

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЗОКСИПИРИДИНОЛИНА В МОЧЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Остеопороз – системное заболевание скелета, характеризующееся уменьшением костной массы и нарушением микроархитектоники костной ткани, ведущими к повышению хрупкости кости и появлению переломов. Большой интерес к остеопорозу, прежде всего, вызван высокой распространенностью среди населения, как самого заболевания, так и его последствий – переломов периферических костей и позвоночника, которые становятся причиной временной нетрудоспособности, инвалидности, а также повышенной смертности.

В последнее время широкое распространение для диагностики остеопороза получили методы денситометрии (рентгеновской и ультразвуковой). Важными положительными моментами денситометрии являются простота, неинвазивность и быстрое получение результата. Однако данный метод оказывается малоэффективным при выявлении остеопороза на самых ранних стадиях, когда заметного изменения плотности костной ткани еще не произошло. Также он совершенно не подходит для немедленной оценки адекватности лечения, так как улавливает изменения в плотности костной ткани только через год и более. В связи с этим, наиболее приемлемым является определение биохимических маркеров метаболизма костной ткани.

Одними из основных маркеров резорбции кости являются пиридинолин и дезоксипиридинолин. Изменения профиля пиридинолинов в моче наблюдается уже через несколько месяцев после начала лечения данного заболевания. Наиболее специфичным для костей является ДПИД, поскольку он содержится преимущественно в костях и лишь в небольшом количестве в дентине, аорте и связках.

Целью данного исследования было разработать подход, для определения дезоксипиридинолина в моче. В качестве стандарта использовался дезоксипиридинолин производства Toronto Research Chemicals. Разделение дезоксипиридинолина осуществляли с использованием обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонке Hypersil Gold. С целью разработки высокочувствительного ВЭЖХ метода нами было рассмотрено ряд условий элюирования данной колонки. В частности, были апробированы классические модели разделения в растворе 0,1% муравьиной кислоты с градиентами ацетонитрила и метанола. Оптимальные параметры разделения показало использование ион-парного реагента гептафтормасляной кислоты с градиентом метанола.

При разработке метода в качестве детектора использовали гибридный масс-спектрометр высокого разрешения LTQ Orbitrap Discovery. Детектирование проводили в режимах полного сканирования и селективного мониторинга ионов с поиском целевого иона с m/z 413.2031, а также в режиме тандемной масс-спектрометрии.

Разработанный подход был апробирован для определения дезоксипиридинолина в моче с помощью метода dilute-and-shoot (свободная фракция), а также с предварительным кислотным гидролизом и твердофазной экстракцией (общая фракция). Показано, что данный ВЭЖХ-МС метод позволяет детектировать дезоксипиридинолин в образцах мочи с высокой специфичностью и чувствительностью.

Bulak J. D, Tamashevskaya A. V., Syakhovich V. E.

LC-MS ANALYSIS OF DEOXYPYRIDINOLINE IN HUMAN URINE

Deoxypyridinoline is a biochemical marker for osteoporosis. We have developed a method for determining the marker in urine by LC-MS.