

Avaliação de cortisol em plasma humano por CLAE-EM/EM e aplicação em população de referência

Andressa C. dos S. Marques¹ (PG), Bruna Brito¹ (IC), Gabriel R. A. Carneiro¹ (PQ), Monica C. Padilha^{1*} (PQ)

*email: monicapadilha@iq.ufrj.br

¹Laboratório Brasileiro de Controle de Dopagem (LBCD), Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Palavras Chave: cortisol, cromatografia líquida, espectrometria de massas.

Introdução

O cortisol é um hormônio endógeno formado na glândula suprarrenal e apresenta funções metabólicas importantes, tais como regulação do ciclo circadiano, participação na gliconeogênese, entre outros. A variação do nível de cortisol, seja causado por tumores ou uso indiscriminado de medicamentos, leva a diversas disfunções no organismo, tornando-se importante sua correta quantificação. Os métodos comumente realizados para avaliação de cortisol no sangue são realizados por imunoenaios, os quais apresentam baixa especificidade e sensibilidade¹. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de metodologia para quantificação de cortisol em plasma humano utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas, para posterior uso em fins diagnósticos. A metodologia foi realizada utilizando 50 µL de plasma das amostras, adição de 75 µL de água tipo I, padrão interno (cortisol-D4 na concentração de 150 ng mL⁻¹) e 375 µL de acetonitrila gelada. Foi realizada centrifugação, retirada do sobrenadante, que foi seco sob atmosfera de N₂. Os recipientes finais foram ressuspensos na proporção utilizada no início da corrida cromatográfica, novamente centrifugados e então o sobrenadante passado para vials.

A validação do método seguiu as figuras de mérito mencionadas na RDC 166/2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária².

A análise cromatográfica foi realizada injetando 10 µL de amostra em um sistema cromatográfico com coluna de fase reversa do tipo C8 (1,7 µm, 50 × 2,1 mm). A eluição foi em modo gradiente utilizando água com formiato de amônio 5 mM e metanol, ambos com 0,1% de ácido fórmico. O tempo total de corrida foi de 16 minutos.

O método foi aplicado para quantificação de cortisol de uma população amostral de 22 pessoas (16 homens e 6 mulheres).

Resultados e Discussão

A quantificação do cortisol foi realizada por SRM (*selection reaction monitoring* – Figura 1(a)) e com

uso de curvas analíticas utilizando fluido corporal simulado (*simulated body fluid* - SBF)³ com adição de 7% m/v de albumina bovina (Figura 1(b)). A comparação da inclinação das curvas usando a matriz sintética e real indica que a quantificação pode ser realizada utilizando o SBF.

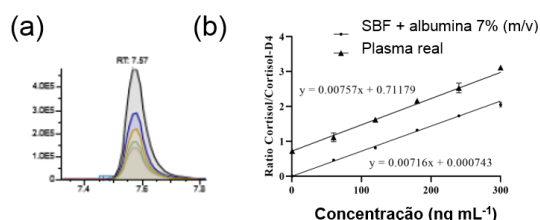


Figura 1. (a) pico cromatográfico do cortisol com suas transições de confirmação (b) comparação de curvas analíticas em matriz sintética e matriz real.

Os limites de detecção e de quantificação do método foram 33 pg mL⁻¹ e 150 pg mL⁻¹, respectivamente. A aplicação do método na população de referência indicou maiores valores de cortisol diurno em mulheres, o que pode ser indicativo do uso de hormônios estrógenos. Um dos voluntários do sexo masculino apresentou valores baixos de cortisol, o que pode ser devido ao uso de medicamentos para aumento de testosterona.

Conclusões

O método foi devidamente validado e foi possível quantificar o cortisol utilizando baixo volume de amostra. O uso de hormônios estrógenos alteram o valor desse esteroide.

Como perspectivas, serão quantificados outros esteroides nestes voluntários para avaliação de mudança metabólica.

Agradecimentos

CAPES, PGQU- UFRJ e LBCD-UFRJ.

¹ Casals, M. D.; Hanzu, F. A. *Ann. Lab. Med.*, **2020**, 40, 285.

² Brasil. *Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **2017**, 1-21.

³ Kokubo, T.; Takadama, H. *Biomaterials*, **2006**, 27, 2907.