

ORMONI STEROIDEI URINARI in LC-MS/MS – Codice LC91210 (Cortisolo, Aldosterone, Estrone, beta-Estradiolo, Cortisone)

INTRODUZIONE

Ormoni e meccanismi dell'azione ormonale

Il termine “ormone” indica una sostanza che, prodotta da una cellula endocrina cioè a secrezione interna, viene liberata nel circolo sanguigno provocando risposte funzionali in cellule localizzate a varia distanza dalla sua sede di produzione. Per l'espletamento dell'azione ormonale sono necessari, oltre alla sintesi e alla secrezione, il trasporto nel circolo sanguigno e la destinazione nei tessuti bersaglio dove sono presenti i recettori, strutture specializzate che riconoscono lo stimolo specifico e ne traducono il messaggio.

I recettori possono essere sulla membrana della cellula o all'interno di essa; l'ormone che non può attraversare la membrana (per es., un peptide) si lega a recettori localizzati sulla membrana plasmatica, mentre quello che diffonde attraverso la membrana plasmatica all'interno della cellula (steroidi, iodotironine) si lega a recettori intracellulari (in genere situati nel nucleo). Indipendentemente dalla struttura e dal tipo di ormone, i recettori hanno caratteristiche comuni: tutti presentano una regione in grado di riconoscere e legare l'ormone e un'altra deputata alla generazione di un segnale intracellulare che traduce il messaggio ormonale in risposte funzionali della cellula bersaglio; anche le proprietà che regolano il legame dell'ormone (affinità, specificità, saturabilità, capacità di trasduzione, cioè di evocare effetti specifici) sono comuni per tutti i recettori.

La comunicazione affidata agli ormoni avviene per la maggior parte attraverso il circolo ematico (azione endocrina), ma, in parte minore, anche mediante altre modalità. Alcuni ormoni agiscono infatti sulle cellule immediatamente circostanti la cellula che li produce (azione paracrina); in altre evenienze, invece, interagiscono con la stessa cellula secernitrice (azione autocrina); altri ormoni, infine, vengono prodotti dai neuroni del sistema nervoso (azione neurocrina, che in realtà rappresenta una forma specializzata di azione paracrina). Sono stati identificati più di cinquanta ormoni, le cui caratteristiche funzionali vengono determinate dalla diversa struttura molecolare. In base a questa, essi vengono suddivisi in quattro grandi categorie: proteine e peptidi; steroidi; derivati dagli amminoacidi; derivati dagli acidi grassi polinsaturi.

Gli ormoni, interagendo con i recettori localizzati a livello dei tessuti bersaglio, evocano risposte specifiche: regolano le attività enzimatiche, l'espressione genica e la sintesi delle proteine.

Classificazione ormoni steroidei

Sono liposolubili, diffondono liberamente all'interno della cellula ed esercitano la loro azione dopo essersi legati a recettori localizzati nel nucleo. La loro struttura chimica, che è policiclica, deriva dal colesterolo. Sono suddivisi, in base alla sede di produzione, in steroidi gonadici e surrenalici; vengono inclusi in questa categoria anche la vitamina D e i suoi analoghi. Gli ormoni steroidei prodotti dal surrene e dalle gonadi si dividono in sottogruppi in base al numero di atomi di carbonio del nucleo steroideo: il progesterone, i glucocorticoidi e i mineralcorticoidi derivano per sintesi successive dal pregnano, una sostanza semplice che contiene 21 atomi di carbonio, mentre gli estrogeni provengono dal nucleo dell'estrano che ha 18 atomi di carbonio, e gli androgeni dal nucleo dell'androstano, che contiene 19 atomi di carbonio.

La sintesi degli ormoni steroidei segue tappe biosintetiche identiche sia nel surrene sia nell'ovaio o nel testicolo e la differenziazione nelle tre ghiandole endocrine dipende da una diversa distribuzione tessuto-specifica degli enzimi di sintesi. La steroidogenesi passa attraverso una serie di tappe enzimatiche, in

massima parte catalizzate dagli enzimi citocromo P450 (cP450) localizzati all'interno delle cellule, e inizia dalla trasformazione del colesterolo in pregnenolone. Questa tappa enzimatica è la più importante in quanto controlla la sintesi di tutti gli ormoni steroidei; anche in presenza di notevoli quantità di colesterolo, la possibilità di proseguimento della via biosintetica appare limitata, poiché dipende dall'attività degli enzimi cP450. Il pregnenolone formato fuoriesce dal mitocondrio e viene trasferito sul reticolo endoplasmatico, dove subisce le successive modificazioni enzimatiche da parte dei cP450. Il pregnenolone è quindi il precursore comune dei principali ormoni steroidei.

Gli androgeni vengono sintetizzati dalle cellule di Leydig del testicolo, dalla zona reticolare del surrene e dalle cellule della teca del follicolo e dall'interstizio dell'ovaio. La via biosintetica che procede dal pregnenolone segue due possibili direzioni: la prima via consiste nella trasformazione del pregnenolone in 17-idrossipregnenolone, di questo in deidroepiandrosterone, quindi in androstenediolo, e infine in testosterone, che è il principale ormone maschile. La seconda via consiste nella trasformazione del pregnenolone in progesterone, di questo in 17-idrossiprogestosterone e quindi nella formazione di androstenedione, a sua volta successivamente trasformato in testosterone. In alcuni tessuti il testosterone necessita di un'ulteriore reazione di trasformazione in 5α -diidrotestosterone per esplicare la sua attività. Nel surrene dove, rispetto al testicolo, vi è una diversa distribuzione degli enzimi che catalizzano queste vie biosintetiche, la maggior parte della produzione di androgeni surrenali è diretta verso l'elaborazione di precursori del testosterone e, in maniera particolare, di deidroepiandrosterone e androstenedione, che hanno un'attività ormonale di più modesta entità. Circa il 50% del pregnenolone metabolizzato nella corteccia surrenale viene convertito in deidroepiandrosterone.

Gli estrogeni e il progesterone, i principali ormoni femminili, sono gli steroidi prodotti in maggiore quantità dall'ovaio e sono coinvolti nella regolazione del ciclo mestruale e nella gravidanza. La formazione di questi steroidi deriva da tappe enzimatiche diversificate nei compartimenti cellulari dell'ovaio: follicoli e cellule interstiziali. Le cellule della granulosa, che contornano l'ovulo nel contesto del follicolo, subiscono la trasformazione in cellule luteiniche dopo l'ovulazione e il prodotto della trasformazione del pregnenolone è rappresentato dal progesterone. Le cellule della teca del follicolo e quelle interstiziali producono in prevalenza androstenedione attraverso le vie biosintetiche che sono già state descritte per gli androgeni. Anche le tappe enzimatiche coinvolte nel successivo destino metabolico dell'androstenedione hanno una caratteristica localizzazione cellulare: infatti il testosterone è sintetizzato solamente nelle cellule dell'ilo, mentre all'interno delle cellule della granulosa l'androstenedione viene trasformato in testosterone e a sua volta in estrone e estradiolo. Le cellule interstiziali hanno anche la capacità di trasformare il testosterone in diidrotestosterone.

Al contrario degli ormoni peptidici, la secrezione degli steroidi in circolo non procede attraverso un loro immagazzinamento all'interno delle cellule ma segue immediatamente la sintesi. Essi viaggiano nel plasma legati a proteine di trasporto specifiche, dotate di alta affinità, quali la globulina legante il cortisolo (CBG, Cortisol binding protein), le globuline leganti gli steroidi sessuali (SHBG, Sex hormone binding protein) e la proteina legante la vitamina D (DBP, Vitamin D binding protein). La CBG è una glicoproteina in grado di legare con uguale affinità cortisolo e progesterone. Le SHBG sono globuline che legano con elevata affinità il testosterone, mentre l'estradiolo è legato in prevalenza all'albumina. Il 98% degli steroidi gonadici, il 95% del cortisolo e il 50% dell'aldosterone circolano legati alle rispettive proteine di trasporto. Poiché solo l'ormone libero è in grado d'interagire con i recettori, e quindi di esprimere l'attività biologica, il legame plasmatico costituisce un'importante fase di riserva nel metabolismo di questi ormoni. Gli steroidi sintetici impiegati in terapia solitamente non contraggono legame con le proteine di trasporto e sono quindi in grado di esercitare effetti biologici immediati. I glucocorticoidi e i mineralcorticoidi vengono metabolizzati attraverso reazioni enzimatiche che determinano la perdita della loro attività ormonale oppure attraverso coniugazione con gruppi chimici che li rendono idrosolubili e ne determinano l'eliminazione con le urine. L'unica reazione metabolica che non si traduce in una perdita dell'attività biologica è rappresentata dalla conversione del testosterone in diidrotestosterone nelle cellule bersaglio. *

*Bibliografia

Enciclopedia della Scienza e della Tecnica (2007)

Andreani, Cassano 1977: Andreani, Domenico - Cassano, Cataldo, *Trattato italiano di endocrinologia*, Roma, SEU, 1977.

Becker 1995: Becker, Kenneth L., *Principles and practice of endocrinology and metabolism*, 2. ed., Philadelphia, Lippincott, 1995 (1. ed.: 1990).

Faglia 1998: Faglia, Giovanni, *Malattie del sistema endocrino e del metabolismo*, 2. ed., Milano, McGraw-Hill, 1998 (1. ed.: 1993).

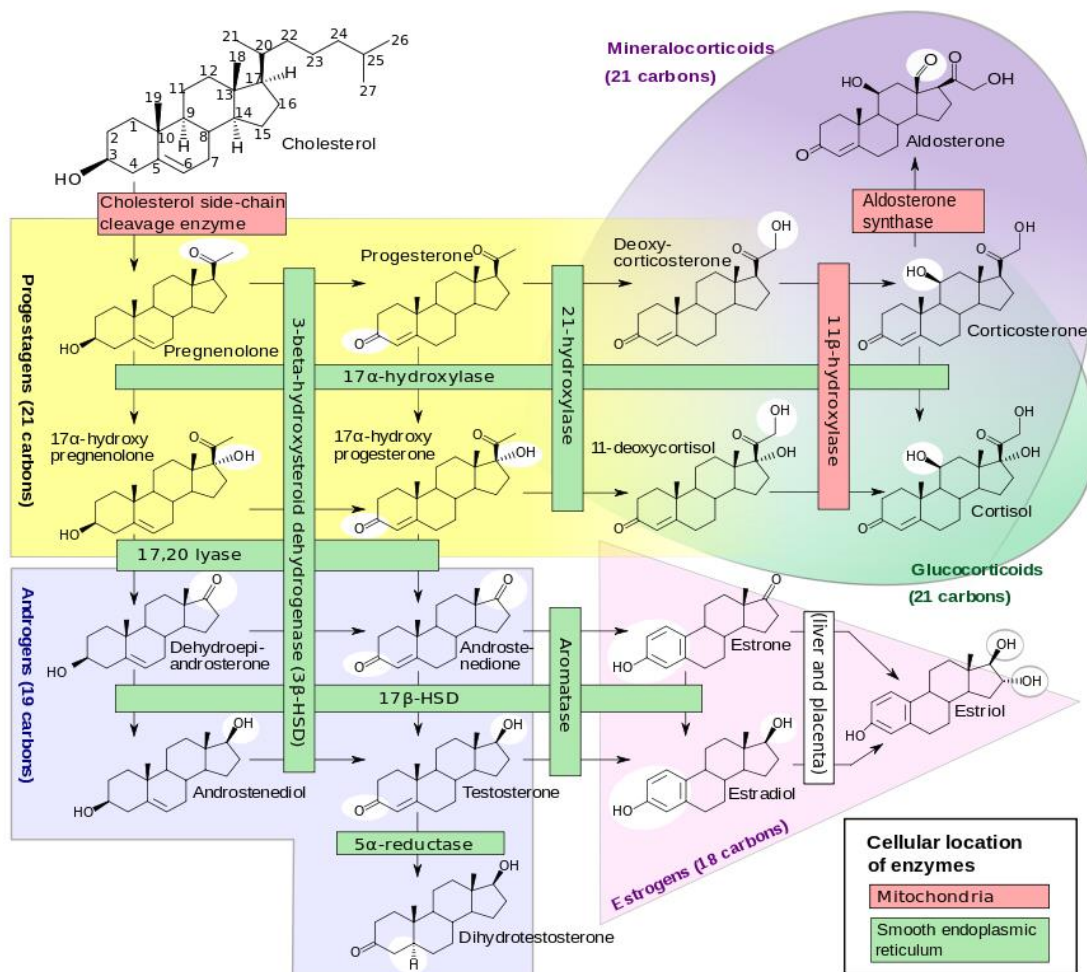
Felig 1995: Felig, Philip - Baxter, John D. - Frohman, Lawrence A., *Endocrinology and metabolism*, 3. ed., New York, McGraw-Hill, 1995 (1. ed.: 1981).

Giusti, Serio 1988: Giusti, Giorgio - Serio, Mario, *Endocrinologia, fisiopatologia e clinica*, Firenze, USES, 1988.

Pinchera 1991: Pinchera, Aldo e altri, *Endocrinologia e metabolismo. Fisiopatologia e clinica*, Milano, Ambrosiana, 1991.

Williams 1998: Williams, Robert H., *Williams textbook of endocrinology*, 9. ed., edited by Jean D. Wilson e altri, Philadelphia-London, Saunders, 1998 (1. ed.: 1950).

Schema della via biosintetica



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel. +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com



Questo prodotto adempie a tutte le esigenze della Direttiva 98/79/CE del 27/10/1998 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD). La dichiarazione di conformità CE è disponibile su richiesta.

N° 003	Ormoni steroidei urinari in LC-MS/MS	06/2024
--------	--------------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

Gli Ormoni steroidei vengono estratti liquido-liquido con un opportuno reagente, portati a secco e ripresi con una opportuna soluzione prima di venire iniettati in LC-MS/MS.

Recupero :

Cortisolo	107,6%
Aldosterone	100,3%
Estrone	102,0%
Beta-Estradiolo	98,6%
Cortisone	113,6%

Sensibilità del Metodo (LLOD) :

Cortisolo	3,0 pg/ml
Aldosterone	3,0 pg/ml
Estrone	3,0 pg/ml
Beta-Estradiolo	3,0 pg/ml
Cortisone	3,0 pg/ml

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ) :

Cortisolo	10,0 pg/ml
Aldosterone	10,0 pg/ml
Estrone	10,0 pg/ml
Beta-Estradiolo	10,0 pg/ml
Cortisone	10,0 pg/ml

Range di Linearità :

Cortisolo	10 – 7.500 pg/ml
Aldosterone	10 – 7.500 pg/ml
Estrone	10 – 7.500 pg/ml
Beta-Estradiolo	10 – 7.500 pg/ml
Cortisone	10 – 7.500 pg/ml

Accuratezza intra serie (errore relativo %)

Cortisolo:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
2,9%	3,8%

Accuratezza inter serie (errore relativo %)

Cortisolo:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
4,0%	4,3%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Cortisolo :

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
4,9%	2,1%	2,9%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Cortisolo :

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
8,0%	5,3%	6,5%

Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std

0,9989 ± 0,0009 Cortisolo

Accuratezza intra serie (errore relativo %)
Cortisone:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
2,0%	2,7%

Accuratezza inter serie (errore relativo %)
Cortisone:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
3,8%	2,8%

Riproducibilità intra serie (errore relativo %)
Cortisone:

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
5,1%	4,3%	5,6%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Cortisone:

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
6,3%	4,3%	7,4%

Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std

0,9995 ± 0,0004 Cortisone

Accuratezza intra serie (errore relativo %)
Aldosterone:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
5,2%	3,2%

Accuratezza inter serie (errore relativo %)
Aldosterone:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
12,4%	4,0%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Aldosterone :

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
6,3%	3,4%	2,9%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Aldosterone :

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
9,4%	4,7%	11,4%

Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std

0,9979 ± 0,0001 Aldosterone

Accuratezza intra serie (errore relativo %)
Estrone:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
7,2%	2,4%

Accuratezza inter serie (errore relativo %)
Estrone:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
10,3%	2,4%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Estrone :

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
7,0%	7,2%	2,8%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Estrone :

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
8,2%	5,3%	9,9%

Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std

0,9987 ± 0,0003 Estrone

Accuratezza intra serie (errore relativo %) beta-Estradiolo:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
3,7%	2,6%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) beta-Estradiolo:

Ci	Cs
50 pg/ml	250 pg/ml
6,8%	3,1%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) beta-Estradiolo :

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
6,4%	2,6%	1,5%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) beta-Estradiolo :

Ci	Cm	Cs
10 pg/ml	100 pg/ml	500 pg/ml
7,9%	4,1%	6,1%

Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std

0,9986 ± 0,0005 beta-Estradiolo

<u>Contenuto della confezione (100 tests) :</u>		Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2-8 °C, eccetto il Reagente B che va stoccato a -20°C.
Reagente A – Soluzione Deproteinizzante, 1 x 30 ml		
Reagente B – Soluzione Standard Interni deuterati, 1 x 3000 µl	Stoccare a -20 °C <u>Vedere Avvertenze</u>	
Reagente C – Soluzione Estraiante, 1 x 100 ml		
Reagente D – Soluzione Diluente, 1 x 1 ml		
Reagente E – Soluzione di Stabilizzante, 1 x 3 ml		
Calibratore liofilo urinario – Livello 0 , 3 x 4 ml	Codice LC91216 Confezionato a parte – vedi <u>scheda tecnica</u>	
Calibratore liofilo urinario – Livello 1 , 3 x 4 ml	Codice LC91216 Confezionato a parte – vedi <u>scheda tecnica</u>	
Calibratore liofilo urinario – Livello 2 , 3 x 4 ml	Codice LC91216 Confezionato a parte – vedi <u>scheda tecnica</u>	
Calibratore liofilo urinario – Livello 3 , 3 x 4 ml	Codice LC91216 Confezionato a parte – vedi <u>scheda tecnica</u>	
Calibratore liofilo urinario – Livello 4 , 3 x 4 ml	Codice LC91216 Confezionato a parte – vedi <u>scheda tecnica</u>	
Calibratore liofilo urinario – Livello 5 , 3 x 4 ml	Codice LC91216 Confezionato a parte – vedi <u>scheda tecnica</u>	
Calibratore liofilo urinario – Livello 6 , 3 x 4 ml	Codice LC91216 Confezionato a parte – vedi <u>scheda tecnica</u>	
Reagente M1 – Fase Mobile M1, 2 x 500 ml		
Reagente M2 – Fase Mobile M2, 1 x 500 ml		

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento LC-MS/MS triplo quadrupolo ESI
Evaporatore a centrifuga

Modalità per il prelievo urinario :

Raccogliere l'urina delle 24 ore in contenitori puliti senza conservanti e misurare il volume (L/24h). Se necessario centrifugare i precipitati prima dell'estrazione.

Il campione di urina è stabile 7 giorni a 2-8 °C, 3 mesi a -20 °C. Congelare solo una volta.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 :

In provette da 10 ml dispensare in sequenza.

	Calibratore	Campione	Controlli
Calibratore	3000 µl		
Campione		3000 µl	
Controlli			3000 µl
Reagente A – Sol. Deproteinizzante	300 µl	300 µl	300 µl
Reagente B – Sol. Std interni deuterati	30 µl	30 µl	30 µl

Vortex per 20 secondi

Centrifugare a 4.500 rpm per 5 minuti.

FASE 2 :

Dispensare in pyrex 2500 µl di surnatante e 1000 µl di **Reagente C – Soluzione Estraeante**

Vortex per 1 minuto

Centrifugare a 4.500 rpm per 10 minuti.

FASE 3 :

Prelevare 800 µl della fase sottostante e dispensarla in eppendorf

Portare a secco tramite evaporatore rotante o sotto flusso d'azoto, non superare la Temperatura di 55°C.

FASE 4 :

Riprendere con 10 µl di **Reagente D – Soluzione Diluente**

Al vortex per 20 secondi

Aggiungere 30 µl di **Reagente E – Soluzione Stabilizzante**

Al vortex per 20 secondi

Centrifugare a 14.000 rpm per 10 minuti.

FASE 5 : Trasferire i campioni in vial con riduttore di volume

N.B: il campione è stabile 2 giorni a 2-8 °C.

INIEZIONE :

- Iniettare 15 µl di campione nel sistema cromatografico

ORMONI STEROIDEI - Avvertenze

REAGENTE B – SOLUZIONE STANDARD INTERNI DEUTERATI:

Soluzione contenente: <i>Aldosterone-D7, Cortisolo-D4, Estradiolo-D5. Stoccare a – 20 °C.</i>	
Ormoni:	Standard interno da utilizzare per la calibrazione:
ESTRONE	<i>Beta-Estradiolo-D5</i>
BETA-ESTRADIOLO	<i>Beta-Estradiolo-D5</i>
ALDOSTERONE	<i>Aldosterone-D7</i>
CORTISOLO	<i>Cortisolo-D4</i>
CORTISONE	<i>Cortisolo-D4</i>

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova Poroshell 120 EC C18 (50 x 2,1 mm, 1,9 µm), termostata a 45 °C. Disconnettere il detector e far passare una soluzione di Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (20 : 80 v/v) al flusso di 400 µl / minuto per 10 minuti. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Condizionare la colonna con una soluzione di Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (20 : 80 v/v) al flusso di 400 µl / minuto, per 10 minuti. Quindi fluxare una soluzione di Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (80 : 20 v/v) al flusso di 400 µl / minuto, per 5 minuti. Quindi, fluxare Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (65 : 35 v/v) al flusso di 400 µl / minuto, per 10 minuti. Infine, effettuare 3 iniezioni di fase mobile prima di lanciare la seduta.

NON è possibile effettuare analisi a ricircolo di fase.

Se la T Amb del Laboratorio è > 25°C si consiglia di conservare a 2-8°C la Fase Mobile fra una seduta analitica e l'altra.

PULIZIA E STOCCAGGIO DELLA COLONNA

Disconnettere il detector. Fluxare una soluzione di Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (80 : 20 v/v) al flusso di 400 µl / minuto per 5 minuti scaricandola, quindi fluxare Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (10 : 90 v/v) al flusso di 400 µl / minuto, per 15 minuti. La colonna va stoccata in una soluzione di Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (10 : 90 v/v).

LAVAGGIO AGO DI INIEZIONE

Fase Mobile M2

PARAMETRI SETTATI SU TRIPLO QUADRUPOLO SCIEX 4500

Parametri ESI +

Curtain Gas (CUR): 25 Collision Gas (CAD): 9 Ion Spray Voltage: (IS): 5500 V Temperature (TEM): 600°C Ion Source Gas 1 (GS1): 50 Ion Source Gas 2 (GS2): 60
--

SETTAGGIO DEI FLUSSI

GRADIENTE			
Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	Flusso (µl/min)
0	65	35	400
0.50	65	35	400
3.00	55	45	400
9.00	29,5	70,5	400
9.10	2	98	400
11.0	2	98	400
11.10	65	35	400
15.0	65	35	400

Frammentazioni (ottimizzate su TRIPLO QUADRUPOLO SCIEX 4500)

ANALITA	Q1	Q3
Aldosterone - 1 +	361.2	315.1
Cortisone - 1	361.2	163.0
Cortisone - 2	361.2	121.0
Cortisolo - 1	363.1	121.0
Cortisolo - 2	363.1	115.1
β-Estradiolo - 1	255.1	159.1
β-Estradiolo - 2	255.1	144.0
Estrone - 1	271.2	133.0
Estrone - 2	271.2	157.0
Aldosterone-D7 +	368.2	322.1
Cortisolo-D4	367.1	121.0
β-Estradiolo-D5	260.2	161.0

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
LC91211	Fase Mobile M1	4 x 500 ml
LC91221	Fase Mobile M2	4 x 500 ml
LC91216	Calibratore urinario per Ormoni Steroidei	7 x 2 x 4 ml
LC91219	Controllo urinario per Ormoni Steroidei – Livelli 1, 2 e 3	3 x 5 x 4 ml
LC91230	Mix Solution Standard interni deuterati	1 x 3000 µl
SK91210	Starter kit Ormoni Steroidei urinari	8 x 1 ml
S29057U	Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 Pz
S24717	Riduttori di volume per vials da 2 ml	1 x 100 Pz
Z699675902	Colonna analitica Poroshell 120-EC C 18 (50 x 2.1 mm. 1.9 µm)	1 Pz
L-30-210	Provette Eppendorf da 1,5 ml con tappi	1 x 1000 Pz
Z1636/26	Provette Pyrex da 10 ml con tappo SWL (per idrolisi, fino a 300 °C-lavabili e riutilizzabili)	1 x 40 Pz

BIBLIOGRAFIA:

Quantification of corticosteroids in human plasma by liquid chromatography-thermospray mass spectrometry using stable isotope dilution

Hiromi Shibasaki, Takashi Furuta, Yasuji Kasuya

Steroid Hormone Analysis by Tandem Mass Spectrometry

Steven J. Soldin and Offie P. Soldin

Quantification of anabolic hormones and their metabolites in bovine serum and urine by liquid chromatography-tandem mass spectroscopy

R. Draisci, L. Palleschi, E. Ferretti, L. Lucentini, P. Cammarata

Identification of ten corticosteroids in human hair by liquid chromatography-ionspray mass spectrometry

V. Cirimele, P. Kintz, J.P. Goullè, B. Ludes

A Confirmatory HPLC-MS/MS Method for Ten Synthetic Corticosteroids in Bovine Urines, JOURNAL OF MASS SPECTROMETRY

S. Rhea Savu, L. Silvestro, A. Haag and F. Sorgel, VOL. 31, 1351-1363 (1996).

Automated solid-phase extraction for concentration and clean-up of female steroid hormones prior to liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry.

B. Alvarez Sanchez, F. Priego Capote, J. Ruiz Jimenez, M.D. Luque de Castro. An approach to lipidomics, Journal of Chromatography A, 1207 (2008) 46–54.

Detection, quantification and confirmation of anabolic steroids in equine plasma by liquid chromatography and tandem mass spectrometry

Fuyu Guan, Cornelius E. Uboh, Lawrence R. Soma, Yi Luo, Jeffery Rudy, Thomas Tobin., Journal of Chromatography B, 829 (2005) 56–68.

Liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometric analysis of corticosterone in rat plasma using selected ion monitoring,

Ashok Marwah, Padma Marwah, Henry Lardy. Journal of Chromatography B, 757 (2001) 333–342.

Quantification of corticosteroids in human plasma by liquid chromatography-thermospray mass spectrometry using stable isotope dilution,

Ashok Marwah, Padma Marwah, Henry Lardy, Journal of Chromatography B, 692 (1997) 7–14

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

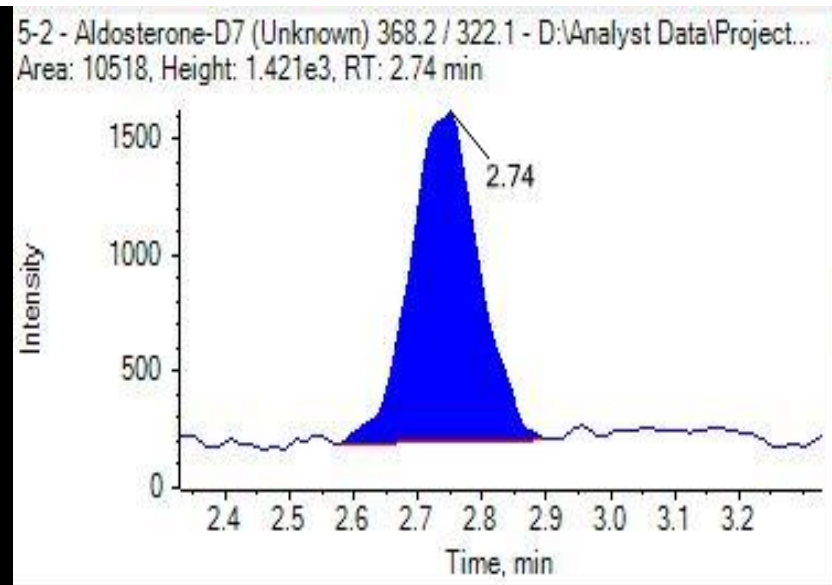
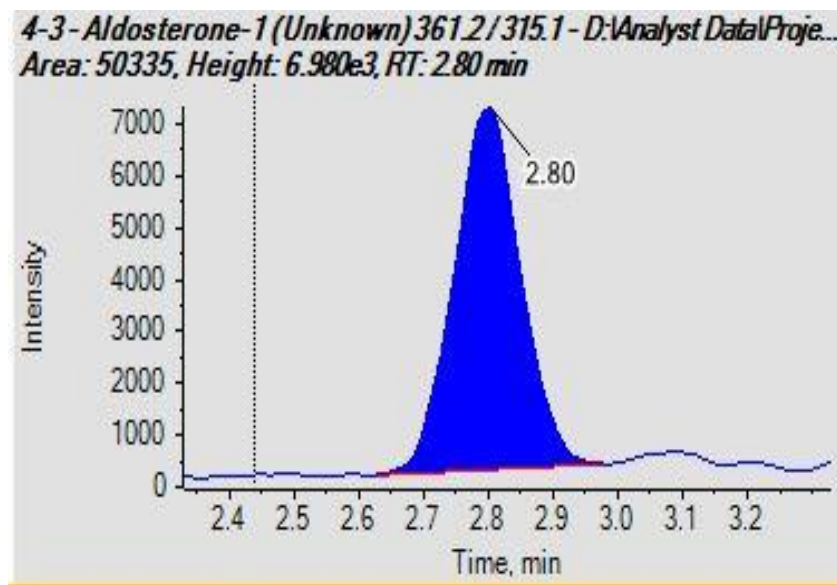


Fig. 1 :	Calibratore urinario
	R.T. 2.8 Aldosterone 100 pg/ml
	trans. 361.2→315.1

Fig. 2 :	Calibratore urinario
	R.T. 2.74 Aldosterone-D7

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

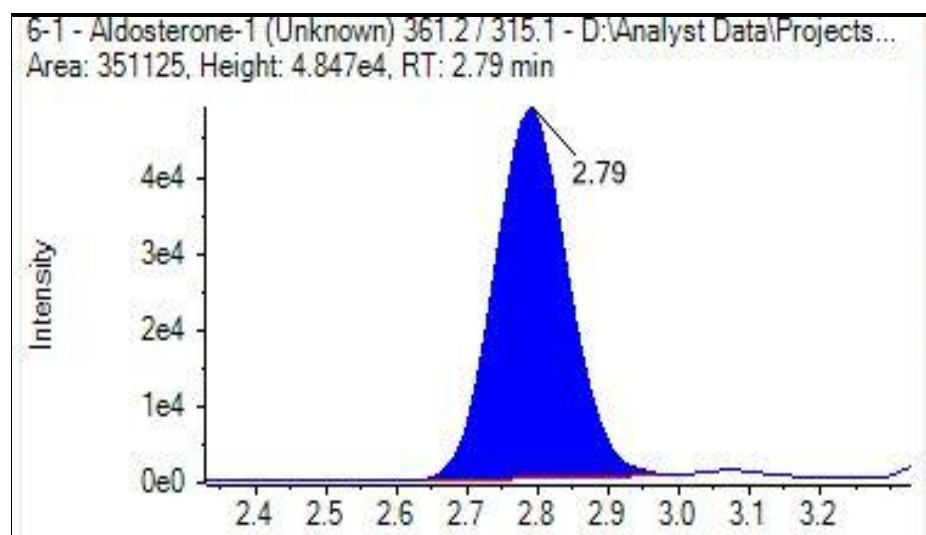


Fig. 3 :	Controllo urinario Livello 3
	R.T. 2.79 Aldosterone 300 pg/ml
	trans. 361.2→315.1

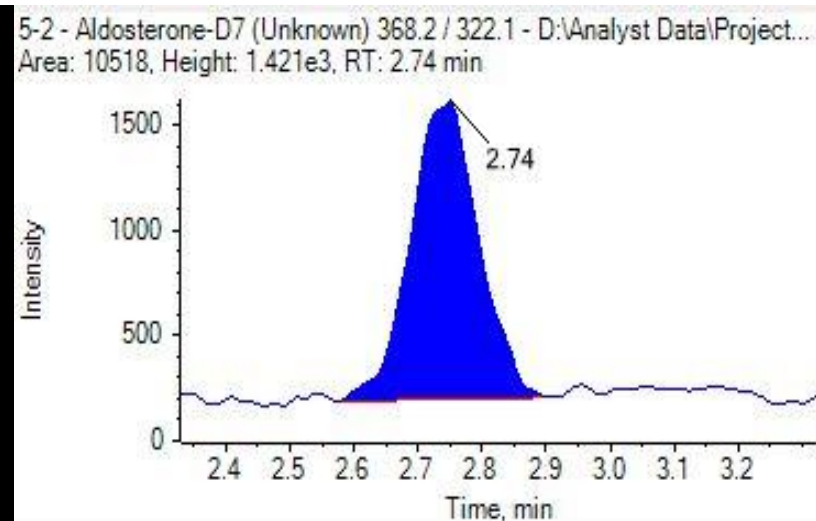


Fig. 4 :	Calibratore urinario
	R.T. 2.74 Aldosterone-D7

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

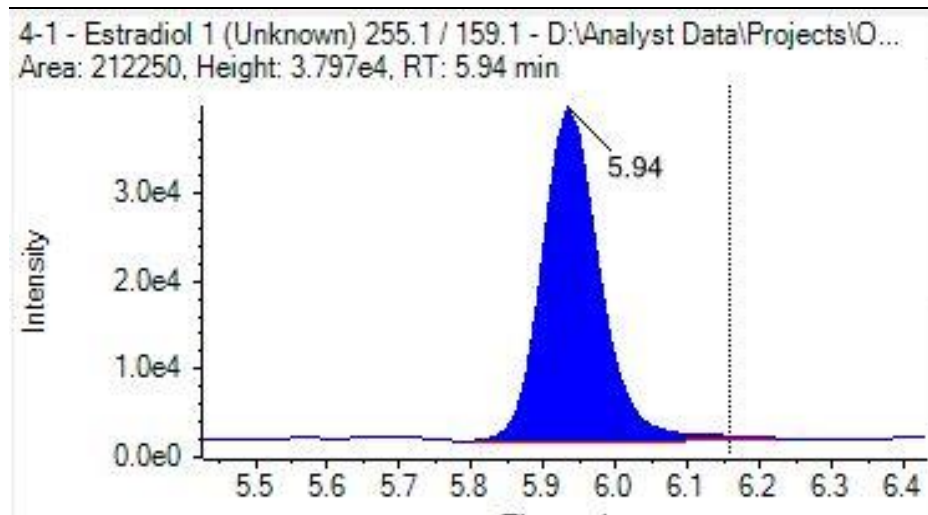


Fig. 5 :	Calibratore urinario
	R.T. 5.94 Estradiolo 100 pg/ml
	trans. 255.1→159.1

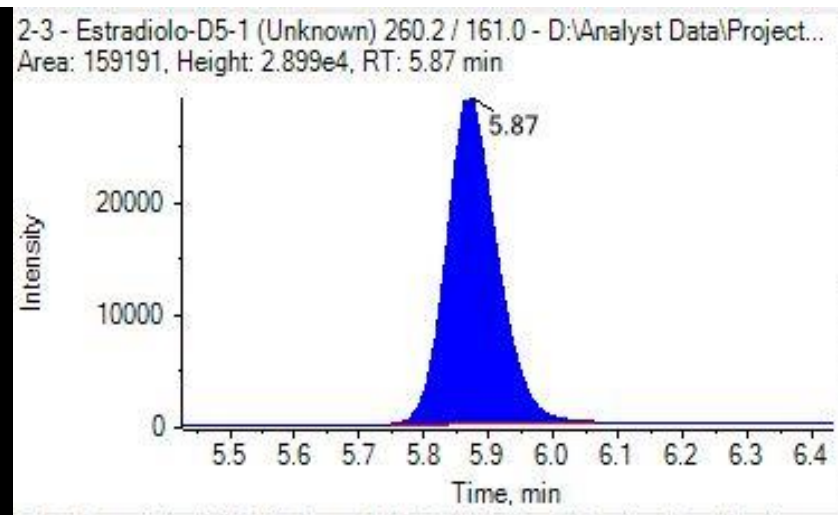


Fig. 6 :	Calibratore urinario
	R.T. 5.87 Estradiolo-D5

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

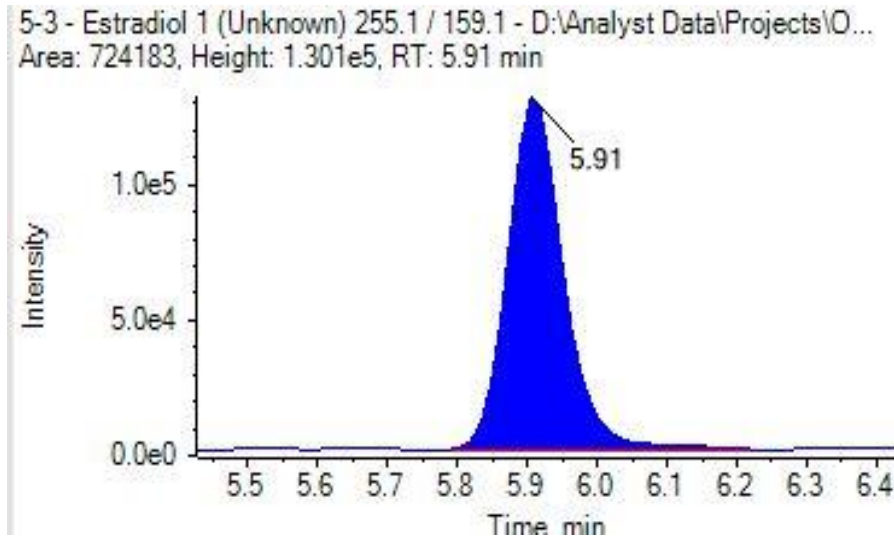


Fig. 7 :	Controllo urinario Livello 3
	R.T. 5.91 Estradiolo 300 pg/ml
	trans. 255.1→159.1

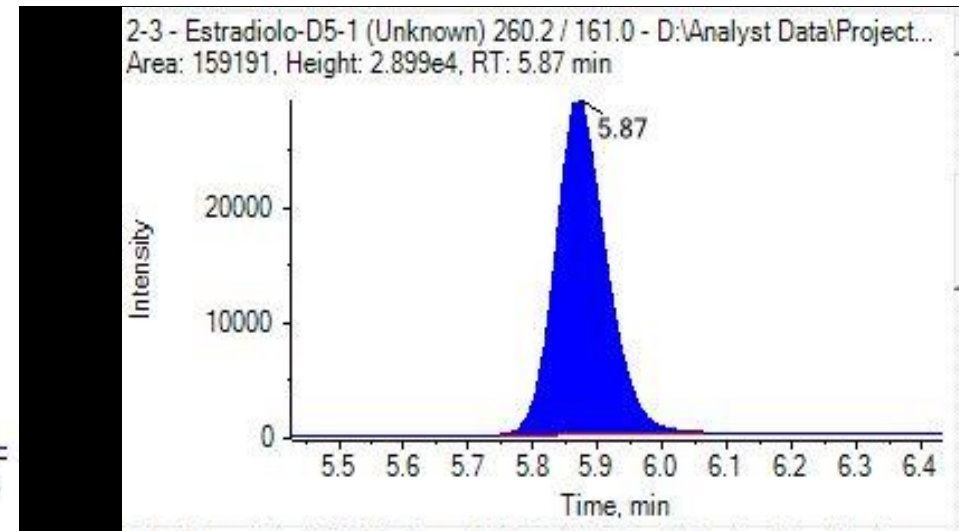


Fig. 8 :	Calibratore urinario
	R.T. 5.87 Estradiolo-D5

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

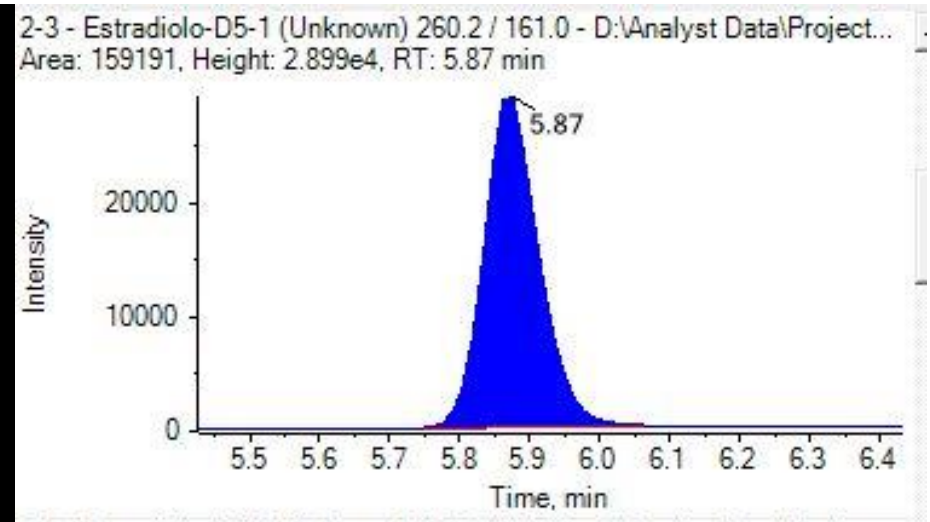
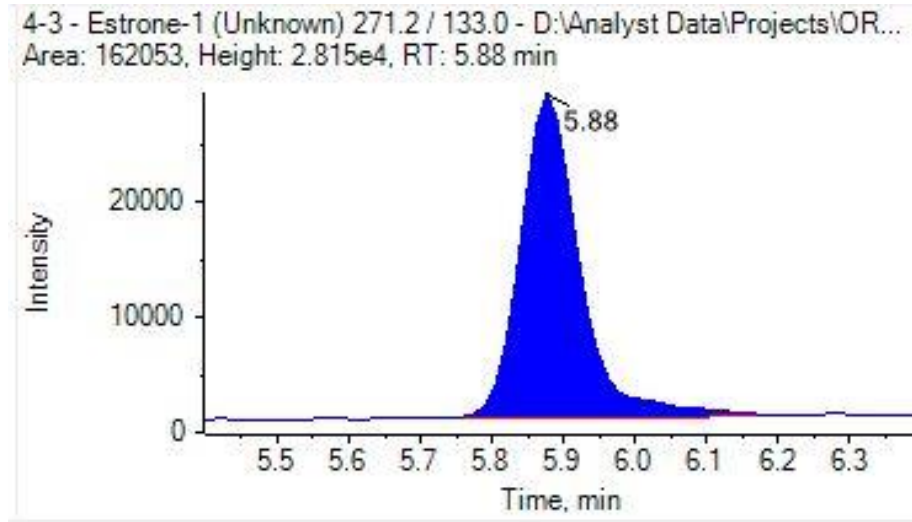


Fig. 9 :	Calibratore urinario
	R.T. 5.88 Estrone 100 pg/ml
	trans. 271.2→133.0

Fig. 10 :	Calibratore urinario
	R.T. 5.87 Estradiolo-D5

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

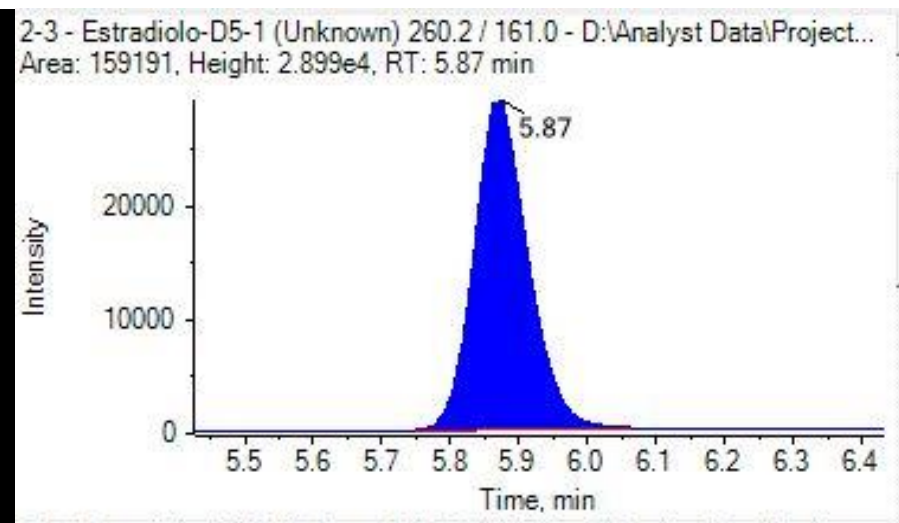
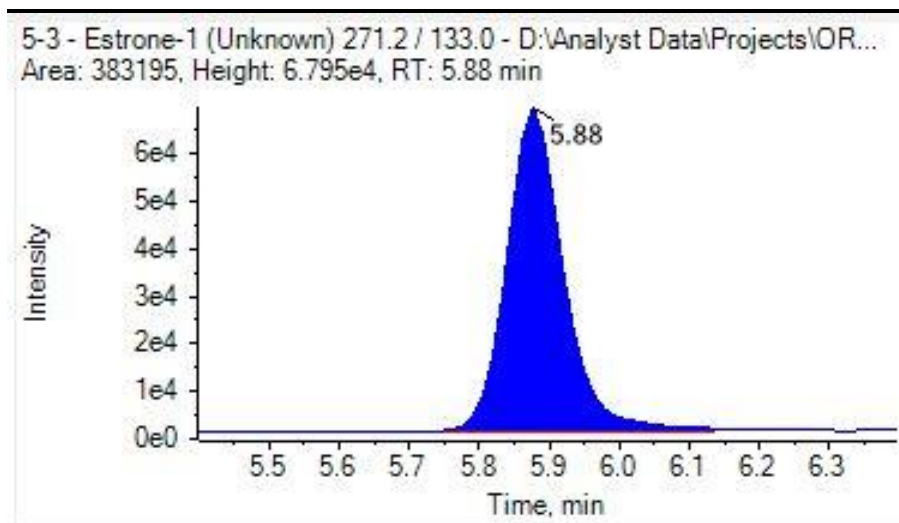


Fig. 11 :	Controllo urinario Livello 3
	R.T. 5.88 Estrone 300 pg/ml
	trans. 271.2→133.0

Fig. 12 :	Calibratore urinario
	R.T. 5.87 Estradiolo-D5

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

4-1 - Cortisone (Unknown) 361.2 / 163.0 - D:\Analyst Data\Projects\OR...
Area: 207864, Height: 4.223e4, RT: 3.39 min

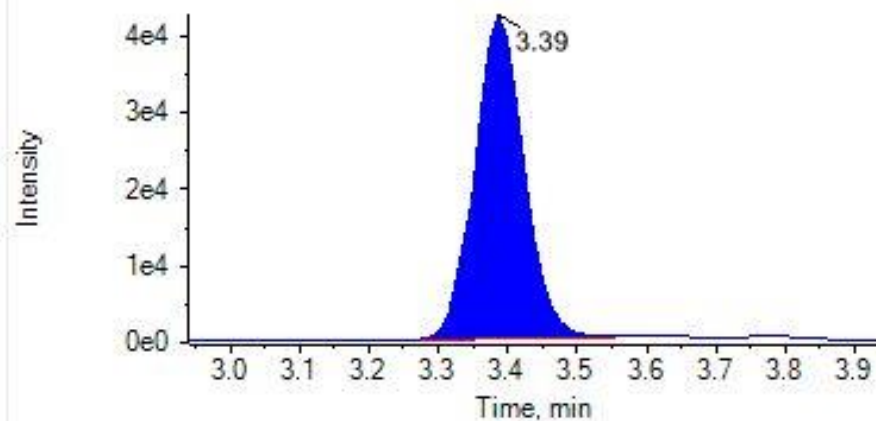


Fig. 13 :	Calibratore urinario
	R.T. 3.39 Cortisone 100 pg/ml
	trans. 361.2→163.0

2-3 - Cortisolo-D4 (Unknown) 367.1 / 121.0 - D:\Analyst Data\Projects\...
Area: 106716, Height: 2.019e4, RT: 3.77 min

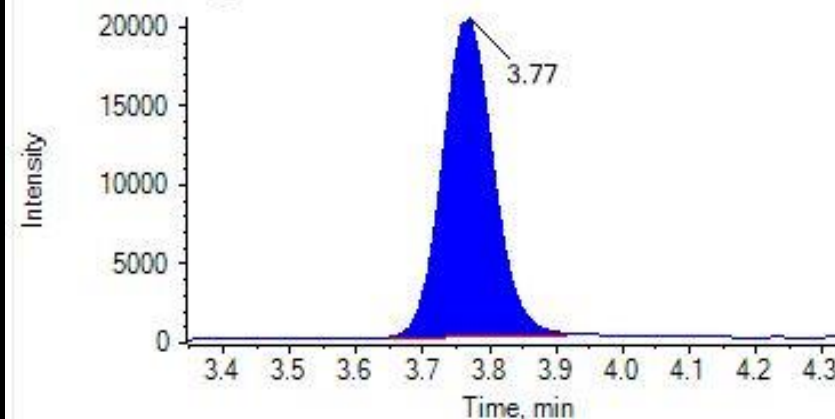
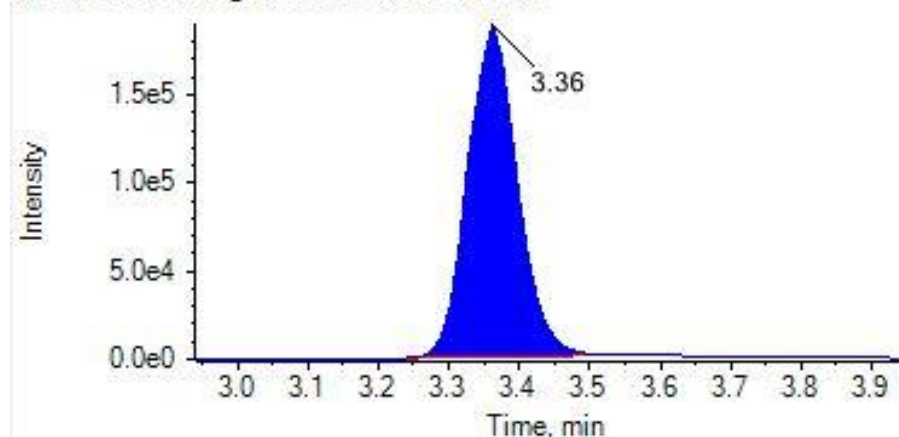


Fig. 14 :	Calibratore urinario
	R.T. 3.77 Cortisolo-D4

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

6-2 - Cortisone (Unknown) 361.2 / 163.0 - D:\Analyst Data\Projects\OR...
Area: 916976, Height: 1.886e5, RT: 3.36 min



2-3 - Cortisolo-D4 (Unknown) 367.1 / 121.0 - D:\Analyst Data\Projects\...
Area: 106716, Height: 2.019e4, RT: 3.77 min

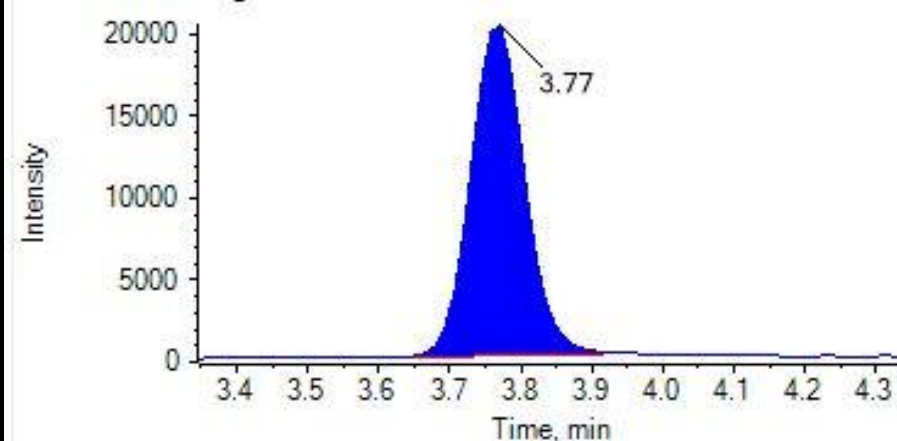


Fig. 15 :	Controllo urinario Livello 3
	R.T. 3.36 Cortisone 300 pg/ml
	trans. 361.2→163.0

Fig. 16 :	Calibratore urinario
	R.T. 3.77 Cortisolo-D4

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

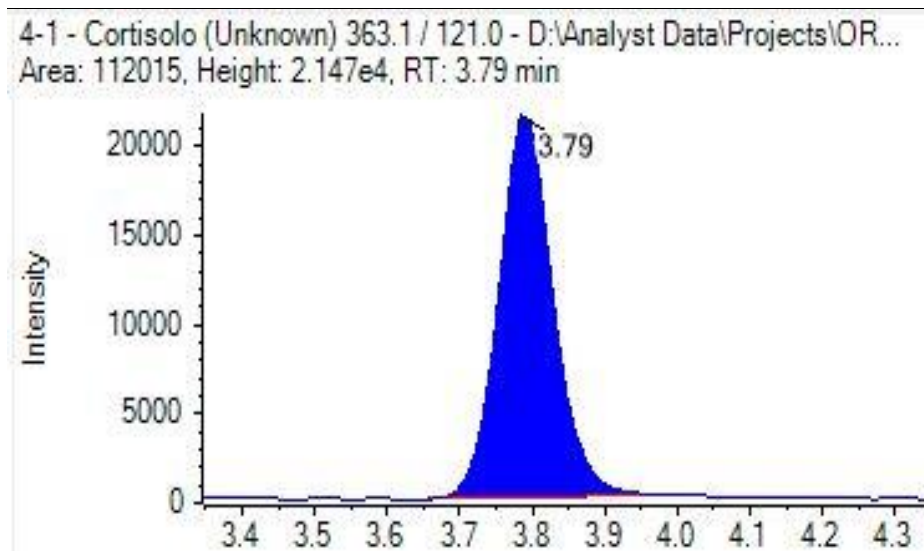


Fig. 17 :	Calibratore urinario
	R.T. 3.79 Cortisolo 100 pg/ml
	trans. 363.1→121.0

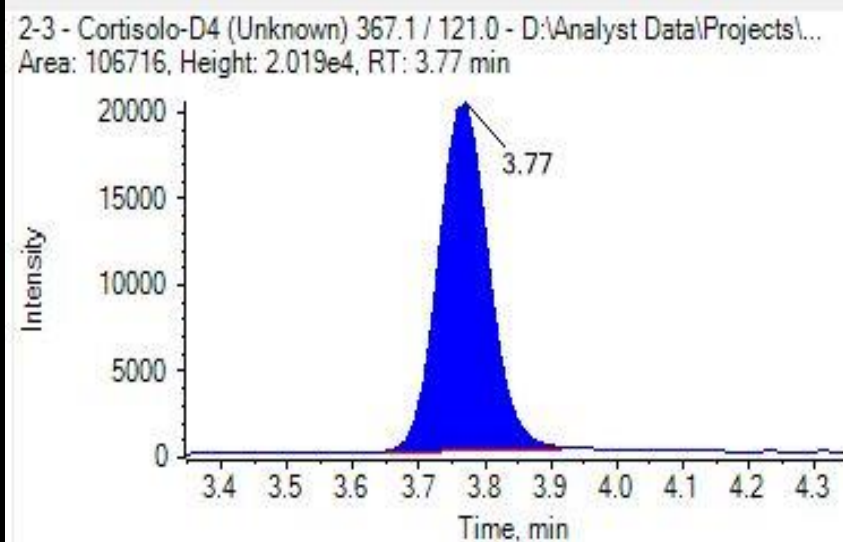


Fig. 18 :	Calibratore urinario
	R.T. 3.77 Cortisolo-D4

ORMONI STEROIDEI URINARI

(Cromatogramma di Riferimento)

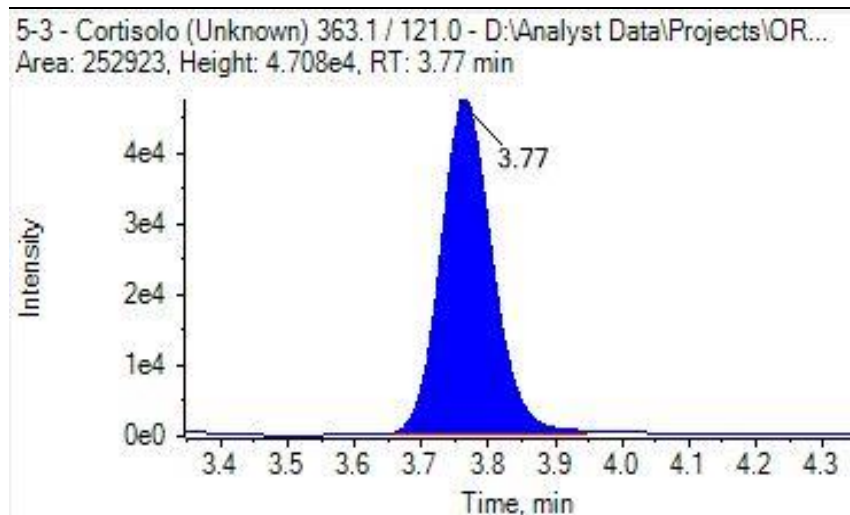


Fig. 19 :	Controllo urinario Livello 3
	R.T. 3.77 Cortisolo 300 pg/ml
	trans. 363.1→121.0

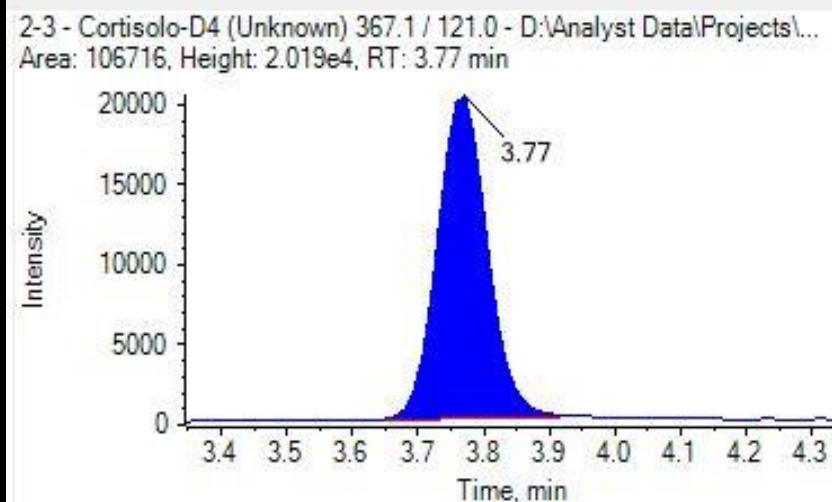


Fig. 20 :	Calibratore urinario
	R.T. 3.77 Cortisolo-D4