

DEVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE METHODE DE DOSAGE DES HORMONES THYROÏDIENNES (T3 ET T4) ET METABOLITES PAR UHPLC MS/MS.

Sylvie Puel^{1,2}, Marlène Z. Lacroix^{1,2}, Béatrice B. Roques^{1,2}, Catherine Viguié^{1,2}

¹INRA, UMR1331, Toxalim, Research Centre in Food Toxicology, F-31027 Toulouse, France

²Université de Toulouse, INP, ENVT, EIP, UPS, UMR1331, Toxalim, F-31076 Toulouse, France

Les pathologies de la fonction thyroïdienne chez l'homme augmentent régulièrement sans que l'on en comprenne toutes les causes. Un des mécanismes pouvant en partie expliquer ce phénomène serait une interaction entre des composés chimiques de notre environnement et/ou alimentation et le métabolisme hépatique des hormones thyroïdiennes (HT). Les scientifiques doivent donc pouvoir disposer d'outils analytiques puissants permettant de mieux appréhender qualitativement (voies métaboliques régulées) et quantitativement (cinétique des hormones) le métabolisme des HT.

La thyroxine (T4) et la triiodotyronine (T3) sont généralement dosées par des techniques immunologiques qui ne permettent pas la quantification simultanée de ces hormones et de leurs métabolites. Très peu de méthodes s'adressent aux métabolites des HT rendant difficile l'étude qualitative de ces voies métaboliques des HT mises en jeu par des substances agrovétérinaires.

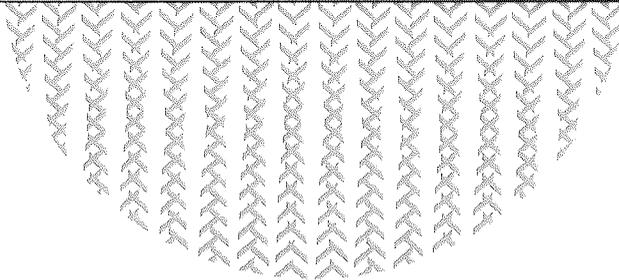
Afin de répondre à ce besoin, notre objectif a été de développer et optimiser une nouvelle méthode de dosage de la T3, de la T4 et de six de leurs métabolites (T2, rT3, Tri et TetraAAC, Dit et MIT) par chromatographie liquide ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse (UHPLC/MS), dans le cadre de la mise en place de dispositifs expérimentaux in vitro et in vivo visant à caractériser et quantifier l'impact de substances agrovétérinaires sur le métabolisme hépatique des HT.

Les paramètres d'ionisation et de fragmentation ont été optimisés pour chacune des molécules sur un spectromètre de masse de type triple quadripole (Xevo® Waters). Les conditions de séparation des 8 molécules ont été mises au point en UHPLC. Une nette séparation associée à une bonne résolution des pics des 8 molécules ont été obtenues sur une colonne C18 avec un gradient d'élution H₂O/AcN acidifié. Une méthode d'extraction applicable à des matrices biologiques complexes de type plasma a ensuite été développée. Compte tenu des propriétés physicochimiques des HT, une extraction en phase solide a été privilégiée. Les meilleures performances globales en termes de rapports signal sur bruit et de rendements d'extraction ont été obtenues avec des cartouches de type silice échangeur de cation (Strata X-C® Phenomenex).

Au bilan, notre méthode permet le dosage simultané de 2 HT (T4 et T3) et de 6 métabolites représentant au moins 3 voies métaboliques différentes : désamination, décarboxylation, désiodation. Ces performances sont prometteuses du point de vue de la faisabilité pour des matrices biologiques et de la limite de détection compatible avec la quantification des HT à des concentrations physiologiques.

Mots-clés

Dosage hormones thyroïdiennes UHPLC LC/MS



Santé Animale : Actualités et Qualité



Journées d'Animation Scientifique
Département Santé Animale
22 - 25 mai 2011
Fréjus



ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

