

Kütle Spektrometresi ve Tıp Alanında Kullanımı

MASS SPECTROMETRY AND MEDICALLY USAGE

Gürsel BİBEROĞLU*

*Doç.Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Metabolizma ve Beslenme BD, ANKARA

Özet

Kütle spektrometreleri manyetik veya elektriksel bir alanda hareket eden yüklü partikülleri kütle/yük (m/z) oranlarına göre diğer yüklü partiküllerden ayırt ederek analizleme esasına göre çalışan cihazlardır. Kütle spektrometreleri uzun yıllardır kullanılan analiz metodlarından birisidir. Günümüzde bilgisayar kontrollü son derece hassas kütle spektrometreleri üretilmiş, araştırma ve analiz laboratuvarlarında kullanılan önemli cihazlar haline gelmiştir. Kütle spektrometresinin tıp alanında kullanımı son yıllarda önemli oranda artmıştır. Özellikle metabolik hastalıkların tanısında ve yenidoğan dönemindeki tarama programlarında kütle spektrometresinin önemi son derece fazladır.

Bu çalışmada kütle spektrometresinin çalışma prensibi, özellikleri ve tıp alanındaki kullanımı kısaca tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kütle spektrometresi,
Tıp alanında kullanım

T Klin Tıp Bilimleri 2003, 23:491-498

Summary

Mass spectrometer principal is based on the method of separation of charged particles moving in an electrical or magnetic field according to their mass/charge (m/z) ratio. Mass spectrometry is one of the analytical methods which is being used for a long time. Recently, mass spectrometers are very commonly used equipments in most of the research and routine laboratories. As an analytical method, mass spectrometry is especially important in identification of metabolic diseases and newborn screening.

This study includes a brief discussion of working principals, basic properties and medically usage of mass spectrometry.

Key Words: Mass spectrometry,
Medically usage

T Klin J Med Sci 2003, 23:491-498

Kütle spektrometreleri manyetik veya elektriksel bir alanda hareket eden yüklü partikülleri kütle/yük (m/z) oranlarına göre diğer yüklü partiküllerden ayırt ederek analizleme esasına göre çalışmaktadırlar.

İlk defa 1906 yılında elektronların varlığını kanıtlayarak Nobel ödülünü kazanan JJ Thomson 1913 yılında Neon'un Ne20 ve Ne22 olmak üzere iki izotopunun olduğunu göstererek kütle spektrometresinde ilk adımı atmıştır (1). Daha sonra Arthur J Dempster'ın 1918 yılında elektron iyonizasyon ve termal iyonizasyon konusunda sağladığı ilerlemeler ve Francis Aston'un 1920'li yıllarda izotoplar ve onların kütleleri üzerindeki

çalışmaları ile kütle spektrometresinde gelişmeler kaydedilmiştir. Kütle spektrometresinin ticari amaçla kullanımı 1940'lı yıllarda başlamış, petrol ve kimya endüstrisinde kullanıma sunulmuştur. Holmes ve Morrell isimli araştırmacılar 1957 yılında ilk defa gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) kombinasyonunu oluşturmuşlardır (2).

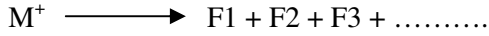
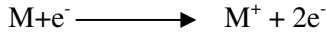
Cihazın biyokimyada kullanımı 1956 yılında steroidlerin analizi ile başlamış, 1960'lı yıllarda peptid ve nükleosidlerin sekans analizleri gerçekleştirilmiştir. İlk defa 1966 yılında Tanaka ve arkadaşlarının GC-MS ile izovalerik asidemiye tanımlamalarıyla birlikte cihaz metabolik hastalıkların tanısında kullanılmaya başlamıştır (3).

1980'li yıllarda tandem kütle spektrometresi (TMS) geliştirilmiş ve birçok alanda kullanıma sunulmuştur. Artık günümüzde yapılacak analizin özelliğine göre değişen tiplerde son derece hassas kütle spektrometreleri geliştirilmiş, tıp, kimya ve fizik gibi bilim dalı laboratuvarlarının önemli cihazları haline gelmiştir (4-6).

Prensip

Kütle spektrometreleri, yüklü partiküllerin manyetik ya da elektriksel bir alandan geçerken diğer yüklü partiküllerden m/z oranlarına göre ayrılmaları prensibine göre çalışırlar (7).

Moleküller normalde yüklü partiküller değildir ve kütle spektrometreleri iyonizasyon işlemi ile molekülleri uyararak yüklü iyonize moleküller haline dönüştürürler. Yüklü moleküller stabil değildir ve diğer moleküllerle veya bir yüzey ile temas ettikleri zaman fragmentlerine parçalanır ve yüklerini kaybederler.



M: Molekül

M⁺: Moleküler iyon

F: Fragment

Oluşan her bir iyon spesifik bir moleküler kütle ve yüke sahiptir ve m/z değerlerinin yoğunluğa (intensite) karşı gösterildiği bir spektrum ile bileşik tanımlanmaktadır (Şekil 1). Her bir iyonun yoğunluğu detektöre ulaşan miktarı ile orantılıdır ve her bileşiğin spektrumu kendine özeldir. Bilinmeyen bir örneğin analizi sonucu elde edilen spektrum referans spektrumu ile karşılaştırılarak tanımlanır (7-9).

Kütle Spektrometresinin Bölümleri

Bütün kütle spektrometreleri ,

Numune girişi

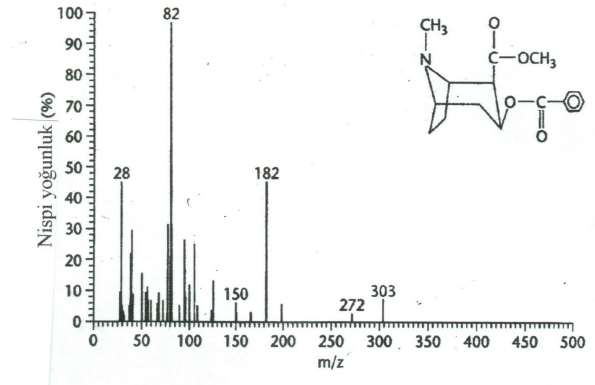
İyonlaştırma kaynağı

Kütle filtresi

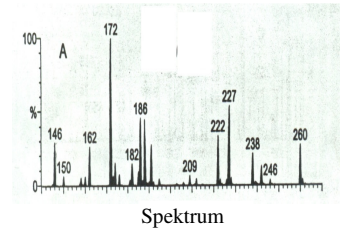
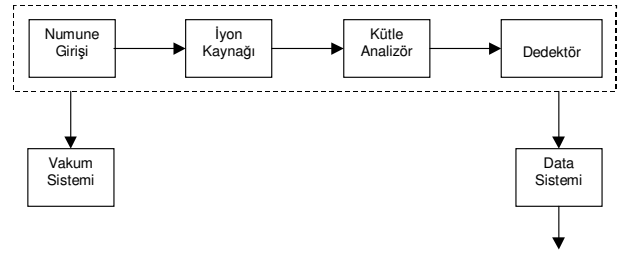
Detektör

Vakum Sistemi

Data sistemi, kısımlarından oluşmaktadır (7,9-10) (Şekil 2).



Şekil 1. Kokain bileşiğinin spektrumu (9).



Şekil 2. Kütle spektrometresinin bölümleri (şematik olarak).

1. Numune Girişi

Numunenin sisteme girişi gaz-likid kromatografi, likid kromatografi veya katı probe tarafından sağlanmaktadır.

2. İyonlaştırma Kaynağı

Numune sisteme girdikten sonra gerçekleşen ilk işlem iyonlaştırma olayıdır. İyon kaynağı incelenecek maddenin türüne ve çalışmada istenilen bilgilere göre değişmektedir. İyon kaynağı ne türde olursa olsun yüksek iyon verimi ve olabildiğince küçük enerji dağılımı sağlayacak özelliklerde olması istenir. İyonlaştırma işlemi çeşitli kaynaklarla sağlanabilir. Bunlar arasında; elektronlar, fotonlar,

Tablo 1. İyon kaynakları (10)

İyon Kaynağının Tipi	İyon Kaynağının İsmi	İyonlaştırıcı Ajan
Gaz Faz	“Electron impact” (EI) Kimyasal iyonlaştırma (CI) Alan iyonizasyonu	Yüksek enerjili elektronlar Reaktif gaz iyonları Yüksek potansiyelli elektrod
Desorpsiyon	Alan desorpsiyon “Electrospray” iyonizasyon (ESI) Matriks destekli desorpsiyon iyonizasyon (MALDI) Hızlı atom bombardımanı (FAB) “Thermospray” iyonizasyon (TS)	Yüksek potansiyelli elektrod Yüksek elektrik alanı Laser kaynağı Atomik enerji Yüksek ısı

elektriksel ark (kıvılcım), ısı, kimyasal reaksiyonlar, nükleer reaksiyonlar bilinmektedir (7,10).

İyon kaynaklarını başlıca gaz faz iyon kaynakları ve desorpsiyon iyon kaynakları olmak üzere iki grupta incelemek mümkündür (Tablo 1) (10). Gaz faz iyon kaynaklarında numune önce buharlaştırılır ve daha sonra iyonize edilir (10). Desorpsiyon kaynaklarında ise numune likid veya katı halden direkt gaz iyonlara dönüştürülür (10). Isıya dayanıksız ve uçucu olmayan bileşiklere kolaylıkla uygulanabilir olması desorpsiyon kaynaklarının avantajıdır (10). Gaz faz kaynaklar ise genellikle kaynama noktası 500 °C'nin altındaki ısıya dayanıklı numunelere uygulanmaktadır (10).

Gaz faz iyon kaynaklarından EI (11) ve CI (12-13) teknikleri en sık kullanılanlardır. Desorpsiyon tipi iyon kaynaklarından; FAB polar ve çok yüksek moleküler ağırlıklı moleküllerin analizinde kullanılmaktadır (14), ESI iyon kaynaklarının kullanımı oldukça yaygındır ve polipeptitlerin, proteinlerin ve oligonükleotidlerin analizinde sıklıkla kullanılmaktadır (15). MALDI yeni bir iyonizasyon yöntemidir ve özellikle peptitlerin analizinde kullanılmaktadır (16).

3. Kütle Analizörleri

İyon kaynağında oluşan farklı m/z oranına sahip iyonlar kütle analizörü tarafından ayırt edilerek detektöre gönderilirler. Kütle analizörleri iyon yolu (iyon kaynağında iyonize hale gelen moleküllerin detektöre ulaşmak üzere ilerledikleri bölüm) üzerinde yer alan önemli komponentlerdir. İyon yolunda

tek bir kütle analizörü yer alabildiği gibi birden fazla kütle analizörü ve bunlar arasında da bir “collision chamber” yer alabilmektedir (17-18).

Başlıca dört tip kütle analizörü bilinmektedir.

3a. Manyetik Sektör Analizörler: İyon kaynağında oluşan farklı m/z oranına sahip iyonlar aynı manyetik alana girdiklerinde farklı sapma göstermektedirler. Aynı yükteki iyonlardan hafif olanlar ağır olanlara göre daha büyük açı ile saparlar ve detektörde kaydedilirler. Manyetik ayırıcılarda tarama süresi 1 sn'den daha az olacak kadar hızlıdır (7).

3b. “Quadrupole” Analizörler (Q): “Quadrupole” analizörler seramik bir tutucu ile birbirine bağlanmış dört adet paralel metalik çubuktan oluşmuştur ve bunlar spesifik radyo frekans alanı sağlamaktadırlar. Silindir şeklindeki bu çubuklar yaklaşık 10-20 cm uzunluğunda ve 1 cm çapındadırlar. Rodların üzerinde zıt yüklenmiş potansiyel bulunmaktadır ve zıt yüklü çubuklar elektriksel olarak birbirine bağlantılıdır. Voltaj uygulandığında bu çubuk setlerinin arasında bir potansiyel farkı oluşmaktadır. Bu potansiyel farkı özel bir titreşim alanı oluşturur ve bu titreşim iyonların detektöre yönlendirilmesini sağlar (7). “Quadrupole” analizörlerin kullanımı oldukça yaygındır. Bu analizörlerin küçük boyutları, büyük manyetik güç birimlerine gerek duymayı ve az bakım gerektirmeleri bunları rutin analiz cihazları için uygun kılan özelliklerdir (9-10).

3c. Uçuş Zamanlı Analizörler (Time of flight, TOF): Bu yöntemin temeli üretilen iyonla-

rın iyon kaynağı içerisinde detektöre ulaşmak için sabit bir mesafeyi katetmeleri esasına dayanır. İyonlara 1 m uzunluğundaki bir tüp içinde hareket etmeleri için hızlandırıcı voltaj uygulanır. İyonların ağırlıkları kütleleri ile orantılıdır. Dolayısıyla değişik kütledeki iyonlar değişik hızlarda yol alır ve detektöre değişik zamanlarda ulaşırlar. Bu tip kütle spektrometreleri kompleks biyopolimerlerin pmol düzeyindeki analizleri için kullanılır (19).

3d. İyon Kapanları (Ion traps): İyon kapanları, iyon kaynağı ve kütle analizör fonksiyonlarını bir arada taşımaktadırlar (9). Bir halka elektrot ve iki uç elektrot dan oluşan üçlü bir yapısı vardır. İyon kapanlarının özelliği iyon kaynağı oyuğunda oluşan iyonların yakalanması ve saklanmasıdır. Bu da merkezdeki halkasal elektroda radyo frekans voltajı uygulanması ile gerçekleşir. Yakalanmış iyonlar daha sonra kütle seçimli olarak m/z oranlarına göre tespit edilecekleri elektron “multiplier” üzerine gönderilirler. Bu yöntem diğer kütle analizörlerine göre daha hassasdır (9).

Çarpışma odası (Collision Chamber): İyon yolunda birden fazla komponentin bulunduğu sistemlerde, komponentler arasında “collision chamber” bulunmaktadır. Birinci kütle analizörde seçilen ana iyon (parent) “collision chamber”da argon gibi inert bir gaz etkisiyle fragmentlerine ayrıştırılmakta (yavru iyon, daughter ion) ve bu fragmentler tekrar ikinci kütle analizörde analizlenmektedirler (9,18).

Detektörler

Kütle analizöründen çıkan iyonlar detektör içerisinde çevirici “dynode” tarafından elektronlara dönüştürülür. Bu elektronlar uyarıldığında fosfor tabakasına çarparak foton salınımını sağlamaktadır. Salınan fotonlar “photomultiplier”in ön tarafındaki fotokatoda çarparak yeniden elektronlar üretir ve oluşan sinyal “multiplier” tarafından kuvvetlendirilir. Elde edilen sinyal elektronik bir sistem aracılığı ile pik şeklinde data sisteminde kaydedilir (7,9).

Vakum Sistemi

Kütle spektrometreleri bir vakum sistemi altında çalışmaktadırlar. Yüksek verimli vakum pompa-

ları sistemin basıncının 10^{-5} ile 10^{-7} tor arasında sürdürülmesini sağlamaktadır (9). Düşük basınç yalnızca analizin karmaşıklaşmasını sağlayan iyon-molekül reaksiyonlarını minimuma indirmekle kalmayıp üretilen iyonların deteksiyonunu, geçişini ve kararlılığını optimize eder (10).

Ayrıştırma Teknikleri

Kütle spektrometreleri iyon kaynağına giren bütün bileşikleri ayrıştırır ve iyonlaştırır. Organik bileşiklerin içerisinde çok fazla sayıda molekül mevcuttur ve hepsinin kütle fragmenti izlenir. Bu nedenle iyi bir spektrum elde etmek amacıyla belirli bir sürede sadece saf bir bileşiğin kütle spektrumunu almak gereklidir. Dolayısı ile kütle spektrometreleri gaz veya likid kromatografi gibi bir ayrıştırma işlemi ile birlikte kullanılmaktadır.

a. Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)

Gaz kromatografi (GC) yüksek hassasiyette, hızlı analiz yapabilmesi ve çok yönlü olması açısından kompleks karışımların ayırımında kullanılan önemli enstrümental tekniklerden birisidir. GC'nin kapiller kolonları ile ayrıştırma işlemi sağlanır ve ayrıştırılan numune kütle spektrometresin de analizlenir. GC ve MS kombinasyonları (GC-MS) ile oluşturulan cihazlar organik bileşiklerin tanımlanmasında kullanılan son derece hassas ve spesifik enstrümanlardır (7,10).

b.Likit Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS)

Uçucu olmayan ve ısıya karşı dayanıksız olan bileşiklerin ayrıştırılması için kullanılır. Sıvı faz kullanıldığı için yüksek ısı gerekmemektedir (20).

“Thermospray”, LC uygulamalarından biri olup yüklü damlacıklar yaratmak esasına dayanır. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC)’den gelen kapiller tüpün ucu yüksek voltaj uygulanarak ısıtılır. Isıyı optimize etmek için de tüpün ucundan numune iyon kaynağına püskürtülerek gönderilir.

“Thermospray” iyonların sıvı halden gaz hale dönüştürüldüğü iyon evaporasyon işlemi esasına

dayanır. Bu teoriye göre damlacıklar + ve – yüklü iyonlar ile çözücü içermektedirler. Ancak iyonlardan birinin polaritesi daha baskındır. Aradaki fark ise net yüküdür. Fazla yükün damlanın yüzeyinde biriktiği varsayılmaktadır. Çözücü buharlaştıkça damlacığın küçülen çapına bağlı olarak yüzeyindeki elektrik alanı artar. Damlacık yeterince buharlaştığında damlacığın yüzeyinde biriken iyonlar yüzeyden ayrılır.

İyon “spray” (püskürtme), “thermospray”e benzeyen daha yeni bir tekniktir. Isıya daha duyarlı bileşiklerin kütle spektrometreye gönderilmesine yarar. “Thermosprayden” farklılığı püskürtme yapabilmek için ısıya gereksinim duymaması ve atmosferik basınçta çalışmasıdır. “Thermospray” ise genellikle yüksek vakum altında çalışır ve yüksek sıcaklıklara ihtiyaç duyar (20-22).

Kantitatif Analiz

Kütle spektrometresinde kantitatif doğruluk analitik işlemin başlangıcında eklenen uygun internal standart (IS) ile sağlanır. Bilinen miktarda IS eklenmesi ekstraksiyon, derivatizasyon ve analitik adımlar gibi herhangi bir aşamadaki madde kayıplarını kompanse eder. Seçilen IS’ın ilgilenilen bileşiğin kimyasal yapısına uygun olması gerekir. Böylece IS’ın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin bilinmeyen maddeninki ile uyumlu olması sağlanır. Bu sebeple döteryumla işaretlenmiş bileşiklerin IS olarak kullanımı yaygındır. Kimyasal farklılık olarak sadece izotopların kullanılması yöntemine izotop dilüsyonu denir. Bir bileşiğin analizinde kullanılan döteryumlanmış IS’ın tek farkı bir veya birkaç hidrojen atomu yerine döteryum atomlarının geçmiş olmasıdır. Gerçekte IS yapısal benzerliğinden dolayı analizlenen bileşiğinki ile aynı kromatografik alıkonma zamanına (RT) sahiptir. GC’de esas bileşikten kromatografik olarak ayrıştırılması mümkün olmadığından dolayı döteryumla işaretlenmiş IS kullanılamaz. Kütle spektrometresinde ise bu sorun değildir, çünkü döteryumun atomik kütle birimi hidrojeninkinden bir fazladır ve analizlenen numuneden kromatografik RT yerine kütleli olarak farklılık gösterir. Döteryum işaretlenmiş IS’ın m/z değeri göreceli olarak daha yüksektir (7,9).

Kantitatif değerlendirmede, numunenin yoğunluğu veya alanı IS ile orantılanarak kalibrasyon eğrisinden değerlendirilir ve sonuçlar belirlenir.

Ardışık Kütle Spektrometresi (Tandem Mass Spectrometry, Tms)

Seçimliliği yükseltmek ve deteksiyon limitlerini artırmak için MS’den önce numunenin ekstraksiyon, derivatizasyon, kromatografik ayrıştırma gibi bazı ön muamelelerden geçirilmesi gereklidir. Bunun için en uygun yöntemlerden birisi iki veya daha fazla analitik tekniğin ard arda (tandem) bağlanmasıdır (9). Bunlardan TMS nin avantajları:

- Analiz hızını artırmak
- Örnek başına maliyeti düşürmek
- Kompleks karışımlarda deteksiyon limitini artırmak
- Çoğunlukla ön işlemlere gereksinim kalmadan kompleks karışımların hızlı, hassas ve selektif olarak analizini yapmak.

TMS de karışım birinci MS’nin iyon kaynağına verilir. Burada karışımın iyonizasyonu bileşiğin kendine has karakteristik iyonlarının oluşmasını sağlar, bunlara “parent” iyonlar denir. Bilinmeyen örneğin karakteristik “parent” iyonu böylelikle seçilir ve tanımlanır. Bu incelenecek olan bileşiği karışımın diğer bileşenlerinden ayırır ve GC-MS deki kromatografik ayrıştırma basamağı gibi düşünülebilir. Böylece ayrılmış olan “parent” iyon ikinci MS analizöre gönderilir ve burada ikincil iyon fragmentlerine ayrışır. Bunlara “daughter” iyon denir. Bununda GC-MS deki MS aşamasındaki iyonizasyon basamağına karşılık geldiği düşünülür. “Daughter” iyonun ikinci MS analizör tarafından kütle analizi incelenen “parent” iyonun kendine has ve oldukça yüksek spesifiklikte tanımlanmasını sağlar (9).

Özet olarak birinci MS bir karışımdan tek bir bileşiği ayırmak için kullanılır. Bu işlem GC-MS deki GC nin fonksiyonu yerine geçer ancak arada çok önemli bir hız farkı vardır. GC-MS ile saatte 4-6 örnek çalışılırken, TMS de saatte 60 örneğe ka-

dar çıkılabilir. Ekstra zaman kayıpları önlenmiştir. Örnek ekstraksiyonu ve derivatizasyonu son derece minimize edilmiş ve hatta bazen gerekmemektedir (7,10,23).

Kütle Spektrometresinin Tıp Alanında Kullanımı

Kütle spektrometresinin tıp alanında kullanımı günümüzde gittikçe artan bir öneme sahiptir. Yüksek hassasiyeti ve güvenilirliği, analiz süresinin kısa olması ve bilgisayar kontrollü programlar sayesinde kütle spektrometreleri artık birçok hastalığın tanısına yaklaşımda son derece kuvvetli bir analitik teknik haline gelmiştir.

Günümüzde TMS nin en yaygın kullanım alanı metabolik hastalıkların tanısı (24) olmakla birlikte artık proteinler (25-27), lipitler (28-31), karbonhidratlar (32) ve DNA analizi (33) gibi birçok bileşiğin analizinde kullanılmakta ve bunlara sürekli yenileri eklenmektedir.

TMS ile yapılan açilkarnitin ve amino asit analizi ile metabolik hastalıkların tanımlanması son derece önemlidir (34-36). Bu yöntem ile; yağ asidi oksidasyon defektleri (kısa, orta ve çok uzun zincirli açil CoA dehidrogenaz eksiklikleri, kısa ve uzun zincirli 3-hidroksi açil CoA dehidrogenaz eksiklikleri, karnitin palmitoiltransferaz I ve II eksikliği) (37), organik asidemiler (izovalerik asidemi, metilmalonik asidemi, propiyonik asidemi, glutarik asidemi tip I ve II, 3-hidroksi-3-metil glutaril CoA liyaz eksikliği, 3-metil krotonil CoA karboksilaz eksikliği, multiple CoA karboksilaz eksikliği, beta ketotiolaz eksikliği), amino asit metabolizması bozuklukları (fenilketonüri, hiperfenilalaninemiler, akçağaç şurubu kokulu idrar hastalığı (38), tirozinemi tip I, homosistinüri, hipermetioninemi, nonketotik hiperglisinemi) ve üre siklusu enzim defektleri (sitrülinemi, arjininosüksinik asidüri, ornitin transkarbamoylaz eksikliği ve diğer üre siklusu enzim defektleri (39-40) gibi birçok metabolik hastalığa aynı anda ve çok kısa sürede tanı koymak mümkündür. Ülkemizde (41) ve dünyanın birçok ülkesinde TMS spektrometresi ile yenidoğan tarama programları yürütülmektedir (42-44).

ESI-TMS ile lizozomal enzimlerin analizi yapılmakta ve lizozomal depo hastalıklarının tanısında önemli bulgular elde edilmektedir. ESI-TMS ile sülfat ve glukronidlerin tayini yapılmaktadır (45).

İlaç endüstrisinde de kütle spektrometresi sıklıkla kullanılmaktadır (46).

TMS'nin diğer tarama yöntemlerine göre en önemli avantajları (47-48):

- Yaklaşık 2 dakika gibi kısa bir sürede sonuca ulaşılması.
- Kromatografik ayırtırmaya veya saflaştırmaya gerek kalmadan kompleks örneklerin analizinin sağlanması.
- Son derece hassas ve güvenilir bir yöntem olması.
- Otomasyona uygun olması ve kısa sürede çok sayıda analiz yapılabilmesi.
- Testlerin sadece bir damla kan örneğinde çalışılabilmesi ve Guthrie kartlarına alınan numunelerin posta ile laboratuvara ulaştırılma imkanının olması.
- Yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçların oranının az olması.
- Tek bir analiz ile birçok metabolik hastalığın aynı anda taranması (yağ asidi oksidasyon defektleri, amino asit metabolizması bozuklukları, üre siklusu enzim bozuklukları, organik asidemiler).
- Maliyet açısından ekonomik olması (cost effective) dır.

Sonuç olarak kütle spektrometresinin tıpta kullanım alanları günümüzde gittikçe artmakta ve tanıya yaklaşımda son derece yararlı sonuçlar elde edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Karlsson EB. The Nobel Prize in Physics. In: Levinovitz AW and Ringertz N, eds. The Nobel Prize: The First 100 Years. Imperial College press and World Scientific Publishing Co.Pte.Ltd. 2001; 31.
- Gündüz T. In Instrumental Analiz. Kütle spektrometresi. 1988; 255-75.
- Tanaka K, Budd MA, Efron ML, Isselbacher KJ. Isovaleric acidemia: a new genetic defect of leucine metabolism. Proc Natl Acad Sci USA 1966; 56:236-42.

4. Chace DH, Diperna JC, Naylor EW. Laboratory integration and utilization of tandem mass spectrometry in neonatal screening: a model for clinical mass spectrometry in the next millennium. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 432 : 45-7.
5. Clayton PT. Applications of mass spectrometry in the study of inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 2001; 24: 139-50.
6. Mosharrafa M, Stauffer WM, Reed JH. Recent developments in clinical mass spectrometry. *Biomed Sci Instrum* 1971; 8: 71.
7. Andersen BD, Wise BL. Textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1986; 197-208.
8. Cooks RG, Busch KL, Glish GL. Mass spectrometry: analytical capabilities and potentials. *Science* 1983; 21: 222(4621):273-91.
9. Lehrer M. In Kaplan LA. Mass spectrometry. St. Louis: Mosby Company, 1996; 167-84.
10. Skoog DA, Holler JF, Nieman TA. In principles of instrumental analysis. Molecular mass spectrometry. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1998; 498-534.
11. Kiser RW, Sullivan RE. Mass spectrometry. *Anal Chem* 1968; 40: 273.
12. Dougherty RC, Roberts JD, Biros FJ. Positive and negative chemical ionization mass spectra of some aromatic chlorinated pesticides. *Anal Chem* 1975; 47: 54-9.
13. Dougherty RC. Negative chemical ionization mass spectrometry: applications in environmental analytical chemistry. *Biomed Mass Spectrom* 1981; 8 : 283-92.
14. Di Donato GC, Busch KL. Derivatization of ketosteroids for fast atom bombardment mass spectrometry. *Biomed Mass Spectrom* 1985; 12: 364-6.
15. Mora JF, Van Berkel GJ, Enke CG, Cole RB, Martinez-Sanchez M, Fenn JB. Electrochemical processes in electrospray ionization mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2000; 35: 939-52.
16. Kirpekar F, Nordhoff E, Larsen LK, Kristiansen K, Roepstorff P, Hillenkamp F. DNA sequence analysis by MALDI mass spectrometry. *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 2554-9.
17. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry. Second ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994; 241.
18. Hochstrasser DF, Sanchez JC, Appel RD. Proteomics and its trends facing nature's complexity. *Proteomics* 2002; 2: 807-12.
19. Boyle JG, Whitehouse CM, Fenn JB. An ion-storage time-of-flight mass spectrometer for analysis of electrospray ions. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1991; 5: 400-5.
20. Fenn JB, Mann M, Meng CK, Wong SF, Whitehouse CM. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science* 1989; 6: 64-71.
21. Meng CK, Fenn JB. Analyzing organic molecules with electrospray mass spectrometry. *Am Biotechnol Lab* 1990; 8: 54-60.
22. Sannes-Lowery KA, Hofstadler SA. Characterization of multipole storage assisted dissociation: implications for electrospray ionization mass spectrometry characterization of biomolecules. *J Am Soc Mass Spectrom* 2000; 11: 1-9.
23. Wu Q, Cheng X, Hofstadler SA, Smith RD. Specific metal-oligonucleotide binding studied by high resolution tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 1996; 31: 669-75.
24. Rashed MS, Ozand PT, Bucknall MP, Little D. Diagnosis of inborn errors of metabolism from blood spots by acylcarnitines and amino acids profiling using automated electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatric Research* 1995; 38: 324-31.
25. Belov ME, Gorshkov MV, Udseth HR, Anderson GA, Smith RD. Zeptomole-sensitivity electrospray ionization-fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry of proteins. *Anal Chem* 2000; 72: 2271-9.
26. Lacey JM, Magera MJ, Matern D, Rinaldo P, O'Brien JF. A method for the rapid determination of transferrin isoforms by immunoaffinity liquid chromatography-mass spectrometry. *J Inher Metab Dis* 2000; 23: 178.
27. McGinley MD, Davis MT, Robinson JH. A simplified device for protein identification by microcapillary gradient liquid chromatography - tandem mass spectrometry: Electrophoresis 2000; 21: 1678-84.
28. Clayton PT. Disorders of cholesterol biosynthesis. *Arch Dis Child* 1998; 78: 185-9.
29. Mayatepek E, Zelezny R, Lehmann WD, Hammond JW, Hoffmann GF. Defects in the synthesis of cysteinyl leukotrienes: a new group of inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 2000; 23: 404-8.
30. Vreken P, Valianpour F, Overmars H. Analysis of plasmylethanolamines using electrospray tandem mass spectrometry and its application in screening for peroxisomal disorders. *J Inher Metab Dis* 2000; 23 : 429-33.
31. Whitfield PD, Sharp P, Meikle PJ, Hopwood JJ. Characterization of ganglioside storage in mucopolysaccharidosis IIIA by tandem mass spectrometry. *J Inher Metab Dis* 2000; 23: 237.
32. Berry GT, Nissim I, Lin Z, Mazur AT, Gibson JB, Segal S. Endogenous synthesis of galactose in normal men and patients with hereditary galactosaemia. *Lancet* 1995; 346: 1073-4.
33. Banks JF, Jr, Shen S, Whitehouse CM, Fenn JB. Ultrasonically assisted electrospray ionization for LC/MS determination of nucleosides from a transfer RNA digest. *Anal Chem* 1994; 66: 406-14.
34. Chace DH, Adam BW, Smith SJ, Alexander JR, Hillman SL, Hannon WH. Validation of accuracy-based amino acid reference materials in dried-blood spots by tandem mass spectrometry for newborn screening assays. *Clin Chem* 1999; 45: 1269-77.
35. Naylor EW, Chace DH. Automated tandem mass spectrometry for mass newborn screening for disorders in fatty acid, organic acid, and amino acid metabolism. *J Child Neurol* 1999; 14: 4-8.
36. Zytkevich TH, Fitzgerald EF, Marsden D, Larson CA, Shih VE, Johnson DM, Strauss AW, Comeau AM, Eaton RB, Grady GF. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: A two-year summary from the new england newborn screening program. *Clin Chem* 2001; 47: 1945-55.

37. Chace DH, Hillman SL, Van Hove JLK, Naylor EW. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1997; 43: 2106-13.
 38. Chace DH, Hillman SL, Millington DS, Kahler SG, Roe CR, Naylor EW. Rapid diagnosis of maple syrup urine disease in blood spots from newborns by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1995; 41: 62-8.
 39. Millington DS, Kodo N, Norwood DL, Roe CR. Tandem mass spectrometry: A new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 1990; 15: 321-4.
 40. Rashed MS, Bucknall MP, Little D, Awad A, Jacob M, Alamoudi M, Alwattar M, Ozand PT. Screening blood spots for inborn errors of metabolism by electrospray tandem mass spectrometry with a microplate batch process and a computer algorithm for automated flagging of abnormal profiles. *Clin Chem* 1997; 43: 1129-41.
 41. Biberoglu G, Hasanoğlu A, Tumer L, Ezgu FS, Genç B. Screening inborn errors of metabolism from dried blood spots using electrospray tandem mass spectrometry. *J Inher Metab Dis* 2001; 24(suppl 1),4.
 42. Bartlett K, Eaton SJ, Pourfarzam M. New developments in neonatal screening. *Archives of disease in childhood* 1997; 77:151-4.
 43. Bartlett K, Pourfarzam M. Tandem mass spectrometry-The potential. *J Inher Metab Dis* 1999; 22: 568-71.
 44. Rashed MS, Rahbeeni Z, Ozand PT. Application of electrospray tandem mass spectrometry to neonatal screening. *Seminars in perinatology* 1999; 23: 183-93.
 45. Scott CR, Gerber S, Zhou X, Turecek F, Gelb M. The use of electrospray ionization mass spectrometry (ES/MS) to assay for enzyme deficiencies. *J Inher Metab Dis* 2000; 23: 272.
 46. Mills KA, Johnson AW, Dietrich O, Clayton PT, Winchester BG. A strategy for the identification of site-specific glycosylation in proteins using MALDI TOF MS. *Tetrahedron Asymmetry* 2000; 11: 75-93.
 47. Bartlett K, Eaton SJ, Pourfarzam M. New developments in neonatal screening. *Archives of Disease in Childhood* 1997; 77:F151-F154.
 48. Sweetman L. Newborn screening by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1996; 42 : 345-6.
-

Geliş Tarihi: 26.09.2002

Yazışma Adresi: Dr.Gürsel BİBEROĞLU
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD
Metabolizma ve Beslenme BD
Beşevler, ANKARA