



О ПРИМЕНЕНИИ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕНГМЮРА ДЛЯ ПРОФИЛИРОВАНИЯ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С МАТРИЧНО- АКТИВИРОВАННОЙ ЛАЗЕРНОЙ ДЕСОРБЦИЕЙ/ИОНИЗАЦИЕЙ

А.С. Гладчук^{1,2}, П.Н. Вариошкин^{1,*}, Е.Г. Батоцыренова^{1,3}, Я.К. Калниня^{1,2},
Е.А. Золотоверхая¹, А.В. Андреева¹, Е.П. Подольская²

¹ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова ФМБА России»
192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

² ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН
198095, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский
университет» Минздрава России
194100, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

Применение технологии Ленгмюра для анализа свободных жирных кислот позволяет получать монослои, состоящие из монокарбоксилатов бария, а характерное изотопное распределение бария позволяет упростить идентификацию соединений, содержащих данный элемент, в масс-спектрах. Формирование мономолекулярных плёнок Ленгмюра непосредственно на поверхности матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией мишени позволяет сократить и упростить пробоподготовку, а также повысить чувствительность методики профилирования свободных жирных кислот в биологических образцах различной природы.

Ключевые слова: свободные жирные кислоты, МАЛДИ-МС, плазма крови, технология Ленгмюра, монокарбоксилаты бария

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа проведена в рамках государственного задания ФМБА России № 388-00071-24-00 (код: 64.002.24.800).

Для цитирования: Гладчук А.С., Вариошкин П.Н., Батоцыренова Е.Г., Калниня Я.К., Золотоверхая Е.А., Андреева А.В., Подольская Е.П. О применении технологии Ленгмюра для профилирования свободных жирных кислот методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией. *Биомедицина*. 2024;20(3E):30–34. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-30-34>

Поступила 10.04.2024

Принята после доработки 13.05.2024

Опубликована 01.11.2024

APPLICATION OF LANGMUIR TECHNOLOGY FOR PROFILING FREE FATTY ACIDS BY MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION/IONIZATION MASS SPECTROMETRY

Alexey S. Gladchuk^{1,2}, Pavel N. Varioshkin^{1,*}, Ekaterina G. Batotsyrenova¹,
Yana K. Kalninia^{1,2}, Ekaterina A. Zolotoverkhaya¹,
Arina V. Andreeva¹, Ekaterina P. Podolskaya²

¹ Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Bekhtereva Str., 1

² Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences
198095, Russian Federation, Saint Petersburg, Ivana Chernykh Str., 31-33A

³ Saint Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
194100, Russian Federation, Saint Petersburg, Litovskaya Str., 2

The application of Langmuir technology for analyzing free fatty acids makes it possible to obtain monolayers consisting of barium monocarboxylates, while the characteristic isotopic distribution of barium makes it possible to simplify the identification of compounds containing this element in mass spectra. The formation of monomolecular Langmuir films directly on the surface of the matrix-assisted laser desorption/ionization of the target, reduces and simplifies sample preparation, at the same time as increasing the sensitivity of the technique for profiling of free fatty acids in biological samples of different origin.

Keywords: free fatty acids, MALDI-MS, blood plasma, Langmuir technology, barium monocarboxylates

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: this work performed in the framework of State task of the Federal Medical and Biological Agency of Russia No. 388-00071-24-00 (code: 64.002.24.800).

For citation: Gladchuk A.S., Varioshkin P.N., Batotsyrenova E.G., Kalniniya Ya.K., Zolotoverkhaya E.A., Andreeva A.V., Podolskaya E.P. Application of Langmuir Technology for Profiling Free Fatty Acids by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):30–34. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-30-34>

Submitted 10.04.2024

Revised 13.05.2024

Published 01.11.2024

Введение

Масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС) является хорошо зарекомендовавшим себя методом для чувствительного, высокопроизводительного и экономически эффективного определения широкого ряда аналитов, к которым, в частности, относятся липиды [2]. Тем не менее, анализ свободных жирных кислот (СЖК) методом МАЛДИ-МС зачастую затруднён при использовании распространённых органических матриц, что определяет актуальность разработки новых методик для эффективного определения СЖК с помощью этого метода.

В последние годы всё чаще предлагается формат МАЛДИ-МС-анализа на основе проведения одного или нескольких этапов пробоподготовки непосредственно на поверхности МАЛДИ-мишени, который получил название «лаборатория на ми-

шени», что позволяет сократить время эксперимента, снизить затраты на реактивы и уменьшить количество требуемого образца. Недавно был предложен подход, основанный на формировании монослоёв монокарбоксилатов бария непосредственно на поверхности МАЛДИ-мишени при использовании технологии Ленгмюра, что позволило значительно увеличить чувствительность анализа СЖК в виде их бариевых солей методом МАЛДИ-МС [4]. Предложенный подход ввиду высокой чувствительности и экспрессности представляется перспективным при сравнительном анализе большого количества серий биологических образцов различной природы.

Цель исследования состояла в обобщении известных данных о применении технологии Ленгмюра для качественного и полуколичественного анализа свободных жирных кислот в виде их бариевых солей

методом МАЛДИ-МС в монослоях, сформированных непосредственно на поверхности МАЛДИ-мишени.

Данное исследование является подготовительным этапом по выполнению научно-исследовательской работы по изучению метаболического синдрома в условиях светового десинхроноза.

СЖК в организме служат важным источником энергии, а также могут выступать в роли сигнальных молекул в различных клеточных процессах, в частности секреции инсулина [3]. Однако содержание их внутри организма невелико ввиду того, что они являются детергентами, а повышение их концентрации может приводить к возникновению токсических эффектов [5]. Это позволяет рассматривать СЖК как потенциальные биомаркеры при диагностике различных метаболических заболеваний, в т. ч. метаболического синдрома в условиях светового десинхроноза.

Введение в состав молекулы атома бария (получение соли СЖК) позволяет сдвинуть m/z аналита на 137 ед. в область более высоких значений m/z . Кроме того, барий обладает большим ионным радиусом, что определяет выраженный ионный характер связи в его соединениях и имеет характерное изотопное распределение, упрощающее идентификацию соединений, имеющих в своём составе этот элемент.

Формирование монослоёв монокарбоксилатов бария осуществляется в ходе реакции на границе раздела водной и органической фаз. На первой стадии на ячейку мишени из нержавеющей стали с полированной поверхностью наносят каплю водной субфазы (водный раствор ацетата бария с добавлением матрицы, 2,5-дигидроксибензойной кислоты) объёмом 0,6 мкл. Затем на поверхность водной капли наносят равный объём *n*-гексанового экстракта из биологического образца, содержащего СЖК, дожидаются испарения органической фазы и после на-

носят ещё одну порцию экстракта. После полного испарения органической фазы на поверхности ячейки МАЛДИ-мишени образуются монослои с упорядоченной структурой. На последнем этапе пробоподготовки образовавшиеся монослои обрабатывают с помощью 90% водного ацетонитрила для удаления с поверхности излишков матрицы и других гидрофильных примесей. Важно отметить, что образование монослоя происходит в условиях, не приводящих к расщеплению липидов, следовательно, связанные жирные кислоты не участвуют в формировании монослоя.

Рассматриваемый подход ранее был оптимизирован для проведения широкоформатных исследований путём введения процедуры автоматической регистрации масс-спектров, что позволило повысить воспроизводимость результатов [1]. Оптимизированная методика была успешно апробирована при исследовании хронического отравления крыс ацетатом ртути. Было установлено, что в плазме крови крыс, подвергшихся интоксикации, наблюдались значимые ($p < 0,05$) изменения в относительном содержании ряда СЖК. Таким образом, оптимизированный подход может быть эффективно использован в биологических экспериментах, требующих значительное количество как экспериментальных, так и технических повторов.

Выводы

1. Обобщены данные о методах формирования монослоёв бариевых солей амфифильных соединений на поверхности МАЛДИ-мишени за счёт адаптации технологии Ленгмюра к полусферической поверхности водной субфазы для дальнейшего масс-спектрометрического анализа, что позволяет сократить время пробоподготовки и увеличить чувствительность анализа амфифильных соединений методом МАЛДИ-МС.

2. Нанесение смеси свободных жирных кислот в н-гексане приводит к образованию регулярного монослоя монокарбоксилатов бария, что позволяет проводить

профилирование свободных жирных кислот методом МАЛДИ-МС с высокой чувствительностью, точностью и воспроизводимостью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Гладчук А.С., Батоцыренова Е.Г., Подольская Е.П. Оптимизация методики анализа свободных жирных кислот с помощью комбинации МАЛДИ-масс-спектрометрии и технологии получения монослоев Ленгмюра. *Научное приборостроение*. 2020;30(1):39–49. [Gladchuk A.S., Batotsyrenova E.G., Podolskaya E.P. Optimizatsiya metodiki analiza svobodnykh zhirnykh kislot s pomoshch'yu kombinatsii MALDI-mass-spektrometrii i tekhnologii polucheniya monosloev Lengmyura [Optimization of the method for analysis of free fatty acids using the combination of MALDI mass spectrometry and Langmuir monolayers technology]. *Nauchnoe priborostroenie* [Scientific Instrumentation]. 2020;30(1):39–49. (In Russian)]. DOI: 10.18358/np-30-1-134
2. Engel K.M., Prabutzki P., Leopold J., Nimptsch A., Lemnitzer K., Vos D.R.N., Hopf C., Schiller J. A new update of MALDI-TOF mass spectrometry in lipid research. *Prog. Lipid Res.* 2022;86:101145. DOI: 10.1016/j.plipres.2021.101145
3. Itoh Y., Kawamata Y., Harada M., Kobayashi M., Fujii R., Fukusumi S., Ogi K., Hosoya M., Tanaka Y., Uejima H., Tanaka H., Maruyama M., Satoh R., Okubo S., Kizawa H., Komatsu H., Matsumura F., Noguchi Y., Shinohara T., Hinuma S., Fujisawa Y., Fujino M. Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic beta cells through GPR40. *Nature*. 2003;422(6928):173–176. DOI: 10.1038/nature 01478
4. Podolskaya E.P., Gladchuk A.S., Keltsieva O.A., Dubakova P.S., Silyavka E.S., Lukasheva E., Zhukov V., Lapina N., Makhmalieva M.R., Gzgzyan A.M., Sukhodolov N.G., Krasnov K.A., Selyutin A.A., Frolov A. Thin film chemical deposition techniques as a tool for fingerprinting of free fatty acids by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2019;91(2):1636–1643. DOI: 10.1021/acs.analchem.8b05296
5. Schiffelers S., Saris W., van Baak M. The effect of an increased free fatty acid concentration on thermogenesis and substrate oxidation in obese and lean men. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2001;25(1):33–38. DOI: 10.1038/sj.ijo.0801528

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гладчук Алексей Сергеевич, к.т.н., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова ФМБА России», ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН;
e-mail: aleglad24@gmail.com

Вариошкин Павел Николаевич*, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: varioshkin.p.n@toxicology.ru

Батоцыренова Екатерина Геннадьевна, к.б.н., доц., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова ФМБА России», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: bkaterina2009@yandex.ru

Alexey S. Gladchuk, Cand. Sci. (Tech.), Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: aleglad24@gmail.com

Pavel N. Varioshkin*, Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: varioshkin.p.n@toxicology.ru

Ekatgerina G. Batotsyrenova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Saint Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: bkaterina2009@yandex.ru

Калнина Яна Константиновна, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова ФМБА России», ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН;

e-mail: kl.n.yana.k@gmail.com

Yana K. Kalninia, Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: kl.n.yana.k@gmail.com

Золотоверхая Екатерина Андреевна, к.б.н., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова ФМБА России»;

e-mail: e.zolotoverkhaja@yandex.ru

Ekaterina A. Zolotoverkhaya, Cand. Sci. (Biol.), Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: e.zolotoverkhaja@yandex.ru

Андреева Арина Валерьевна, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова ФМБА России»;

e-mail: andreevarina98@mail.ru

Arina V. Andreeva, Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: andreevarina98@mail.ru

Подольская Екатерина Петровна, д.т.н., ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН;

e-mail: ek.podolskaya@gmail.com

Ekaterina P. Podolskaya, Dr. Sci. (Tech.), Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: ek.podolskaya@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author