

Le dosage du malondialdéhyde (MDA) par chromatographie liquide: Aspects pré-analytiques et analytiques

*Z. Chellouai^{1,2}, *Y. Hadeif³, R. Moussaoui¹, S.A. Benaissa², *M. Nachi¹.

¹Faculté de Médecine, Université Oran 1., B.P 1510 El Menaouer 31000 - Oran (Algérie), ²Service de Biochimie, Etablissement Hospitalo-universitaire 1er Novembre 1954, BP N° 4166 Ibn Rochd - Oran (Algérie), ³Service Chimie Analytique, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar- Annaba BP 205, 23000 - Annaba (Algérie)

*Auteur(s) correspondant(s) : chellouai.zineb@univ-oran1.dz

Objectifs

Le malondialdéhyde (MDA) est un bio-marqueur couramment utilisée pour estimer la peroxydation lipidique.

Cette présentation développe les étapes pré-analytique et analytique permettant la détermination du taux plasmatique de MDA.

Méthodes

Une revue de la littérature a été conduite en interrogeant la base de données Medline sur les dix dernières années.

Cette synthèse reprend les différentes méthodes chromatographiques ainsi que les différents prétraitements associés au dosage de malondialdéhyde en milieu biologique. Le dosage de MDA fait encore l'objet de plusieurs études cliniques pour l'évaluation de la peroxydation lipidique et donc du statut stress oxydatif. De ce fait, le développement et l'optimisation des méthodes analytiques permettront d'obtenir des résultats très précis et fiables.

Abréviations :

4-APC: 4-(2-(trimethylammonio)ethoxy)benzenaminium halide
CG : Chromatographie en phase gazeuse
DAN : diamionaphthalene
DNP: 2,4-dinitrophenylhydrazine
ECD : Détecteur à capture d'électron
ELL : Extraction liquide liquide
FID : détecteur à ionisation de flamme
Fluo : Fluorescence
FMOC-hydrazine : 9-fluorenylmethoxycarbonyl hydrazine
HPLC : Chromatographie liquide haute performance
MDA : Malondialdéhyde

SIM : selected-ion monitoring
SM : spectrométrie de masse
SPAD : Dérivatisation en phase solide
SPE : extraction en phase solide
SRM : Selected-reaction monitoring
TCA : acide trichloracétique
UHPLC-HRMS : chromatographie liquide Ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse haute résolution
UV = détecteur Ultra-violet

Résultats (1/2)

Tableau I : Les différentes méthodes chromatographiques et les prétraitements d'échantillon

Méthodes chromatographiques	Nature de la phase stationnaire	Détecteur	Réactif de dérivatisation	Conditions de dérivatisation	Matrice	Prétraitement de l'échantillon	Limite de détection	Référence
HS-SPME-GC-MS	HP-InnoWax	SM En mode (SIM)	2,2,2-trifluoroéthylhydrazine	40 min 50 °C	Sang	Microextraction en phase solide SPME	0.4 microg/L dans 0.1 mL d'échantillon de sang	Shin H.S et al (2009)
CG-SM dilution isotopique CG-SM/SM	-	SM en mode(SIM) SM/SM en mode (SRM)	Bromure de pentafluorobenzyl	-	Plasma	ELL toluène	2 amol (2×10^{-18})mol MDA	Tsikakos D et al (2016)
CG-SM	Colonne capillaire (HP-5MS)	SM en mode(SIM)	Pentafluorophénylhydrazine	10 min 50 °C	Urine	Espace de tête	0.04 g L ⁻¹	Shin H.S et al (2009)
CG-FID	-	FID	2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)	60 min 40 °C	Plasma	Microextraction assistée par Ultrasons	0.75 ng mL ⁻¹	Malaei R et al (2018)
LC-ESI-MS/MS	porous graphite—Hypercarb	SM	-	-	Plasma Urine	Urine = SPE Plasma = Déprotéinisation	1.3nM(Urine) 0.4nM(Plasma) MDA Libre	Syslova K et al (2009)
UHPLC-HRMS	C18	high resolution mass spectrometry	Hydrolyse Alcaline 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)	10 min T° ambiante	Plasma	Déprotéinisation: TCA 20% ELL : cyclohexane:toluène (1:1, v/v)	2.1 nM (standard) 32 nM (échantillon)	Mendonça R et al (2017)

*Z. Chellouai^{1,2}, *Y. Hadeif³, R. Moussaoui¹, S.A. Benaissa², *M. Nachi¹.

¹Faculté de Médecine, Université Oran 1, B.P 1510 El Menaouer 31000 - Oran (Algérie), ²Service de Biochimie, Etablissement Hospitalo-universitaire 1er Novembre 1954, BP N° 4166 Ibn Rochd - Oran (Algérie), ³Service Chimie Analytique, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar- Annaba BP 205, 23000 - Annaba (Algérie)

*Auteur(s) correspondant(s) : chellouai.zineb@univ-oran1.dz

Résultats (2/2)

Tableau I : Les différentes méthodes chromatographiques et les prétraitements d'échantillon

Méthodes chromatographique	Nature de la phase stationnaire	Détecteur	Réactif de dérivation	Conditions de dérivation	Matrice	Prétraitement de l'échantillon	Limite de détection	Référence
HPLC	C18	Electrochimique	-	-	Sérum	Déprotéinisation : acide métaphosphorique	-	Hannan PA et al(2015)
HPLC	C18	UV	hyalazine	60 min T° ambiante	Plasma	-	0.03 nmol mL ⁻¹	Rezaei Z et al (2013)
HPLC	C18	DAD	2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)	60 min 50 °C	Urine	ELL : Hexane	0.16 µg/mL	Kim .B et al (2017)
HPLC	C18	Fluo	Acide 2-thiobarbiturique	30 min 90°C	Plasma	-	-	Domijan AM et al(2015)
HPLC	CN	Fluo	2-Aminoacridone	90min	Urine	-	1.8nM MDA Libre	Giera M et al (2011)
CL-SM/SM	C18	-	DANSYL hydrazine Dérivatisation en phase solide (SPAD)	60 min T° ambiante	plasma	hydrolysis and protein precipitation	0.016 (µg/mL)	Lord . H.L et al. (2009)
UPLC-SM	Deux phases stationnaires C18 et phenyl-hexyl	SM en mode SIM	2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)	70 min 37 °C	Air exhalé	-	0.58 nM	Kartavenka K et al (2019)

Conclusion

Les connaissances actuelles nous permettent de bien choisir la technique analytique la plus appropriées et la plus spécifique. En plus, différents facteurs liés à des erreurs dans la phase pré analytique et lors du prétraitement des échantillons biologiques doivent être prise en considération.

Références Bibliographiques

- Domijan AM, Ralić J, Radić Brkanac S, Rumora L, Žanić-Grubišić T. Quantification of malondialdehyde by HPLC-FL - application to various biological samples. Biomed Chromatogr. 2015;29(1):41-6.
- Giera M, Lingeman H, Wilfried, Niessen MA. Recent Advancements in the LC-and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): A Brief Overview. [cited 2019 Sep 11]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3336054/pdf/10337_2012_Article_2237.pdf
- Hannan PA, Khan JA, Iqbal Z, Ullah I, Rehman WU, Rehman M, et al. Simultaneous Determination of Endogenous Antioxidants and Malondialdehyde by RP-HPLC Coupled with Electrochemical Detector in Serum Samples. J Liq Chromatogr Relat Technol [Internet]. 2015;38(10):1052-60. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10826076.2015.1012522>
- Kartavenka K, Panuwet P, Greenwald R, Ehret KM, D'Souza PE, Barr DB, et al. Quantification of malondialdehyde in exhaled breath condensate using pseudo two-dimensional ultra-performance liquid chromatography coupled with single quadrupole mass spectrometry. J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci [Internet]. 2019 Jan 15 [cited 2019 Sep 10];1105:210-6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023218312741>
- Kim, B., Jung, W. and Kho, Y. (2017). Quantification of Malondialdehyde in Human Urine by HPLC-DAD and Derivatization with 2,4-Dinitrophenylhydrazine. Bull. Korean Chem. Soc., 38: 642-645. doi:10.1002/bkcs.11143
- Lord HL, Rosenfeld J, Volovich V, Kumbhare D, Parkinson B. Determination of malondialdehyde in human plasma by fully automated solid phase analytical derivatization. J Chromatogr B [Internet]. 2009 May 1 [cited 2019 Sep 11];877(13):1292-8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S157002320800932X>
- Malaei R, Ramezani AM, Absalan G. Analysis of malondialdehyde in human plasma samples through derivatization with 2,4-dinitrophenylhydrazine by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction-GC-FID approach. J Chromatogr B [Internet]. 2018 Jul [cited 2019 Sep 10];1089:60-9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023218301090>
- Mendonça R, Gning O, Di Cesaré C, Lachat L, Bennett NC, Helfenstein F, et al. Sensitive and selective quantification of free and total malondialdehyde in plasma using UHPLC-HRMS. J Lipid Res [Internet]. 2017 Sep [cited 2019 Sep 10];58(9):1924-31. Available from: <http://www.jlr.org/lookup/doi/10.1194/jlr.D076661>
- Rezaei Z, Jamshidzadeh A, Sanati E. A rapid and sensitive method for the determination of malondialdehyde as its hyalazine derivative in human plasma using high performance liquid chromatography. Anal Methods [Internet]. 2013;5:2995. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3AY26525k>
- Shin H-S. Determination of malondialdehyde in human blood by headspace-solid phase micro-extraction gas chromatography-mass spectrometry after derivatization with 2,2,2-trifluoroethylhydrazine. J Chromatogr B [Internet]. 2009 Nov [cited 2019 Sep 11];877(29):3707-11. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023209006679>
- Syslová K, Kacer P, Kuzma M, Najmanová V, Fenclová Z, Vicková S, et al. Rapid and easy method for monitoring oxidative stress markers in body fluids of patients with asbestos or silica-induced lung diseases. J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci [Internet]. 2009 Aug 15 [cited 2019 Sep 11];877(24):2477-86. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023209004140>
- Tsikás D, Rothmann S, Schneider JY, Suchy MT, Trettin A, Modun D, et al. Development, validation and biomedical applications of stable-isotope dilution GC-MS and GC-MS/MS techniques for circulating malondialdehyde (MDA) after pentafluorobenzyl bromide derivatization: MDA as a biomarker of oxidative stress and its relation to 1. J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci [Internet]. Elsevier B.V.; 2016; 1019:95-111. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.10.009>