

طیف سنج جرمی متوالی (MS/MS) و کاربردهای متنوع آن در آزمایشگاه های کلینیکال - بخش ۳

نسبت m/z تفکیک می شوند (با دقت و حساسیت ۲ برابر Q_4) و پس از ورود به محفظه برخورد طی فرآیند (CID) وارد دومین $Mass\ analyzer$ که از نوع ۴ قطبی یا Q_4 است می گردند تا به سمت آشکار ساز رفته و تشکیل طیف جرمی شود.

شایان ذکر است که همان طور که قبلاً اشاره شد جرم سنج های $Tandem\ Mass$ مرکب (Hybrid) از دقت و حساسیت بالاتری نسبت به جرم سنج های ساده یا $Triple\ Quadrupole$ برخوردار بوده و جهت آنالیزهای بسیار حساس و دقیق مانند شناسایی و مطالعه پروتئین ها (Proteomics) توسط طیف سنج جرمی دوگانه بیشتر از این نوع تکنولوژی ($Tandem\ Mass$) استفاده می شود. به طور خلاصه اساس علم پرتئو میکس بررسی و مطالعه بروز خارجی (ترجمه) ژن ها است که به صورت تولید پروتئین است. شایان ذکر است که علی رغم یکسان بودن ژنوم هرگونه گیاهی یا جانوری، بیان خارجی (ترجمه) ژن ها که همان پروتئین هاست بسیار متنوع بوده، لذا جهت پی بردن به ارتباطات سلولی $Intracellular\ Interactions$ و فایلینگ پروتئین های کد شده توسط ژنوم، که از جمله مهم ترین وظایف یا کاربردهای عملی علم پرتئو میکس است (عمدتاً به دو شکل $Bottom-Up$ یا $Top-Down$ انجام می شود) از جرم سنج های متوالی غیر همسان یا $Tandem\ MS$ مانند $MALDI-TOF$ یا $Orbi\ Trap$ استفاده می شود.

برخی از کاربردهای رایج طیف سنج های جرمی متوالی MS/MS در آزمایشگاه های کلینیکال (بالینی)

● **Neonatal Screening (غربالگری نوزادان)**
کاربرد سیستم در تشخیص زودهنگام بیماری های مادرزادی نوزادان به اوایل دهه ۶۰ میلادی بر می گردد که خون نوزادان تازه متولد شده را توسط فیلترهای کاغذی مخصوص به نام $filter\ Spot$ جمع آوری و به دستگاه MS/MS جهت آنالیز تزریق می کردند تا در مدت زمان کمتر از ۵

جهت شناسایی دقیق ساختار کلی و توالی (آرایش) پپتیدها از طیف سنج های ۲ گانه (متوالی) یا همان (MS/MS) استفاده می شود. این نوع طیف سنج های جرمی معمولاً از دو آنالیزور جرمی (MS) که پشت سرهم نصب شده اند تشکیل شده است. البته باید به این نکته اشاره کرد که این دو جرم سنج توسط یک محفظه برخورد میانی یا $collision\ cell$ از هم جدا شده اند.

اجزای نمونه در این محفظه برخورد طی فرآیند $Collision\ Induced\ Dissociation$ یا CID توسط بمباران اتمی با گازهای اتم های خنثی مانند هیلوم یا آرگون قطعه قطعه می شوند، سپس وارد آنالیزور جرمی ثانویه می شوند که البته این پدیده یعنی قطعه قطعه شدن ($Fragmentation$) موجب افزایش چشمگیر دقت و حساسیت در طیف سنج های جرمی می شود.

انواع مختلف طیف سنج های جرمی متوالی (MS/MS)
● ساده یا $Triple\ Quadrupole$

در صورتی که هر دوی جرم سنج های MS/MS از یک نوع مثلاً $Quadrupole$ باشد به آنها ساده می گویند که در این صورت یون های نمونه که در تجزیه گر جرمی اول یا همان $First\ Quadrupole$ بر اساس نسبت m/z تفکیک و متمرکز شده، سپس وارد محفظه $Collision\ cell$ می شود و پس از انجام فرآیند ($Fragmentation$) در CID و قطعه قطعه شدن وارد جرم سنج دوم $second\ Quadrupole$ شده و مجدداً بر اساس نسبت m/z تفکیک شده و به سمت آشکارساز می روند تا در نهایت طیف جرمی ms/ms تشکیل شود.

● ترکیبی یا Hybrid

در این نوع طیف سنج ها $Mass\ analyzer$ های اول و سوم یکسان نیست و تنها یکی از جرم سنج ها از نوع ۴ قطبی ($Quadrupole$) بوده و دیگری از نوع $Ion\ trap$ یا حتی $Orbit\ trap$ است در این صورت یون های نمونه ابتدا در جرم سنج نوع $Ion\ trap$ یا $Orbit\ trap$ بر اساس



است که با عدم تجزیه فنیل آلانین موجب تجمع فنیل آلانین و سایر مشتقات متابولیت های فنیل آلانین در بافت مغز شده و در نتیجه موجب آسیب جدی به بافت مغز و عقب ماندگی ذهنی می شود. اصولاً در صورتی که بیماران با سطح (غلظت) سرمی فنیل آلانین بالاتر از حد نرمال تعریف شده 2mg/dL در مراحل اولیه بیماری شناسائی شود، با اعمال رژیم غذایی مناسب از ایجاد عارضه مغزی جلوگیری کرد که طبق آمار به دست آمده ضریب اطمینان و حساسیت روش MS/MS در تشخیص PKU در حدود ۱۰۰٪ است. لذا از آن به عنوان روش انتخابی (Method Of Choice) در تشخیص PKU در مراکز تشخیصی و آزمایشگاه های رفرانس استفاده می شود.

● اختلالات متابولیسم کربوهیدرات ها

به طور کلی تجمع مواد سمی ناشی از متابولیسم ناقص هیدروکربن ها (C-H) که ناشی از نقص در سه آنزیم دخیل در متابولیسم گالاکتوز شامل: QALT, QALK, QALE است موجب تجمع گالاکتوز ۱- فسفات در بدن شده و منجر به گالاکتوزمیا می شود که در واقع به علت گالاکتوزمی کلاسیک یا نقص در آنزیم QALT ایجاد می شود.

در صورت بروز، این بیماری در نوزادان موجب هپاتومگالی، خون سمی، حالت تهوع، یرقان و غیره می شود که خوشبختانه با پایش (Monitoring) و اندازه گیری آنزیم QALT توسط فیلترهای کاغذی یا Filter Spot یا مستقیماً خود گالاکتوز ۱- فسفات در خون توسط TANDEM MS می توان در تشخیص زودرس این بیماری و در نتیجه جلوگیری از عوارض بعدی آن گام مهمی برداشت.

● اختلالات سیکل اوره

این چرخه موجب تجزیه و دفع مقدار اضافی نیتروژن تولیدی حاصل از متابولیسم آمینه اسیدها، پروتئین ها و سایر مشتقات نیتروژن دار می شود که در صورت بروز هرگونه اختلال در ۶ آنزیم و ۲ ناقل (Transporter) دخیل در این سیکل، باعث افزایش غلظت این مواد سمی و آمونیاک در خون شده و منجر به استفراغ، تهوع، سرگیجه، کاهش سطح هوشیاری و در انتها مرگ یا کما می شود. از این رو شناسائی به موقع و زود هنگام نقص های آنزیمی سیکل اوره توسط سیستم های TANDEM MS ضروری و حیاتی است.

دقیقه حدود ۴۰ تا ۵۰ نوع از انواع ناهنجاری های متابولیکی یا آنزیمی را در نوزادان شناسایی کند.

هم اکنون کاربرد این دستگاه ها که عمدتاً از نوع Triple-Quad یا MALDI TOF است در مرکز آزمایشگاه های رفرانس، طبی کودکان و بیمارستان های تخصصی بسیار رایج شده است که در مقایسه با سال های گذشته این پیشرفت مرهون سرعت بالا و دقت زیاد این سیستم ها در تشخیص زود هنگام ناهنجاری های متابولیکی نوزادان است و نقش شایانی نیز در کاهش تحمیل هزینه های سنگین دارو و درمان به جامعه ایفا می کند. از جمله این ناهنجاری های متابولیکی می توان به PKU، ناهنجاری های (اختلالات) متابولیسم کربوهیدرات ها، ارگانیک اسیدها، اسیدهای چرب، اوره و ذخیره لیزوزومی اشاره کرد.

● اختلالات آمینه اسیدها (Amino Acid Abnormalities)

از آنجائی که آمینو اسیدها ساختار اصلی (Back Bone) تمامی پروتئین ها و به طبع مشتقات آن ها شامل گلیکو پروتئین ها، لیپوپروتئین ها و غیره را که نقش مهمی در ساختار آنزیمیاتیک و بیوشیمیایی و متابولیکی بدن را دارند تشکیل می دهند لذا بررسی دقیق و سریع آنها حائز اهمیت ویژه است به ویژه زمانی که به علت انباشته شدن بیش از حد این ترکیبات در بدن موجب سمی شدن خون یا سپتیمی شوند می توان این ترکیبات را توسط سیستم های TANDEM MS به موقع شناسائی و کنترل کرد.

● فنیل کتوزی (PKU)

یکی از شایع ترین اختلالات متابولیکیست که موجب عقب ماندگی ذهنی به علت تجمع و افزایش سطح سرمی فنیل آلانین در مغز ایجاد می شود را می توان توسط دستگاه طیف سنج جرمی مورد شناسائی زود هنگام قرارداد. علت اصلی این بیماری نقص در آنزیم فنیل آلانین هیدوکسیلاز

● اختلالات ذخیره لیزوزومی

اختلالات ساختاری و شیمیایی در عملکرد لیزوزوم ها شامل کارکرد ناقص بیورسپتوها، ترانسپورترها، بیومارکر ها، کوآنزیم ها و غیره موجب تجمع مواد دفعی سمی در داخل سلول شده و منجر به اختلالات ارگانیک و مرگ سلولی می شود. این اختلالات لیروزومی رامی توان به کمک تکنیک های خاص و پیچیده توسط دستگاه طیف سنج جرمی دوگانه یا TAMDEN MS شناسائی، کنترل و از پیشرفت بیشتر بیماری جلوگیری کرد.

● مانتورینگ (پایش) سطح سرمی ویتامین D

از آنجائی که ویتامین D نقش بسیار مهم و تعیین کننده ای در ساختار و استحکام اسکلت و استخوان های بدن دارد لذا بررسی دقیق و اندازه گیری غلظت سرمی آن بسیار ضروری است ویتامین D پس از فرایند هیدروکسیلاسیون در کبد تبدیل به 1,25-OH VIT D می شود که در واقع فراوان ترین شکل شیمیائی این ویتامین در گردش خون است.

جذب این ویتامین از طریق خوراکی و پوستی (در معرض نور آفتاب بودن) بوده و کاهش غلظت سرمی آن در خون موجب نرمی استخوان، ناهنجاری های استخوانی و بد شکلی های استخوانی (OSTEO MASIS) می شود. از طرفی افزایش غلظت سرمی آن در خون نیز با توجه به محلول در چربی بودن این ویتامین موجب خون سمی (سپتی سمی) می شود. روش های HPLC، الکتروفورزیس، کاپیلاری اکتروفورزیس و آنزیماتیک مانند CIA و RIA جهت شناسایی و بررسی غلظت سری، 25 OH VIT D بکار می روند ولی روش شناسایی توسط TANDEM MS با

توجه به تکرار پذیری، دقت و حساسیت بالا و عدم واکنش متقاطع (Cross Reaction کماکان روش انتخابی یا Gold Standard است.

● تشخیص پروتئین های (مارکر های) سرطانی

اصولا کاربردهای تشخیصی TANDEM MS نامحدود بوده و حیطة عملکرد این دستگاه ها و انواع MS/MS بسته به نوع کاربردهای (Application) متفاوت، انعطاف پذیر بوده و می توان با Set up نمودن، بهبود مستمر روش آنالیز (Optimization) و اعتبار بخشی (Validation) روش کار (Methodology) آن ها را تعمیم (Development) و گسترش داد. دقت و حساسیت دستگاه های TANDEM MS در شناسایی و تشخیص مارکر های بیولوژیکی در حد بسیار بالائی است که می توان با بهره گیری از این کارائی بالا و دقیق در شناسائی و تشخیص مارکر های سرطانی تخمدان، پروستات، خون و غیره کمک شایانی به تشخیص زود هنگام و بعضاً درمان این بیماری مهلک به عمل آورد.

منابع:

1-Boyd, Robert K. (۱۹۹۴). "Linked-scan techniques for MS/MS using tandem-in-space instruments". Mass Spectrometry Reviews ۱۳ (۵-۶): ۳۵۹-۴۱۰. -

2-J. Throck Watson and O. David Sparkman (۲۰۰۷). Introduction to Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications, and Strategies for Data Interpretation, ۴th Ed. Chichester: Jonh Wiley & Sons. ISBN ۹۷۸-۰-۰۰-۴۷۰-۰۵۱۶۳-۴-۸.

طرح اشتراک نیم بهاء

eshterak.ir

معاونت مطبوعاتی و اطلاع رسانی وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی با همکاری شرکت پست و مجریان توزیع در بخش خصوصی با هدف گسترش فرهنگ مطالعه و حمایت از مطبوعات

طرح تخفیف اشتراک تا سقف ۵۰ درصد را اجرا می کند.

- تسهیلات برای اشتراک روزنامه ها و مجلات به ترتیب تا سقف ۵۰۰ و ۲۵۰۰ تومان به ازای هر نسخه
- هزینه ارسال عادی از مشترک دریافت نمی شود.
- برای ثبت اشتراک کافی است به سایت eshterak.ir مراجعه نمایید.
- تاکنون بالغ بر یکصد و پنجاه نشریه به این طرح پیوسته اند.
- افزایش قیمت نشریه در طول دوره اشتراک مشمول مشترکان قبلی نمی شود.

(اشتراک نشریات در این مرحله صرفاً در تهران پذیرفته می شود)