

LC-MS/MS yönteminde radyoaktivitenin amino asit sonuçlarına etkisinin deneysel araştırılması

Experimental investigation about impact of radioactivity on blood amino acid concentration measured through LC-MS / MS method

Ataman GÖNEL¹ 

¹ Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

Öz.

Amaç: Konjenital metabolik hastalıklarda komplikasyonların ortaya çıkmaması için kan amino asit ölçümünün nispeten ucuz, güvenilir ve referans metod olan LC-MS/MS ile yapılması gerekir. Bu testlerin konsantrasyonu kan matrisinde bulunan birçok molekülden etkilenebilir. Diagnostik amaçlı kullanılan radyonüklidlerin metabolik hastalıklarda kan amino asit düzeylerini nasıl etkilediği bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı Tc99m radyonüklidinden kaynaklı pozitronların LC-MS/MS ile ölçülen amino asitler üzerindeki interferans etkisinin deneysel olarak araştırılmasıdır.

Materyal ve Metod: Seviye 2 amino asit kontrol solüsyonundan 50 uL alındı üzerine 10 uL Tc99m solüsyonu eklenerek interferans çalışması yapıldı. Süpernatant LC-MS/MS cihazında okutuldu. Tc99m içerikli aynı solüsyon 1 saat boyunca radyoaktivitenin azalması beklenerek ölçüm tekrarlandı.

Bulgular: Norvalin, sarkozin, fenilalanin, alanin, treonin, alloizolösin, izolösin, metiyonin, tirozin, lösin, 1-metilhistidin, sistatinyonin, 3-aminoizobütirik asit, karnozin, valin, glutamin, ortofosfo-l-serin, glisin, gama aminobütirik asit, 2-aminoadipik asit ve sistin testlerinde %(-)0,2 - %(-)100 oranları arasında yanlış negatif sonuçlar elde edildi. 1 saat bekletilen kontrol solüsyonundan tekrar ölçüm yapıldığında 44 analit düzeyinde %(-)100 - %(+)544 arasında değişen oranlarda hedef değerden sapma gözlemlendi. Aynı kontrol solüsyonundan yapılan tekrarlı ölçümde radyoaktivite değişimine bağlı olarak %(-)138,5 - %(+)170 oranları arasında sapma gözlemlendi.

Sonuç: Metabolik hastalıklarda, sintigrafi sonrası amino asit kan düzeyinin ölçülmesi, farkında olunmadan yanlış düşük veya yüksek sonuçlara neden olabilir. Yanlış negatif sonuçlar hastalarda komplikasyon gelişme ve sekel kalma riskini arttırabilmektedir. Yanlış pozitif sonuçlar hastanın hastanede gereksiz yatış endikasyonuna ve ebeveynlerde artan psikolojik strese neden olabilmektedir. Radyoaktivite interferansının önlenmesi için LC-MS/MS cihazlarında yapılacak kan amino asit ölçümleri radyonüklid enjeksiyonundan hemen sonra yapılmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Amino asit, Radyoaktif İnterferans, Metabolik hastalık

Abstract

Background: In order to avoid complications in congenital metabolic disorders, blood amino acid measurement should be done with LC-MS/MS, which is relatively cheap, reliable and reference method. The concentration of these tests can be affected by many molecules found in the blood matrix. It is not known how radionuclide molecules affect blood amino acid levels in metabolic disorders. The aim of this article is to investigate the effect of interference of Tc99m radionuclide radioactivities on amino acids measured by LC-MS/MS.

Material and Methods: 50 µL of the level 2 amino acid control solution was taken and 10 µL of Tc99m solution was added to perform the interference study. Supernatant was measured through LC- MS/MS instrument. Measurement of supernatant solution was repeated for 1 hour.

Results: False negative results were obtained between (-)0,2% and (-)100% in blood concentrations of norvaline, sarcosine, phenylalanine, alanine, threonine, alloisoleucine, isoleucine, methionine, tyrosine, leucine, 1-methylhistidine, cystathionine, 3-aminoisobutyric acid, carnosine, valine, glutamine, orthophospho-1-serine, glycine, gamma aminobutyric acid (GABA), 2-aminoadipic acid, and cystine. When the measurement was repeated from the control solution after 1 hour, all amino acid results were deviated from the target value in the range of (-)100% to (+)544%. Deviation from (-)138.5% to (+)170% was observed depending on the change in radioactivity in the repeated measurement from the same control solution.

Conclusion: In metabolic disorders, measurement of the blood amino acid level after a scintigraphy monitoring may cause false negative or false positive results. False negative results increase the risk of developing complications and sequel in patients. False positive results lead to unnecessary hospitalization. In order to prevent the radioactivity interference, amino acid measurements should not be performed immediately after radionuclid injection.

Keywords: Amino acid, Radioactivity Interference, Metabolic disorder

**Sorumlu Yazar /
Corresponding Author**

Dr. Ataman GÖNEL

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,
Osmanbey Kampüsü 63300 Haliliye
Şanlıurfa

Tel: +90 (0414) 344 44 44,

Fax : +90 (414) 318 3209

E-mail: atamangonel@gmail.com

Geliş tarihi / Received: 19/07/2018

Kabul tarihi / Accepted: 24/07/2018

Giriş

Amino asit metabolizmasındaki enzimlerin konjenital defektine bağlı birçok metabolik hastalık tanımlanmıştır. Konjenital metabolik hastalıklarda, biyolojik örneklerde amino asitlerin doğrudan analizi nispeten ucuz, güvenilir ve referans metod olan LC-MS/MS ile yapılması gerekir (1, 2). Cihazın ölçüm prensibi, analit ve analitin parçalanmasından elde edilen daughter iyonların kuadripollerden doğru ayıklanarak detektörde kütle spektrumunun oluşmasına dayanmaktadır (3). LC-MS/MS cihazları referans metod olarak kabul edilse de matriksteki bazı moleküllerin analitin iyonizasyon verimliliğini etkilemesi ile hatalı sonuçlar meydana gelebilir (4). İlk defa 1993 yılında fark edilen istenmeyen bu duruma matriks etkisi denilir (5). Bu hatalı sonuçlar rutin takibi yapılan hastaların tanı ve tedavi seyrini değiştirebilir (Tablo 1). Hatalı yorumlanan amino asit ölçümüne bağlı yanlış düzenlenen tedavi sonrası komplikasyon kaçınılmaz olabilir. Bu nedenle, numune alım öncesi hastaya uygulanmış her türlü ilacın bu tür bir etkiyi oluşturma potansiyeli vardır (6). Tedavide kullanılan ilaçlarda olduğu gibi diagnostik amaçlı kullanılan radyonüklidler de bu etkiyi oluşturabilir. Böbrek fonksiyonlarını tespit amaçlı rutinde sık kullanılan Tc99m radyonüklidinin amino asit metabolik hastalığı olan çocuklarda rutin yapılan testleri nasıl etkilediği bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı Tc99m radyonüklidinden kaynaklı pozitronların LC-MS/MS ile ölçülen amino asitler üzerindeki etkisinin deneysel olarak araştırılmasıdır.

Materyal ve Metod

Materyaller: Çalışmada JASEM marka kalibratör (jasem, lot no: CL-5500420160830) ve rutinde sık karşılaşılan patolojik değerlere yakın olan seviye 2 kontrol solüsyonu (jasem, lot no: CL-5500420160830) kullanıldı. İnterferans çalışması için ajirojen ve intravenöz enjeksiyona hazır teknesyum 99m (Tc99m) sodyum perketat çözeltisi (Mon. Tek, Eczacıbaşı, Kocaeli, Turkey) içeren flakon kullanıldı.

Ölçüm Cihazları: Ölçümlerde Shimadzu Nexera X2 UHPLC ile entegre edilmiş Shimadzu 8045 MS/MS (Shimadzu North America, Columbia, MD) cihazı kullanıldı. Her testin elde edilen pik değerleri Shimadzu Software yazılımı ile hesaplandı.

Örnek Hazırlama: Solüsyon 1 (S1) hazırlanışı: 50 mikrolitre (uL) distile su üzerine 10 uL Tc99m solüsyonu eklendi. Elde edilen karışım üzerine 50 uL amino asit internal standart solüsyonu (ISTD) eklenip 5 saniye vortekslandı. Sonra üzerine 700 uL reagent-1 (R1, JASEM, turkey) eklenip tekrar 5 saniye vortekslandı. Elde edilen karışım 10.000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Son olarak süpernatant LC-MS/MS cihazında okutuldu.

Solüsyon 2 (S2) hazırlanışı: Seviye 2 amino asit kontrol solüsyonundan 50 uL alındı ve üzerine 10 uL distile su

eklendi. Tekrar üzerine 50 uL amino asit ISTD eklenip 5 saniye vortekslandı. Daha sonra üzerine 700 uL reagent-1 eklenip tekrar 5 saniye vortekslandı. Daha sonra 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Son olarak süpernatant LC-MS/MS cihazında okutuldu.

Solüsyon 3 (S3) hazırlanışı: Seviye 2 amino asit kontrol solüsyonundan 50 uL alındı üzerine 10 uL Tc99m solüsyonu eklendi. Tekrar üzerine 50 uL amino asit ISTD eklenip 5 saniye vortekslandı. Sonra üzerine 700 uL reagent-1 eklenip tekrar 5 saniye vortekslandı. Daha sonra 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant LC-MS/MS cihazında okutuldu.

Solüsyon 3a (S3a) hazırlanışı: Solüsyon 3 solüsyonu ilk ölçümden 60 dakika sonra LC-MS/MS cihazında tekrar okutuldu ve ölçüm sonucu solüsyon 3a olarak kaydedildi.

Bulgular

Tc radyonüklidi eklenerek yapılan interferans çalışması sonrası, homositrülin, 3-metilhistidin (3-MHIS), lizin, trans-4-hidroksi-l-prolin, triptofan, fosfoetanolin, asparajin, histidin, prolin, homosistein, 4-hidroksiprolin, sitrülin, arjinin ve glutamat testlerinde %0,7-%544 arası yanlış pozitif sonuçlar gözlemlendi. Arjininosüksinik asit, 5-hidroksilizin, fosforiletanolamin, aspartat, serin, glutamat, glutamik asit ve taurin testlerinde radyoaktivitenin azalmasına bağlı olarak % (-) 40,7% - (+) 102 arasında farklı oranlarda yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar elde edildi. Norvalin, sarkozin, fenilalanin, alanin, treonin, alloizolösin, izolösin, metiyonin, tirozin, lösin, 1-metilhistidin, sistasyonin, 3-aminoizobütirik asit, karnozin, valin, glutamin, ortofosfo-l-serin, glisin, gama aminobütirik asit (GABA), 2-aminoadipik asit ve sistin testlerinde %(-)0,2 - %100 oranları arasında yanlış negatif sonuçlar elde edildi. 1 saat bekletilen S3a solüsyonundan tekrar ölçüm yapıldığında bütün amino asit düzeylerinde %(-)100 - %(+)544 arasında değişen oranlarda hedef değerden sapma gözlemlendi. 1 saat bekletilen S3 solüsyonundan yapılan tekrarlı ölçümde radyoaktivite değişimine bağlı olarak %(-)138,5 - %(+)170 arasında sapma gözlemlendi (Tablo 1).

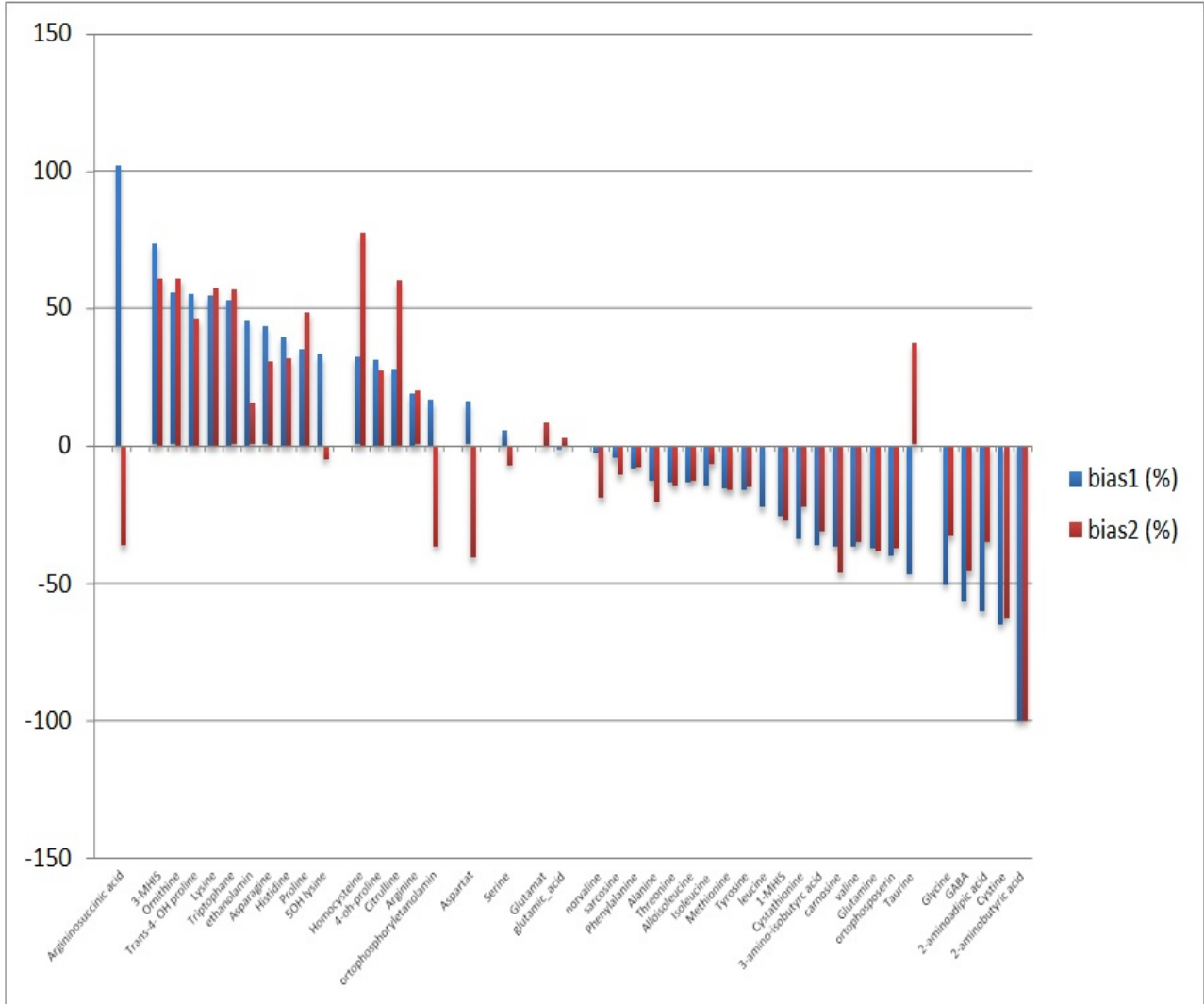
Tartışma

LC-MS/MS tekniklerinde en çok ölçüm hatasının neden olduğu durum analit ve internal standart iyonizasyon değişimidir (7). İyonizasyonun optimizasyonu internal standart kullanımı ile sağlanır. Fakat radyoaktif maddenin yaydığı pozitronların internal standartı da bozma eğilimi bulunduğundan hatalı ölçümlerle karşılaşılabilir. Metabolik hastalıklarda rutin takibi gereken amino asit düzeylerinin doğru ölçülmesi komplikasyonları önleme açısından önemlidir (8). Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi gereken metabolik hastalıklarda, sintigrafi sonrası amino asit kan düzeyinin ölçülmesi, farkında olunmadan yanlış düşük veya yanlış yüksek sonuçlara neden olabilir. Hatalı

ölçülen amino asit konsantrasyonuna göre yapılan metabolik hastalık takibinde metabolik asidoz ve irreversible komplikasyon riski artar (9). Klinisyenlere güven veren LC-MS/MS tekniği referans metod olmasına rağmen, analitin bulunduğu matris içeriğindeki karbonhidrat, lipid, protein ve tüplerde bulunan antikoagulan maddeler analit sonuçlarını etkileyebilmektedir (6). Matris etkisi olarak adlandırdığımız bu durum LC-MS/MS cihazlarının en önemli sorunudur (10). Rutinde sık kullanılan ve kanda kütle yoğunluğu oluşturan radyoopak maddeler ve radyoaktivitesi olan radyonüklidler eliminasyon süresileriyle orantılı olarak test sonuçlarını etkileme potansiyeline sahiptir. Bu çalışmada yarılanma ömrü 6 saat olan ve rutinde sık kullanılan Tc99m radyonüklidi kan amino asit düzeylerinde belli oranlarda hatalı ölçümlere neden olmuştur Tc99m'den yayılan pozitronlar iki şekilde hatalı ölçüme neden olmuş olabilir. Birinci ihtimal ortamda bulunan analitlere iyon yükü kazandırarak internal standart gibi davranmasına neden olabilir. Böyle bir durumda

internal standart konsantrasyonu yüksek olacağından analit konsantrasyonu düşük çıkacaktır. İkinci ihtimal iyonizasyon verimliliğini bozarak konsantrasyon hesabında kullanılan spektrogram alan (area) değerlerinin hatalı hesaplanmasına bağlı olarak hatalı konsantrasyon ölçümüne neden olmuş olabilir. Internal standart kullanılarak ölçümün yapıldığı durumlarda beklenmeyen yakalama (retention) zamanı ve internal standart alan değerlerindeki anormallik fark edilmesi durumunda hatalı ölçümler atlanmayacaktır. Fakat bunu yakalamak her zaman mümkün değildir.

Çalışmamızda hedef değerleri belli olan kontrol solüsyonları ile yapılan interferans çalışmasında Tc99m solüsyonunun 44 adet amino asit ve türevlerinde farklı oranlarda hatalı düşük veya yüksek sonuçlara neden olduğunu gözlemledik. Radyoaktivitenin cihaz dedektör ve diğer cihaz ekipmanlarını etkileme durumunu değerlendirmek için amino asit içermeyen dilüe edilmiş Tc99m solüsyonu ile 44 adet amino asitin ölçümü yapıldı.



Şekil 1. Kan Amino asit seviyelerinin hedef değerden sapma yüzdeleri. (bias1, bias2)

Tablo 1. Amino asit metabolik yollarındaki defekte bağlı oluşan konjenital hastalıklar

Amino asit	Hastalık	S1	S2	S3	S3a	Bias1(%) $\frac{S3 - S2}{S2}$	Bias2(%) $\frac{S3a - S2}{S2}$	Değişim % bias2-bias1	YP / YN
Homositrülin	-	0.51	1.3	6.17	8.39	374	544	170	YP
Arjininosüksinik asit	AA	0	2.87	5.81	1.82	102	-36.5	-138.5	YP,YN
3-MHS	-	0.4	26.36	45.79	42.3	73.7	60.7	-13	YP
Lizin	HL, LPI	1.29	323.4	499.8	508.9	54.5	57.3	2.8	YP
trans-4-hidroksi-l-	-	0	34.22	53.14	50	55.3	46.2	-9.1	YP
Triptofan	HD	0	199.4	304.7	312.9	52.8	56.9	4.1	YP
Fosfoetanolamin	APD	0.36	3.32	4.84	3.84	45.8	15.7	-30.1	YP
Asparajin	-	0.24	147.9	212.65	192.9	43.7	30.4	-13.3	YP
Histidin	HID	0.73	212.8	296.9	280.6	39.5	31.8	-7.7	YP
Prolin	HP1, HP2	0.55	397.8	538.1	590.7	35.3	48.5	13.2	YP
5-hidroksi-lizin	-	0	0.76	1.01	0.72	33.2	-4.8	-38	YP,YN
Homosistein	HO, MTHFRD, ISOD, MCD	0	0.73	0.96	1.28	32	77.1	45.1	YP
4-hidroksiprolin	-	0.63	37.97	49.71	48.3	30.9	27.3	-3.6	YP
Sitrülin	CI, AA, PCD, CID, OTCD,	0.86	103	131.64	165	27.7	60.1	32.4	YP
Arjinin	AR, CID, UCD	1.69	228.2	270.99	274.2	18.7	20.2	1.5	YP
Fosforiletanolamin	-	0	4.13	4.81	2.62	16.4	-36.6	-53	YP,YN
Aspartat	-	4.7	117.4	136.06	69.4	15.9	-40.8	-56.7	YP,YN
Serin	DSB	2.15	259.5	274.1	241.4	5.6	-7	-12.6	YP,YN
Glutamat	-	0	173.4	174.6	187.7	0.7	8.2	7.5	YP
Glutamik Asit	-	0	202.5	198.4	207.8	-2	2.6	4.6	YP,YN
Norvalin	-	0	4.99	4.85	4.04	-2.7	-19.1	-16.4	YN
Sarkozin	-	0	449.1	427.9	400.2	-4.7	-10.9	-6.2	YN
Fenilalanin	PKU	0.21	392.5	360.2	361.5	-8.2	-7.9	0.3	YN
Alanin	HAM, MSUD	0	735.1	640.01	581.5	-12.9	-20.9	-8	YN
Treonin	CID	6.51	208.9	181.3	178.1	-13.2	-14.7	-1.5	YN
Alloizolösin	MSUD	0	76.24	66.02	66.63	-13.4	-12.6	0.8	YN
İzolösin	MSUD	0	312.5	267.7	290.9	-14.4	-6.9	7.5	YN
Metiyonin	HO, MAD, GNM, CID, MTHFRD	0.09	71.8	60.5	60	-15.7	-16.5	-0.8	YN
Tirozin	TYRI, TYRII, TYRIII	2.37	182.4	152.7	154.5	-16.3	-15.3	1	YN
Lösin	MSUD	0	247.6	192.1	247.2	-22.4	-0.2	22.2	YN
1-Metil histidin	-	0.03	18.25	13.54	13.2	-25.8	-27.4	-1.6	YN
Sistatyonin	-	0	9.5	6.28	7.43	-34.2	-22.2	12	YN
3-Amino-izobütirik	-	0	0.22	0.14	0.15	-36	-31	5	YN
Karnozin	-	0.02	0.19	0.12	0.1	-36.6	-46.4	-9.8	YN
Valin	MSUD	0	404.1	255.8	262.6	-36.7	-35	1.7	YN
Glutamin	HAM, GSD	2.57	842.3	528.6	517.4	-37.2	-38.6	-1.4	YN
Orto-fosfo-l-serin	-	0	43.1	25.75	26.97	-40.3	-37.4	2.9	YN
Taurin	-	62.1	65.2	34.7	89.4	-46.7	37.1	83.8	YN YP
Glisin	NHG, OA, DSB	0	536.4	265.5	358.6	-50.5	-33.1	17.4	YN
GABA	-	0.09	0.15	0.06	0.08	-56.8	-45.9	10.9	YN
2-Amino-adipik Asit	-	0.5	5.9	2.33	3.8	-60.4	-35.5	24.9	YN
Sistin	-	0	1.82	0.64	0.68	-65	-62.8	2.2	YN
2-Aminobütirik Asit	-	0	54	0	0	-100	-100	0	YN

(YP: Yanlış Pozitif, YN: Yanlış Negatif) AA: Arjininosüksinik asidemi, OATD: Ornitin Aminotransferaz I Defekti HO: Hiperomitinemi HAM: Hiperamonyemi, HHS: Homositrülinemi sendromu, LPI: Lizinürik protein intoleransı HL: Hiperlizinemi, HD: Hartnup Hastalığı, GSD: Glutamin Sentetaz Defekti, NHG: Nonketotik Hiperglisinemi, OA: Organik asidemi, DSB: Serin Biyosentaz Bozukluğu, TYR I: Tirozinemi Tip I, TYR II: Tirozinemi Tip II, TYR III: Tirozinemi Tip III, APD: Alkalen Fosfat Defekti, HID: Histidaz Defekti, HP1: Hiperprolinemi Tip I, HP2: Hiperprolinemi Tip II, HO: Homosistinüri, MTHFRD: Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz Defekti, ISOD: İzole sülfid oksidaz defekti, MCD: Molibden Kofaktör Defekti, CI: Sitrülinemi, PCD: Pirüvat Karboksilaz Defekti, CID: Sitrin Defekti, OTCD: Ornitin Transkarbamilaz Defekti, CPSD: Karbamoil Fosfat Sentetaz Defekti, AR: Arjininemi, UCD: Üre Siklus Defekti, PKU: Fenilketonüri, MAD: Metiyonin Adenoziltransferaz Defekti, GNM: Glisin-N-Metiltransferaz Defekti

Sadece taurin (%62,1) ve treonin (%6,51) testlerinde belirgin konsantrasyon değişimi tespit edildi. Diğer amino asitlerde ihmal edilebilir düzeyde etkilenme oldu. Amino asit ölçüm pikleri alınırken herhangi bir sinyal değişiminin oluşmaması radyoaktif pozitron saçılımının dedektörü doğrudan etkilemediğini göstermektedir. Kontrol materyaline Tc99m solüsyonu eklenmesi ile amino asit konsantrasyonlarında % (-)100 - %(+)374 oranları (bias1) arasında sapma meydana geldi. Aynı solüsyondan 1 saat sonra yapılan ölçümlerde sapma yüzdeleri belirgin düzeyde değişim gösterdi. % (-)100 - %(+)544 oranları (bias2) arasında sapma meydana geldi (Tablo 1). 1 saat sonra molekül kütesinden bağımsız radyoaktivite azalmasına bağlı olarak % (-)138,5 - %(+)170 oranında konsantrasyon değişimi tespit edilmiştir. Analit konsantrasyon değişimi yarılanma ömrü 6 saat olan Tc99m radyonüklidinin değişen radyoaktivitesine bağlı olduğu için her ölçümde farklı bias değerlerinin elde edilmesi muhtemeldir. Literatürde daha önce tanımlanmamış olan istenmeyen bu etki "radyoaktivite interferansı" olarak adlandırılabilir. Matrix etkisinin analitik iyonlar ve uçucu olmayan matriks moleküllerinin gaz fazındaki yarışmasından kaynaklandığı daha önce deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (11). Çalışmamızda tablo 1'de gösterilen testlerin bir kısmının metabolik hastalıklar için tanısal değeri vardır. LC-MS/MS cihazında, sintigrafi çekimlerinden hemen sonra alınan kan örneklerinden amino asit analizi yapmak hatalı sonuçlara neden olabilmektedir.

Çalışmamızda fenilketonüri tanı ve takibinde kullanılan fenilalanin miktarı ihmal edilebilir düzeyde % (-)7,9 - % (-)8,2) etkilenmiştir. Akçağaç şurubu idrar hastalığı (MSUD) takibinde kullanılan valin, lösin ve izolösin düzeyleri % (-)0,2 - % (-) 36,2 oranlarında sapma göstererek yanlış negatif sonuçlar elde edilmiştir. Arjininosüksinik asidemi (AA), Homosistinüri (HO), metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) defekti, sitrin defektinde kullanılan parametrelerde %(-)13,2 - %(-)36,5 oranları arasında yanlış negatif, %27,7-%102 oranları arasında yanlış pozitif sonuçlar gözlenmiştir. Hiperlizinemi (HL), Lizinürik protein intoleransı (LPI) Hartnup Hastalığı (HD) Alkalin Fosfat Defekti (APD) Hiperprolinemi Tip I (HP1), Hiperprolinemi Tip II (HP2), Histidaz Defekti (HiD) İzole Sülfid Oksidaz Defekti (ISOD), Molibden Kofaktör Defekti (MCD) Sitrülinemi (CI), Pirüvat Karboksilaz Defekti (PCD), Ornitin Transkarbamilaz (OTC) Defekti, Karbamoil Fosfat Sentetaz (CPS) Defekti, Arjininemi (AR), Sitrin Defekti (CID), Üre Siklüs Defekti (UCD) metabolik hastalıklarının tanı ve takibinde kullanılan parametreler Tc99m radyonüklidinden %18,7-%60,1 oranlarında etkilenerek, yanlış pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Hiperamonyemi (HAM), Metiyonin Adenoziltransferaz Defekti (MAD), Glisin-N-Metiltransferaz Defekti (GNM), Tirozinemi Tip I,II,III (TYRI, TYRII, TYRIII), Glutamin Sentetaz Defekti (GSD), Nonketotik Hiperglisinemi (NHG), Organik asidemi (OA), Serin

Biyosentaz Bozukluğu (DSB) metabolik hastalıklarında %(-)0,2 - % (-)50,5 oranları arasında yanlış negatif sonuçlar elde edilmiştir. Yanlış negatif sonuçlar hastalığın prognozunun iyi olduğu algısına neden olarak komplikasyon gelişme ve sekel kalma riskini artırabilmektedir. Yanlış pozitif sonuçlar hastanın hastanede gereksiz yatış endikasyonuna ve ebeveynlerde hastalığın seyrinin kötüye gittiği algısına neden olabilir. Yanlış-pozitif olan çocukların ailelerinde uzun süreli psikolojik stres görülmüştür. (12, 13). LC-MS/MS cihazlarının hassas olması ve yenidoğan tarama programlarının genişlemesi yanlış pozitif ve negatif sonuçlarla karşılaşma riskini arttırmaktadır. Tc99m gibi diğer radyonüklidler de yaydıkları pozitronlar ile yarılanma ömrüne bağlı olarak hatalı ölçümlere neden olabilir. LC-MS/MS cihazlarında yapılacak test ölçümlerinde kullanılacak numunenin alım işlemi radyonüklid enjeksiyonu öncesinde yapılmalıdır.

Kaynaklar

1. Ombrone D, Giocaliere E, Forni G, Malvagia S, la Marca G. Expanded newborn screening by mass spectrometry: new tests, future perspectives. *Mass spectrometry reviews*.2016;35(1):71-84.
2. Saudubray J-M, Baumgartner MR, Walter JH. *Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment*: Springer; 2016.
3. Johnson JV, Yost RA, Kelley PE, Bradford DC. Tandem-in-space and tandem-in-time mass spectrometry: triple quadrupoles and quadrupole ion traps. *Analytical chemistry*.1990;62(20):2162-72.
4. Wang S, Cyronak M, Yang E. Does a stable isotopically labeled internal standard always correct analyte response?: A matrix effect study on a LC/MS/MS method for the determination of carvedilol enantiomers in human plasma. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*.2007;43(2):701-7.
5. Tang L, Kebarle P. Dependence of ion intensity in electrospray mass spectrometry on the concentration of the analytes in the electrosprayed solution. *Analytical chemistry*.1993;65(24):3654-68.
6. Kim H-J, Kang J-S. Matrix effects: Hurdle for development and validation of bioanalytical LC-MS methods in biological samples analyses. *BioDesign*.2016;4:46-58.
7. Patel D. Matrix effect in a view of LC-MS/MS: an overview. *Int J Pharm Bio Sci*.2011;2:559-64.
8. Weijs PJ, Cynober L, DeLegge M, Kreymann G, Wernerman J, Wolfe RR. Proteins and amino acids are fundamental to optimal nutrition support in critically ill patients. *Critical care*.2014;18(6):591.
9. Pourfarzam M, Zadhoush F. Newborn Screening for inherited metabolic disorders: news and views. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*.2013;18(9):801.
10. Huang Y, Shi R, Gee W, Bonderud R. Matrix effect and recovery terminology issues in regulated drug bioanalysis. *Bioanalysis*.2012;4(3):271-9.
11. King R, Bonfiglio R, Fernandez-Metzler C, Miller-Stein C, Olah T. Mechanistic investigation of ionization suppression in electrospray ionization. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2000;11(11):942-50.
12. Gurian EA, Kinnamon DD, Henry JJ, Waisbren SE. Expanded newborn screening for biochemical disorders: the effect of a false-positive result. *Pediatrics*.2006;117(6):1915-21.
13. Waisbren SE, Albers S, Amato S, Ampola M, Brewster TG, Demmer L, et al. Effect of expanded newborn screening for biochemical genetic disorders on child outcomes and parental stress. *Jama*.2003;290(19):2564-72.