что для некоторых органических кислот характерна различная концентрация в моче в зависимости от возраста. Например, имеется тенденция к повышенному содержанию в моче молочной, гликолевой и 4-гидроксифенилуксусной кислот к концу 2-го года жизни, а в более поздние периоды характерно снижение концентраций этих метаболитов. Концентрации глутаровой, 4-гидроксифенилпировиноградной, гомогентизиновой, фенилмолочной и N-ацетиласпартиковой кислот также возрастают к концу 2-го года жизни, а затем снижаются и остаются неизменными до 18 лет.

Содержание некоторых кислот (пировиноградная, 3-метилглутаровая и изовалериановая) имеет тенденцию к повышению в возрастных группах 1–23 мес и 9–17 лет. Для адипиновой, 3-гидрокси-3-метилглутаровой и сукциновой кислот характерны максимальные концентрации в 1-й месяц жизни, а затем их постепенное снижение в последующие возрастные периоды. Следует обратить внимание, что для таких кислот,

как 2-метил-3-гидроксимасляная и глицериновая отмечена тенденция к увеличению их содержания в моче здоровых детей после 1-го месяца жизни и в старших возрастных группах. Концентрация этилмалоновой и фенилпировиноградной кислот к концу 1-го месяца жизни находится на самом низком уровне, а затем по мере взросления организма постепенно увеличивается. При этом в количественном содержании метилмалоновой, мевалоновой, 3-метил-2-оксвалериановой, субериновой, себаценовой и 2-гидроксиизокапроновой кислот возрастных изменений не наблюдается.

Можно отметить, что концентрации 4-метил-2-оксвалериановой кислоты у детей младше 8 лет изменяются незначительно, а в старшей возрастной группе (9–17 лет) происходит их резкое (до 10 раз) снижение. Для содержания гиппуровой кислоты характерна аналогичная тенденция: с 1-й недели жизни ребенка и вплоть до 8 лет его референсные интервалы остаются неизменными, а в старшем возрасте наблюдается снижение данного показателя.

После поиска и анализа литературы были выявлены отличия в референсных интервалах, определенных в настоящей работе, от таковых, полученных в других популяциях. Отличия могут быть связаны с особенностями и различиями аналитического процесса при хроматографическом анализе и масс-спектрометрии, а также с особенностями выборок пациентов [5, 7, 8].

Результаты обследования детей с подозрением на органические ацидемии

По результатам анализа проб мочи пациентов методом газовой хромато-масс-спектрометрии были выявлены 37 детей с нарушениями в спектре органических кислот. На основании характерных клинико-лабораторных данных и изменений в показателях органических кислот у 23 пациентов были диагностированы разные формы органических ацидемий. Для уточнения диагноза во многих случаях также использовалось определение уровня характерных ацилкарнитинов методом тандемной хромато-масс-спектрометрии, биоматериалом служили пятна крови пациентов. Одновременное применение двух высокотехнологичных методов для диагностики нарушений обмена органических кислот позволяет удостовериться в правильности проведенной диагностики и минимизирует ошибки в постановке диагноза. У большинства больных установленный диагноз был впоследствии дополнительно верифицирован при молекулярно-генетическом исследовании. У 14 детей результаты хроматографического анализа органических кислот были не столь однозначны, однако позволили определить направление дальнейшего диагностического поиска и дифференциальной диагностики.

У 5 детей установлен диагноз дефицита длинноцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ. Маркерными метаболитами этого заболевания являются субериновая и себаценовая кислоты; их уровни в моче колебались от 4 до 33 ммоль/моль креатинина для субериновой

кислоты и от 3,3 до 15,6 ммоль/моль креатинина для себаценовой кислоты. Причем, патологический диапазон для этих кислот составляет 2–20 ммоль/моль креатинина [7]. У 2 пациентов был подтвержден диагноз тирозинемии 3-го типа/хавкинсурии: концентрации 4-гидроксифенилпировиноградной и 4-гидроксифенилмолочной кислот в моче составили 525 и 88 ммоль/моль креатинина и 881 и 1089 ммоль/моль креатинина соответственно. У 1 ребенка установлена алкаптонурия, уровень гомогентизиновой кислоты – главного маркера данного заболевания – в его моче достигал 686 ммоль/моль креатинина,

что выходит за рамки установленных нами референсных значений, но ниже патологического диапазона для этого заболевания согласно сведениям литературы [9]. У 5 детей подтвержден диагноз метилмалоновой ацидемии, уровень метилмалоновой кислоты во всех случаях значительно превышал возрастную норму (рис. 1). У 3 пациентов была диагностирована глутаровая ацидемия 1-го типа: концентрация глутаровой кислоты была значительно выше возрастной нормы.

У 3 детей выявлена болезнь Канавана. У 2 из них содержание основного маркера – N-ацетиласпартиковой кислоты – значительно пре-

Таблица. Референсные 2,5–97,5% пределы распределения содержания органических кислот в моче для разных возрастных групп
Table. The reference 2.5–97.5% limits of the distribution of the content of organic acids in the urine for different age groups

Показатель	Возраст				
	1–7 дней	<1 мес	1–23 мес	2–8 лет	9–17 лет
Объем выборки (число пациентов)	35	43	120	121	124
Органические кислоты, ммоль/моль креатинина					
молочная	12–32	18–34	25–518	8–216	6–61
гликолиевая	10–80	8–82	22–143	28–126	14–114
глутаровая	<3	<3	<5	<2	<2
пировиноградная	8–50	8–52	4–58,0	6–20	2,0–35
адипиновая	30–181	30–184	46–138	18–150	11–60
изовалериановая	0–5,0	0–5,0	1–7	0–2,0	0–5,0
гиппуровая	100–1620	100–1620	100–1620	100–1620	60–300
3-гидроксимасляная	0–8	1–8	0,5–6,0	0–3,0	0–4,0
3-гидрокси-3-метилглутаровая	11–83	13–81	6,0–15	3,0–20,0	2,0–25
гидроксифенилмолочная	0–8,4	0–8,4	2,7–5,3	0,3–5,8	0,4–7,3
4-гидроксифенил-пировиноградная	<2	<2	0–10	<2	<2
4-гидроксифенилуксусная	10–72	10–74	18–270	18–124	12–93
метилмалоновая	<2	<2	<2	<2	<2
этилмалоновая	0–2	0–2	0–4	0–4	0–5
мевалоновая	<2	<2	<2	<2	<2
3-метил-2-оксовалериановая	0–1,0	0–1,0	0–1,0	0–1,0	0,1–1,2
4-метил-2-оксовалериановая	0–0,7	0–0,7	0–0,7	0–0,5	0–0,04
2-гидроксиизокапроновая	<3	<3	<2,5	<2	<2
фенилпировиноградная	0–2,3	0–2,5	0–3	0–4	0–4
фенилмолочная	<2	<2	0–10	<2	<2
гомогентизиновая	<2	<2	<2,5	<2	<2
2-метил-3-гидроксимасляная	0–2,3	0–2,5	0–8	0–8	0–10
3-метилглутаровая	0–3	0–3	0–7	0–5	0–7
субериновая	<2	<2	<2	<2	<2
себаценовая	<2	<2	<2	<2	<2
сукциновая	30–480	30–486	4–27	4–27	2–20
N-ацетиласпартиковая	<2	<2	0–6	<2	<2
глицериновая	0–3	0–3	0–8	0–8	0–9

вышал норму (2021 и 1896 ммоль/моль креатинина), однако у одного ребенка этот показатель был ниже патологического диапазона данного маркера — 628 ммоль/моль креатинина [7–9], что потребовало дополнительного исследования. У 4 пациентов по результатам хроматографического анализа была подтверждена гипероксалурия 1-го типа, хотя концентрации гликолиевой кислоты в моче пациентов были повышены незначительно по отношению к возрастной норме или находились на ее верхней границе: 122, 97, 231 и 290 ммоль/моль креатинина.

У 5 детей наблюдалось умеренное увеличение концентрации метилмалоновой кислоты (от 51 до 96 ммоль/моль креатинина) и значительное повышение экскреции мевалоновой кислоты от 245 до 558 ммоль/моль креатинина при норме 0–2 ммоль/моль креатинина. На основании полученных результатов предложено дополнительное обследование для исключения метилмалоновой, малаоновой, мевалоновой ацидемии, митохондриальной энцефаломиопатии с определением ацилкарнитинов крови и использованием молекулярно-генетической диагностики.

У 5 детей в связи с высокой концентрацией этилмалоновой кислоты в моче (от 128 до 521 ммоль/моль креатинина) был предположен дефицит короткоцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ. В плане дальнейших исследований этих пациентов также определены ацилкарнитинов крови и молекулярно-генетическая диагностика. У 4 детей наблюдались повышенные

концентрации нескольких метаболитов, характерных для глутаровой ацидурии 2-го типа. В целях уточнения диагноза намечены повторное исследование органических кислот в моче и анализ ацилкарнитинов крови.

При сравнении собственных данных и источников литературы с опубликованными значениями маркерных метаболитов, определенных у пациентов с наследственными болезнями обмена, обращает внимание, что патологические диапазоны большинства проанализированных нами аналитов соответствуют приведенным в литературе [5, 6, 9]. Таким образом, сопоставление сведений литературы с результатами настоящего исследования показывает, что патологические значения уровня маркерных метаболитов могут иметь существенный разброс, и это необходимо учитывать при клинико-лабораторной диагностике заболеваний обмена веществ.

На рис. 2 представлен алгоритм биохимической диагностики наследственных нарушений обмена органических кислот. Исходя из разработанного алгоритма при проведении скринингового анализа мочи на содержание органических кислот методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией при получении количественных значений, попадающих в референсный диапазон, результат считается отрицательным.

Если некоторые параметры умеренно выходят за границы референсного интервала, то необходимо повторить исследование в динамике и/или определить содержание ацилкарнитинов методом tandemной хромато-масс-спектрометрии. При получении

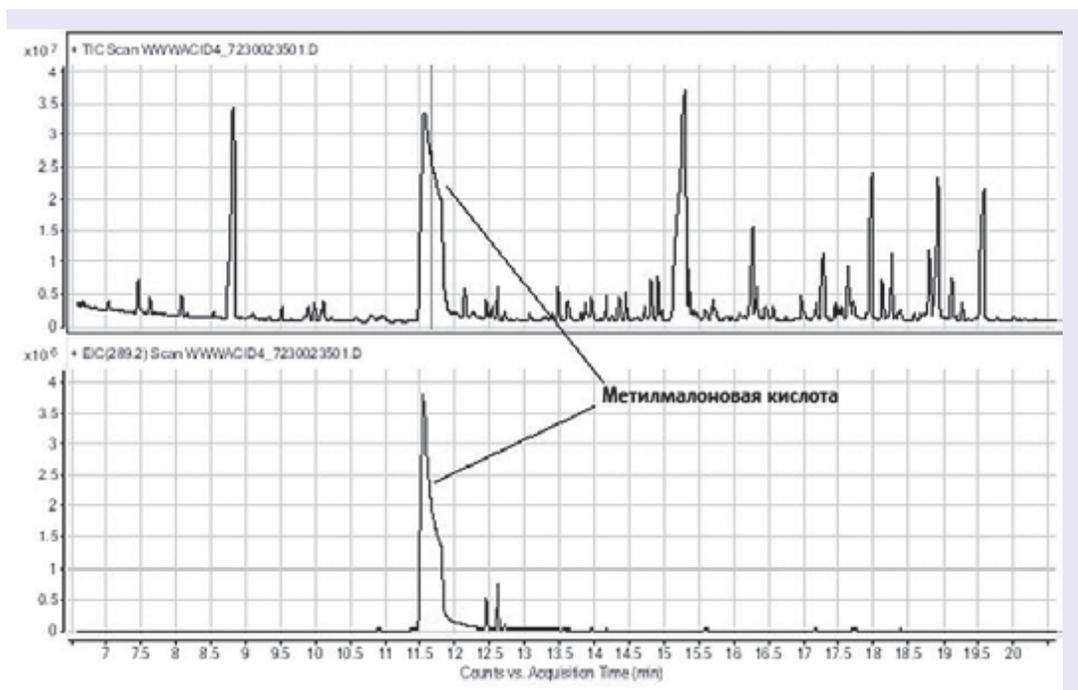


Рис. 1. Типичная хроматограмма образца мочи у пациента с метилмалоновой ацидезией.

По оси X — время хроматографирования, в минутах, по оси Y — интенсивность сигнала, в абсолютных единицах

Fig. 1. Typical chromatogram of a urine sample in a patient with methylmalonic acidemia. Legend: X axis — chromatographic time, in minutes, Y axis — signal intensity, in absolute units

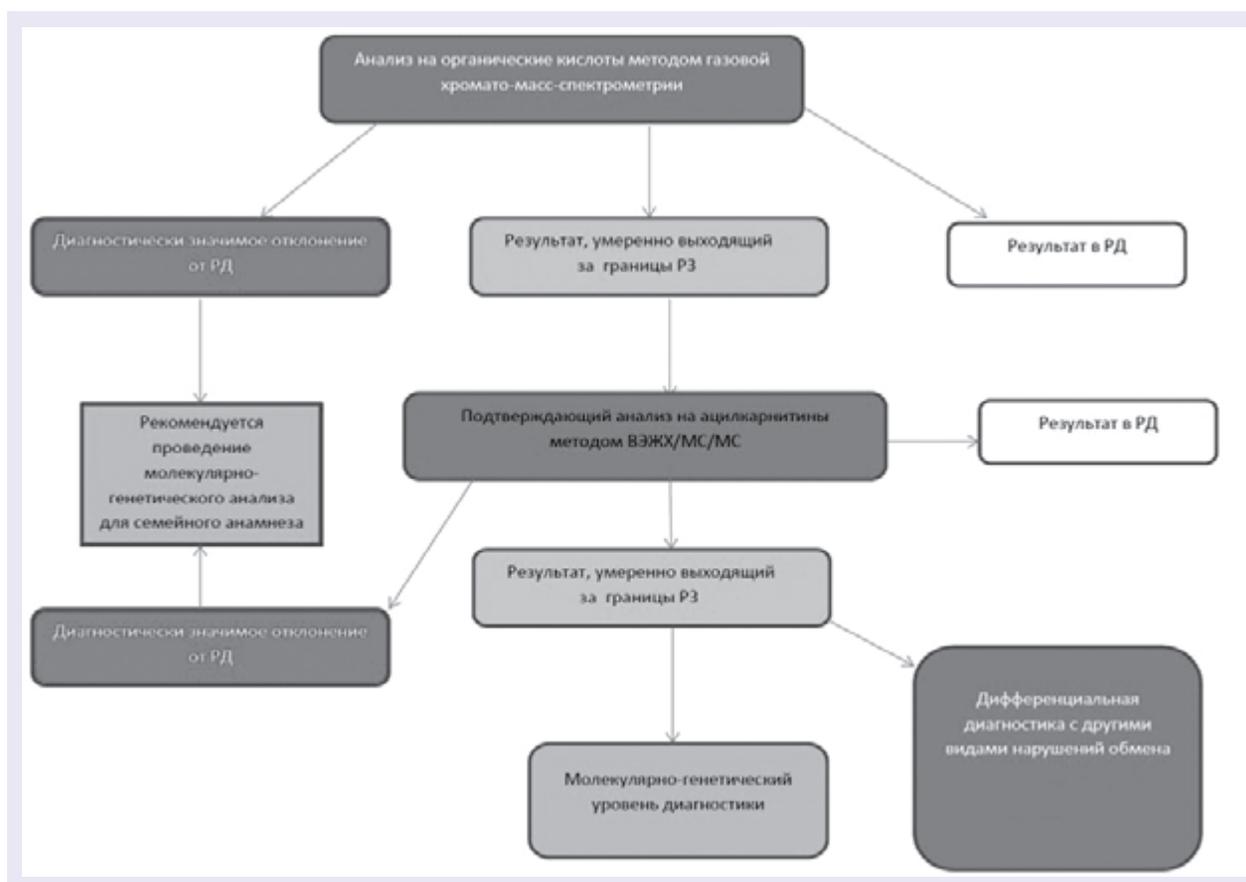


Рис. 2. Алгоритм диагностики наследственных нарушений обмена органических кислот (биохимический уровень). РД – референсный диапазон; РЗ – референсные значения; ВЭЖХ/МС/МС – тандемная жидкостная хромато-масс-спектрометрия

Fig. 2. Algorithm for the diagnosis of hereditary metabolic disorders of organic acids (biochemical level)

результатов, входящих в референсный диапазон, дальнейшая диагностика для выявления нарушений обмена не проводится, а при получении значений, умеренно выходящих за границы диапазона, необходимо провести дифференциальную диагностику с другими видами нарушений обмена. Если же результаты исследования окажутся за пределами референсного интервала, то следует перейти к следующему этапу лабораторной диагностики – проведение молекулярно-генетического анализа.

При получении диагностически значимых отклонений содержания органических кислот в моче и ацилкарнитинов в пятнах крови, подтверждающих клинический диагноз, устанавливается нозологическая форма наследственного заболевания обмена. Однако и в этом случае для целей медико-генетического консультирования членов семьи больного ребенка рекомендуется проведение молекулярного анализа гена, мутации которого ассоциированы с выявленным заболеванием.

Заключение

Таким образом, метод газовой хроматографии с масс-спектрометрией показал свою эффективность и надежность для диагностики наследствен-

ных заболеваний группы органических ацидемий. Различия в референсных интервалах, опубликованных в источниках литературы и полученных нами, для некоторых определяемых органических кислот могут быть связаны не только с объемами выборки пациентов и этническими особенностями, но и с методологией анализа: использование различных дериватирующих агентов, отличие в подготовке проб мочи и при проведении хроматографии и масс-детектирования. Это в очередной раз подтверждает необходимость для каждой лаборатории обязательного установления собственных референсных интервалов для диагностических маркеров наследственных болезней обмена.

Сравнение данных литературы с полученными нами численными показателями диагностических маркеров наследственных болезней обмена органических кислот показало, что у больных детей значения концентрации маркерных метаболитов также могут иметь большой разброс. При лабораторной диагностике наследственных нарушений обмена веществ необходимо ориентироваться на более широкие диапазоны анализируемых аналитов, чтобы не допустить ложно отрицательного результата и не пропустить заболевание.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. *Ozand P.T., Gascon G.G.* Organic acidurias: a review. Part 1. *J. Child Neurol* 1991; 6(3): 197–219. DOI: 10.1177/088307389100600302
2. *Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Childs B., Valle D., Kinzler W. et al.* The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. Part 9, Organic Acids. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill, Inc., 2001; 2109–2260.
3. *Lord R.S., Bralley J.A.* Laboratory evaluations for integrative and functional medicine. 2nd edition, Metametrix Institute 2008; 179.
4. *Казанцева Л.З., Антошечкин А.Г., Николаева Е.А.* Клинико-биохимическая диагностика наследственных форм органических ацидемий у детей. *Материнство и детство* 1992; 2–3: 21–25. [Kazantseva L.Z., Antoshechkin A.G., Nikolaeva E.A. Clinical and biochemical diagnosis of hereditary forms of organic acidemia in children. *Materinstvo i detstvo* 1992; 2–3: 21–25. (in Russ)]
5. *Pawar C., Rao P., Lewis L., Moorkoth S.* Development of a GC-MS bio-analytical method to detect organic acidemia in neonatal/paediatric urine sample. *Int J Pharmacy Technol* 2016; 2: 13110–13124.
6. *Kuhara T.* Gas chromatographic-mass spectrometric urinary metabolome analysis to study mutations of inborn errors of metabolism. *Mass Spectrom Rev* 2005; 24: 8141–827. DOI: 10.1002/mas.20038
7. *Jiang M., Liu L., Mei H., Li X., Cheng J., Cai Y.* Detection of inborn errors of metabolism using GC-MS: over 3 years of experience in southern China. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2015; 28: 375–380. DOI: 10.1515/jpem-2014-0164
8. *Christou C.K., Gika H.G., Raikos N., Theodoridis G.A.* GC-MS analysis of organic acids in human urine in clinical settings: A study of derivatization and other analytical parameters. *J Chromatography B* 2014; 964: 195–201. DOI: 10.1016/j.jchromb.2013.12.038.
9. Metagene. Metabolic and genetic information center. <http://www.metagene.de/index.html>. Ссылка активна на 21.11.2018.

Поступила: 26.11.18

Received on: 2018.11.26

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.