



Dosaggio dell'acido metilmalonico per mezzo di LC/MS (sistema combinato di cromatografia liquida e spettrometria di massa) per l'identificazione della carenza di vitamina B12

La vitamina B12, in forma di metilcobalamina, svolge in primo luogo la funzione di cofattore dell'enzima metionina sintetasi durante la trasformazione dell'omocisteina in metionina. Secondariamente, in forma di adenosilcobalamina, da cofattore per l'enzima metilmalonil-CoA mutasi, il quale catalizza la sintesi di succinil-CoA a partire da metilmalonil-CoA. Una carenza di vitamina B12 provoca una riduzione dell'attività catalitica di questi enzimi e di conseguenza un aumento della concentrazione dell'omocisteina e dell'acido metilmalonico. L'efficacia di una terapia a base di vitamina B12 (orale o parenterale) è confermata dalla normalizzazione della concentrazione dell'acido metilmalonico già alcuni giorni dopo l'inizio della sostituzione.

Dal punto di vista clinico una carenza di vitamina B12 può causare danni neurologici in parte irreversibili quali polineuropatie, mielosi funicolare, psicosi e demenze. Senza un'adeguata terapia, la carenza di vitamina B12 porta ad un'anemia perniciosa. Nella maggior parte dei casi il dosaggio della vitamina B12 e dell'olotranscobalamina sono sufficienti ad escludere una carenza di vitamina B12. In determinate situazioni (una minoranza dei casi) per la corretta identificazione della carenza è necessaria la determinazione dell'acido metilmalonico.

Analitica consigliata nel caso di sospetta carenza di vitamina B12:

- Inizialmente eseguire il dosaggio della vitamina B12
 - Valori > 300 pmol/l: carenza molto improbabile
 - Valori < 125 pmol/l: indicano un'equilibrio negativo o una carenza di vitamina B12
 - Valori tra 125 e 300 pmol/l: zona grigia. Si consiglia la determinazione dell'olotranscobalamina (HoloTc)
- Determinazione dell'HoloTc
 - Valori > 50 pmol/l: carenza di vitamina B12 improbabile
 - Valori < 35 pmol/l: indicano una carenza di vitamina B12
 - Valori tra 50 e 35 pmol/l: zona grigia. Si consiglia la determinazione dell'acido metilmalonico.
- Determinazione dell'acido metilmalonico
 - Valori < 290 nmol/l: carenza di vitamina B12 improbabile
 - Valori > 750 nmol/l: indicano una carenza di vitamina B12
 - Valori tra 290 e 750 nmol/l: costellazione dubbia. Si consiglia di seguire le indicazioni riportate nella figura accanto.

Schema analitico per l'identificazione della carenza di vitamina B12:



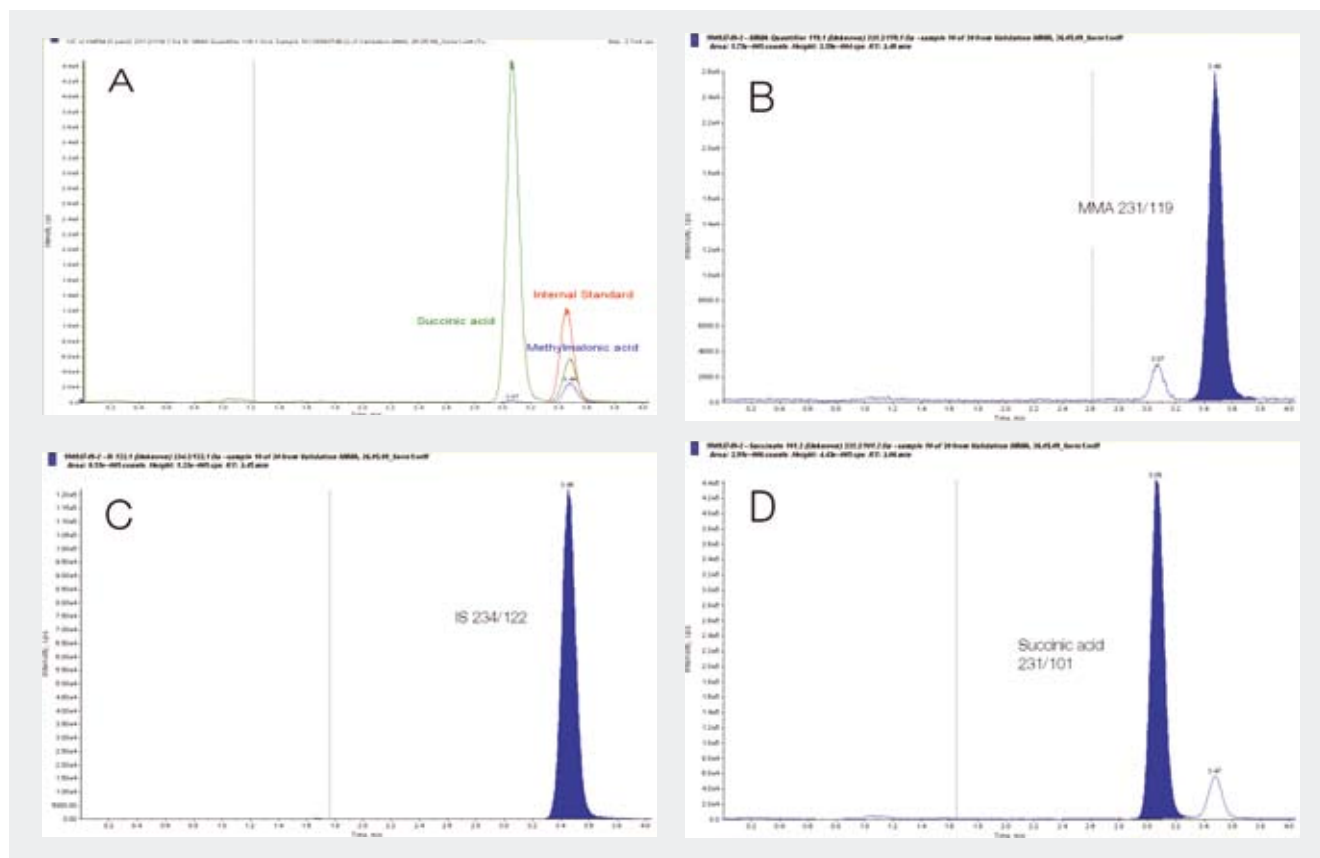
Su richiesta del medico curante questo algoritmo può essere automaticamente svolto dal laboratorio.

Analitica

Il dosaggio dell'acido metilmalonico viene eseguito principalmente tramite gas cromatografia/spettrometria di massa (GC/MS). Questo metodo possiede un'elevata selettività, ma gli strumenti necessari all'esecuzione dell'analisi sono costosi e richiedono personale altamente qualificato. Queste caratteristiche hanno limitato l'integrazione di questa tecnica nella normale routine di laboratorio. Dopo un lungo periodo di validazione del dosaggio dell'AMM tramite LG/MS/MS (liquid chromatography/tandem spectrometry), il Centro di medicina di laboratorio Dr Risch è in grado di offrire un'analitica veloce, sufficientemente sensibile e altamente specifica.

XIC (cromatogramma di corrente ionica) e specifiche del test vedere retro.

Cromatogramma di corrente ionica (XIC)



Dopo l'aggiunta di standard deuterizzati ed un'estrazione in fase solida, gli acidi organici vengono separati dalle componenti della matrice. Una seguente derivatizzazione aumenta la selettività del metodo e rende possibile una quantificazione molto specifica dell'analita. Un frazionamento cromatografico assicura inoltre la completa separazione tra l'acido metilmalonico e il suo isomero (acido succinico). La quantificazione si svolge in base al cromatogramma di corrente ionica. La figura A mostra tre frazioni MRM; la figura B, C, D mostra le frazioni singole.

Specifiche del test

Materiale: Siero (alternativa: EDTA-, Plasma-Eparina); urina
Quantità: 500 µl
Metodo: LC/MS/MS
Frequenza: 2 volte a settimana

Responsabili

PD Dr. Med. Lorenz Risch, MPH
Dr. Phil. Il M. Zerlauth, FAMH Chimica Clinica
Ematologia e Immunologia
Martina Franzun, Chimica diplomata FH/NDS