

УДК 543

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОРТОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КАК БИОМАРКЕРОВ ПОЧЕЧНОЙ ДИСФУНКЦИИ

© 2025 г. М. Д. Шачнева^{a,*}, Е. И. Савельева^a

^aНаучно-исследовательский институт, гигиены, профпатологии и экологии человека
мкр. Всеволожский, ул. Заводская, 6/2, корп. № 93, пгт Кузьмоловский, Ленинградская область, 188663 Россия
^{*}E-mail: shachneva_mariya@mail.ru

Поступила в редакцию 25.09.2024 г.

После доработки 22.10.2024 г.

Принята к публикации 22.10.2024 г.

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК), продуцируемые микробиотой кишечника, играют важную роль в поддержании иммунного статуса организма. Хронические болезни почек ассоциированы со снижением микробного разнообразия в кишечнике и нарушением продукции КЖК. При хронических болезнях почек уровень КЖК в циркулирующей крови снижается, поэтому для определения КЖК в сыворотке крови требуется разработка высокочувствительных методик. Нами разработана методика определения КЖК в сыворотке крови и опробована при сравнительном исследования образцов сыворотки крови здоровых добровольцев и пациентов с диагностированными хроническими болезнями почек. Определение КЖК (уксусной, пропионовой, масляной, валериановой, капроновой, изомасляной и изовалериановой) в сыворотке крови осуществляли методами газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) и газовой хроматографии-тандемной масс-спектрометрии (ГХ-МС/МС). Пределы определения исследуемых КЖК методом ГХ-МС находятся в диапазоне 0.05–0.09 мкг/мл, методом ГХ-МС/МС – 0.002–0.007 мкг/мл. Показано, что в образцах сыворотки крови пациентов с хроническими болезнями почек концентрации всех исследованных КЖК снижены, по сравнению с контрольной группой, и лежат ниже пределов обнаружения методом ГХ-МС.

Ключевые слова: короткоцепочечные жирные кислоты, газовая хроматография, тандемная масс-спектрометрия, сыворотка крови, хронические болезни почек.

DOI: 10.31857/S0044450225020073 EDN: aeaeld

Хронические болезни почек являются глобальной проблемой здравоохранения во всем мире [1]. Пациенты с хроническими болезнями почек сталкиваются с тяжелыми осложнениями, включая повышение артериального давления, анемию, острую почечную недостаточность, сердечно-сосудистую недостаточность и накопление большого количества уремических токсинов в циркулирующей крови. На сегодняшний день считается доказанной связь хронических болезней почек с альтерацией кишечного микробиома [2, 3]. Высказываются различные и зачастую противоречивые гипотезы о химических соединениях, осуществляющих коммуникацию между микробиотой и тканями хозяина. При этом, по общему мнению исследователей, короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК) вовлечены

в этот процесс [4]. Короткоцепочечные жирные кислоты (от уксусной до гексановой), являющиеся продуктом бактериальной ферментации пищевых волокон и продуцируемые микробиотой кишечника, обнаружены в толстом кишечнике человека, доказано их участие в микробной ферментации [5].

Существенная роль кишечной микробиоты в развитии хронических болезней почек экспериментально подтверждена более десяти лет назад [6]. Диагностика альтераций кишечного микробиома основана преимущественно на генетическом и метаболомном анализе фекалий, а также метаболомном анализе сыворотки (плазмы) крови и мочи [7, 8]. В работе [9] показано, что в фекалиях пациентов с установленным диагнозом “Нефропатия” уровень КЖК существенно

ниже, чем в фекалиях здоровых добровольцев. Кроме того, сообщается, что при альтерации кишечного микробиома содержание КЖК снижается не только в фекалиях, но и в сыворотке крови [10].

Ввиду высокого индикативного потенциала КЖК для диагностики заболеваний, ассоциированных с перерождением кишечного микробиома, исследования по разработке методик их определения в диагностических биосредах продолжаются [11]. Для хроматографического разделения КЖК при анализе биопроб выбрана газовая хроматография (ГХ). Извлечение КЖК из биоматриц осуществляют после их подкисления до pH 1–2 [12]. В работе Дауни с соавт. [13] описано извлечение КЖК из биоматриц методом твердофазной микроэкстракции. С учетом короткого времени жизни микроволокон при контакте с кислотами, а также необходимости наличия в лаборатории специального оборудования и расходных материалов для твердофазной микроэкстракции в качестве предпочтительного метода извлечения КЖК из сыворотки крови использовали жидкостную экстракцию. Из биологических образцов КЖК традиционно экстрагируют органическими растворителями [14]. При выборе растворителя учитывают такие характеристики, как летучесть, способствующая быстрому испарению в инжекционном порту ГХ, и низкую полярность для быстрого отделения от водного слоя. Лотти с соавт. [15] для экстракции КЖК из образцов фекалий и плазмы крови рекомендовали метил-*трет*-бутиловый эфир (МТБЭ), обладающий низкой токсичностью. Сравнительный анализ показал, что МТБЭ обеспечивает более высокие степени извлечения КЖК из указанных выше биоматриц в сравнении с этилацетатом, диэтиловым эфиром и дихлорметаном. Яо с соавт. [16] оптимизировали соотношение объемов плазмы крови и МТБЭ и количества соляной кислоты, добавляемой к плазме. В этой же работе доказано, что при определении КЖК в плазме после их этерификации для уксусной кислоты получается завышенный результат. По этой причине более предпочтительно прямое определение КЖК в сыворотке крови по сравнению с процедурами, предусматривающими их этерификацию с использованием различных силилирующих агентов. Рекомендации авторов работ [15, 16] учтены при подборе условий подготовки сыворотки крови к анализу. Выбор сыворотки, а не плазмы крови в качестве диагностической биоматрицы обусловлен клиническими рекомендациями [17]. Из сыворотки форменные элементы крови удаляются более эффективно, чем из плазмы, что позволяет добиться снижения матричных влияний при проведении анализа.

Цель настоящей работы – сравнительная оценка методов газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) и газовой хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС/МС) при определении КЖК в сыворотке крови, опробование соответствующих методик при анализе сыворотки крови здоровых добровольцев и пациентов с хроническими болезнями почек и выбор оптимальной процедуры анализа.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования. Использовали образцы сыворотки крови из коллекции Института нефрологии при Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. акад. И.П. Павлова. Всего для анализа были предоставлены 20 образцов сыворотки крови: 10 из них от добровольцев с отсутствием диагностированных заболеваний (группа 1, контроль) и 10 образцов от пациентов с установленным диагнозом “Нефропатия” (группа 2).

Реактивы и материалы. Соляная кислота х. ч. (Экос-1, Россия); метил-*трет*-бутиловый эфир ос. ч. (Экос-1, Россия); аналитические стандарты уксусной, пропионовой, масляной, валериановой, капроновой, изомасляной, изовалериановой и уксусной-D4 кислот (Sigma Aldrich, США); микрокентрифуга с охлаждением Microfuge 22R (Beckman Coulter, США); шейкер для пробирок Multi Reax (Heidolph, Германия).

Подготовка проб сыворотки крови для определения короткоцепочечных жирных кислот. За основу взяли процедуру пробоподготовки, описанную в работах [15, 16], с незначительными модификациями. К 200 мкл сыворотки добавляли 10 мкл 6 М HCl, 10 мкл внутреннего стандарта (уксусная кислота D4) с концентрацией 100 мкг/мл, 200 мкл МТБЭ и встряхивали на устройстве Вортекс в течение 2 мин. После этого центрифугировали образцы в течение 10 мин при 14 000 об/мин (4 °C), отбирали 100 мкл органического слоя и анализировали методами ГХ-МС и ГХ-МС/МС.

Подбор условий ГХ-МС-анализа. Условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования выбирали с помощью образцов сыворотки с внесением внутреннего стандарта и стандартных растворов кислот в концентрации 1 мкг/мл. Образцы готовили по описанной выше процедуре пробоподготовки и анализировали методом ГХ-МС в режиме сканирования по полному ионному току в диапазоне m/z 40–200. По полученным масс-спектрам аналитов выбирали характеристические значения m/z для анализа методом ГХ-МС и подбирали MRM-переходы для анализа методом ГХ-МС/МС. Оптимальную

температурную программу подбирали, варьируя начальную температуру термостата колонки и скорости подъема температуры.

Оборудование и условия проведения ГХ-МС-и ГХ-МС/МС-анализа. В сыворотке крови КЖК определяли на газовом хроматографе модели GC-2010 Plus с tandemным масс-спектрометрическим детектором модели GCMS TQ8040 (Shimadzu, Япония). Хроматографическое разделение компонентов осуществляли на капиллярной колонке Stabilwax длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной неподвижной фазы 0.25 мкм (Restek, США).

Условия хроматографического разделения: температура испарителя: 220 °C; температура интерфейса: 240 °C; температурная программа термостата: начальная температура 40 °C (0 мин), подъем от 40 до 230 °C со скоростью 10 °C/мин (5 мин); поток газа носителя (гелий): 1 мл/мин; режим дозирования пробы: без деления потока (splitless); объем вводимой пробы 2 мкл.

Условия масс-спектрометрического детектирования: режим детектирования – SCAN (сканирование по полному ионному току в диапазоне масс m/z 40–200) и ММР (мониторинг множественных реакций); метод ионизации – электронная ионизация (70 эВ), температура ионного источника 220 °C. Напряжение на умножителе: согласно результатам автоматической настройки; время задержки растворителя: 6 мин. В табл. 1 представлены параметры идентификации КЖК методом ГХ-МС и ГХ-МС/МС.

Метрологические характеристики методики определения короткоцепочечных жирных кислот. Для оценки содержания КЖК в образцах сыворотки строили градиуровочные зависимости. Градиуровочные растворы готовили путем внесения стандартных растворов КЖК различной концентрации в деионизованную воду. Аликвота раствора каждой концентрации объемом 200 мкл проходила полную процедуру пробоподготовки и анализа методами ГХ-МС и ГХ-МС/МС.

Воспроизводимость процедуры оценивали при анализе образцов сыворотки с внесением всех анализаторов в концентрации 0.5 мкг/мл. Для этого проводили процедуру пробоподготовки пяти параллельных аликвот сыворотки и анализировали полученные экстракты методами ГХ-МС и ГХ-МС/МС. В табл. 2 представлены линейные диапазоны концентраций (ЛД), пределы обнаружения (ПО) и относительные стандартные отклонения (s_r) при определении КЖК в образцах сыворотки двумя методами.

Оценивали воспроизводимость хроматографической системы и проверяли возможную кросс-контаминацию образцов в процессе анализа. Для этого готовили контрольные образцы сыворотки (QC), которые в данном случае применяли для оценки воспроизводимости результатов анализа на содержание выбранных известных метаболитов, а также для корректировки отклонения времен выхода анализаторов, облегчения аннотирования и идентификации неизвестных соединений. Для приготовления

Таблица 1. Параметры идентификации короткоцепочечных жирных кислот методом ГХ-МС и ГХ-МС/МС

Аналит	m/z		ММР-переход (энергия соударений, эВ)	RT, мин
	количественный	подтверждающий		
Уксусная D4	46	63	63 → 46 (6) 63 → 45 (6)	9.23 ± 0.02
Уксусная (C2)	43	60	60 → 43 (6) 60 → 45 (9)	9.30 ± 0.02
Пропионовая (C3)	74	45	73 → 55 (9) 74 → 73 (6) 74 → 56 (6)	10.45 ± 0.02
Изомасляная (iso-C4)	43	73	73 → 55 (9) 88 → 73 (6)	10.82 ± 0.02
Масляная (C4)	60	73	60 → 42 (9) 73 → 55 (9)	11.60 ± 0.02
Изовалериановая (iso-C5)	60	43	60 → 42 (9) 60 → 45 (9)	12.12 ± 0.02
Валериановая (C5)	60	73	60 → 42 (9) 73 → 55 (9)	12.90 ± 0.02
Капроновая (C6)	60	73	60 → 42 (9) 73 → 55 (9)	14.22 ± 0.02

Таблица 2. Метрологические характеристики методики определения короткоцепочечных жирных кислот в сыворотке крови

Аналит	ЛД, мкг/мл		ПО, мкг/мл		$s_r, \%, (n = 5)$	
	ГХ-МС	ГХ-МС/МС	ГХ-МС	ГХ-МС/МС	ГХ-МС	ГХ-МС/МС
C2	0.6–20	0.5–30	0.05	0.005	15	7
C3	0.1–2	0.01–2	0.08	0.007	24	9
изо-C4	0.1–2	0.01–5	0.06	0.007	10	7
C4	0.06–2	0.005–1	0.05	0.002	17	7
изо-C5	0.06–2	0.005–7	0.05	0.002	6	7
C5	0.1–2	0.005–0.05	0.09	0.002	26	10
C6	0.07–2	0.005–1	0.06	0.002	8	8

QC-образцов отбирали по 100 мкл каждого исследуемого образца сыворотки (группа 1 и группа 2) и объединяли их в один образец, после чего аликвоту пулированного образца подвергали процедуре пробоподготовки и анализировали методами ГХ-МС и ГХ-МС/МС после каждого трех исследуемых образцов сыворотки. Относительное стандартное отклонение результатов анализа (всего семь вводов образца QC из одной виалы в течение 24 ч) не превышало 7%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения КЖК в образцах сыворотки крови здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом нефропатия представлены в табл. 3 в виде медианы и интерквартильного размаха (Q2 [Q1; Q3]). Как видно, концентрации всех КЖК, кроме уксусной, в образцах сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом “Нефропатия” лежат ниже предела обнаружения методом ГХ-МС. Применение метода ГХ-МС в режиме регистрации полного ионного тока является привлекательным подходом в биоаналитических

исследованиях. Его огромное преимущество заключается в возможности ретроспективного пересмотра масс-хроматограмм в целях проверки гипотез, возникающих уже после проведения анализа. Запись масс-хроматограмм в режиме регистрации полного ионного тока позволяет совместить целевой и обзорный анализы в одной процедуре. Однако от использования этого преимущества приходится отказываться, если не достигаются биологически обусловленные пределы обнаружения целевых веществ. Метод ГХ-МС в режиме регистрации избранных ионов для аналитов с низкими молекулярными массами, как в случае с КЖК (m/z 43–74), не обеспечивает необходимой селективности анализа и не позволяет получить приемлемых валидационных характеристик в тех случаях, когда концентрации матричных компонентов на порядок и более превышают концентрации целевых веществ. Так, в работе Дауни с соавт. [13] при использовании метода ГХ-МС в режиме регистрации избранных ионов удалось валидировать методику с пределом определения 16 мкг/мл, что заведомо недостаточно для диагностических целей, как следует из табл. 3. Микализзи с соавт. [11] сообщили

Таблица 3. Результаты (мкг/мл) определения короткоцепочечных жирных кислот в образцах сыворотки крови

Аналит	Группа 1 (контроль)		Группа 2 (нефропатия)	
	ГХ-МС	ГХ-МС/МС	ГХ-МС	ГХ-МС/МС
C2	9.23 (3.98, 11.41)	8.50 (5.52, 12.62)	2.15 (1.09, 4.24)	2.58 (1.75, 4.63)
C3	0.19 (0.17, 0.30)*	0.24 (0.17, 0.36)	<ПО	0.15 (0.09, 0.21)
изо-C4	1.51 (1.14, 1.67)	1.38 (1.17, 1.62)	<ПО	0.06 (0.05, 0.15)
C4	0.13 (0.09, 0.19)*	0.09 (0.06, 0.17)	<ПО	0.05 (0.04, 0.08)
изо-C5	3.61 (3.14, 4.54)	4.09 (3.20, 5.18)	<ПО	0.06 (0.04, 0.11)
C5	<ПО	0.008 (0.010, 0.013)	<ПО	0.007 (0.005, 0.008)
C6	0.17 (0.1, 0.33)	0.20 (0.07, 0.31)	<ПО	0.03 (0.02, 0.04)

*Не обнаружено в половине исследуемых образцов (<ПО).

о пределах определения в плазме крови уксусной, пропионовой и масляной кислот 0.10, 0.06 и 0.07 мкг/мл соответственно. Наиболее низкие пределы определения КЖК в плазме крови достигнуты Яо с соавт. [16] – 0.3 мкг/мл для уксусной кислоты, 0.03 мкг/мл для остальных КЖК. У пациентов с тяжелыми формами хронических болезней почек концентрации КЖК в сыворотке/плазме крови могут быть ниже указанных пределов, что делает невозможным биомониторинг физиологического состояния таких пациентов. С учетом данных результатов для определения КЖК в сыворотке крови в диагностических целях выбран метод ГХ-МС/МС, применение которого позволяет снизить пределы определения КЖК в сыворотке крови в 10 и более раз и расширить диапазон определяемых концентраций в пределах, диктуемых требованиями клинической диагностики.

* * *

Разработана методика определения КЖК в сыворотке крови с пределами определения методом ГХ-МС 0.1 мкг/мл для уксусной, пропионовой, изомасляной и валериановой кислот, 0.06 мкг/мл для масляной и изовалериановой кислот, 0.07 мкг/мл для капроновой кислоты; пределы определения методом ГХ-МС/МС для уксусной, пропионовой и изомасляной кислот установлены на уровне 0.01 мкг/мл, для валериановой, масляной, изовалериановой и капроновой кислот – 0.005 мкг/мл.

Низкое содержание валериановой кислоты в исследуемых образцах сыворотки крови здоровых добровольцев и пациентов с подтвержденным диагнозом “Нефропатия” не позволяет проводить анализ методом ГХ-МС, поскольку концентрации лежат ниже предела определения. Существенное снижение концентраций КЖК в образцах сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом “Нефропатия” также делает метод ГХ-МС недостаточно чувствительным для целей анализа. Методом ГХ-МС/МС КЖК обнаружены во всех исследуемых образцах сыворотки крови в концентрациях, превышающих пределы определения методики.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Институту нефрологии при Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. акад. И.П. Павлова за предоставление образцов для анализа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-15-00510).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Образцы для анализа из коллекции Первого Санкт-Петербургского медицинского университета им. И.П. Павлова были перекодированы и переданы в лабораторию с отсутствием доступа к персональным данным пациентов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jha V., Garcia-Garcia G., Iseki K., Li Z., Naicker S., Plattner B., Yang C.W. Chronic kidney disease: Global dimension and perspectives // Lancet. 2013. V. 382. P. 260.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60687-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60687-X)
2. Marotta F. Gut Microbiota in Aging and Chronic Diseases. Switzerland: Springer Cham, 2023. P. 153.
<https://doi.org/10.1007/978-3-031-14023-5>
3. Lun H., Yang W., Zhao S., Jiang M., Xu M., Liu F., Wang Y. Altered gut microbiota and microbial biomarkers associated with chronic kidney disease // Microbiologyopen. 2018. V. 8. № 4. Article e00678.
<https://doi.org/10.1002/mbo3.678>
4. Zhang D., Jian Y.P., Zhang Y.N., Li Y., Gu L.T., Sun H.-H. et al. Short-chain fatty acids in diseases // Cell Commun. Signal. 2023. V. 21. P. 212.
<https://doi.org/10.1186/s12964-023-01219-9>
5. Hu J., Lin S., Zheng B., Cheung P.C.K. Short-chain fatty acids in control of energy metabolism // Crit. Rev. Food Sci. 2018. V. 58. P. 1243.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1245650>
6. McCarthy D.D., Kujawa J., Wilson C., Papandile A., Poreci U. Mice overexpressing BAFF develop a commensal flora-dependent, IgA-associated nephropathy // J. Clin. Invest. 2011. V. 121. P. 3991.
<https://doi.org/10.1172/JCI45563>
7. De Angelis M., Montemurno E., Piccolo M., Vannini L., Lauriero G., Maranzano V. et al. Microbiota and metabolome associated with immunoglobulin A nephropathy (IgAN) // PLOS One. 2014. V. 9. № 6. Article e99006.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099006>
8. Zhao Y.-Y. Recent advances of gut microbiota in chronic kidney disease patients // Explor. Med. 2022. V. 3. P. 260.
<https://doi.org/10.37349/emed.2022.00090>
9. Chai L., Luo Q., Cai K., Wang K., Xu B. Reduced fecal short-chain fatty acids levels and the relationship

- with gut microbiota in IgA nephropathy // BMC Nephrol. 2021. V. 22. № 1. P. 209.
<https://doi.org/10.1186/s12882-021-02414-x>
10. Yamamura R., Nakamura K., Kitada N., Aizawa T., Shimizu Y., Nakamura K. et al. Associations of gut microbiota, dietary intake, and serum short-chain fatty acids with fecal short-chain fatty acids // Biosci. Microbiota Food Health. 2020. V. 39. № 1. P. 11.
<https://doi.org/10.12938/bmfh.19-010>
 11. Micalizzi G., Buzzanca C., Chiaia V., Mondello M., Caciola F., Caccamo D., Mondello L. Measurement of short-chain fatty acids in human plasma by means of fast gas chromatography-mass spectrometry // J. Chromatogr. B. 2024. V. 1235. Article 124044.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2024.124044>
 12. Garcia-Villalba R., Gimenez-Bastida J.A., Garcia-Conesa M.T., Tomas-Barberan F.A., Carlos Espin J., Larrosa M. Alternative method for gas chromatography-mass spectrometry analysis of short-chain fatty acids in faecal samples // J. Sep. Sci. 2012. V. 35. № 15. P. 1906.
<https://doi.org/10.1002/jssc.201101121>
 13. Douy C., Dufourny S., Brose F., Verachtert P., Rondia P., Lebrun S. et al. Development of an analytical method to detect short-chain fatty acids by SPME-GC-MS in samples coming from an in vitro
 - gastrointestinal model // J. Chromatogr. B. 2019. V. 1124. P. 188.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.06.013>
 14. Zhang S., Wang H., Zhu M.-J. A sensitive GC/MS detection method for analyzing microbial metabolites short chain fatty acids in fecal and serum samples // Talanta. 2019. V. 196. P. 249.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.049>
 15. Lotti C., Rubert J., Fava F. Development of a fast and cost-effective gas chromatography-mass spectrometry method for the quantification of short-chain and medium-chain fatty acids in human biofluids // Anal. Bioanal. Chem. 2017. V. 409. P. 5555.
<https://doi.org/10.1007/s00216-017-0493-5>
 16. Yao L., Davidson E.A., Shaikh M.W. Quantitative analysis of short-chain fatty acids in human plasma and serum by GC-MS // Anal. Bioanal. Chem. 2022. V. 414. P. 4391.
<https://doi.org/10.1007/s00216-021-03785-8>
 17. Magliocca G., Mone P., Di Iorio B.R., Heidland A., Marzocco S. Short-chain fatty acids in chronic kidney disease: Focus on inflammation and oxidative stress regulation // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. № 10. P. 5354.
<https://doi.org/10.3390/ijms23105354>

DETERMINATION OF SHORT-CHAIN FATTY ACIDS IN SERUM AS BIOMARKERS OF RENAL DYSFUNCTION

M. D. Shachneva^a, * , E. I. Savelieva^a

^aResearch Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology
Leningrad Region, Russia

*E-mail: shachneva_mariya@mail.ru

Abstract. Short-chain fatty acids (SCFAs) produced by the gut microbiota play an important role in maintaining the immune status of the body. Chronic kidney disease is associated with decreased microbial diversity in the gut and impaired production of SCFAs. In chronic kidney disease, the level of SCFAs in circulating blood decreases; therefore, the development of highly sensitive methods is required for the determination of SCFAs in serum. We have developed a technique for the determination of SCFAs in serum and tested it in a comparative study of serum samples from healthy volunteers and patients with diagnosed chronic kidney disease. The determination of SCFAs (acetic, propionic, oily, valerian, caproic, isobutyric and isovalerian) in blood serum was performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). The limits of determination of the investigated SCFAs by GC-MS method are in the range of 0.05–0.09 µg/mL, by GC-MS/MS method – 0.002–0.007 µg/mL. We showed that in blood serum samples of patients with chronic kidney disease the concentrations of all investigated SCFAs are reduced in comparison with the control group and lie below the limits of detection by GC-MS method.

Keywords: short-chain fatty acids, gas chromatography, tandem mass spectrometry, serum, chronic kidney disease.