

# Molekularno slikanje z masno spektrometrijo in uporaba metode v histologiji

(Ana Dolinar, Tjaša Goričan, Veronika Jarc)

**MALDI-IMS** je vrsta masne spektrometrije, kjer z lasersko desorpcijo ioniziramo molekule in jih nato detektiramo na običajnih detektorjih, največkrat je to TOF. Omogoča analizo večjih bioloških molekul (do 100 kDa), ki se nahajajo v histoloških vzorcih.

Priprava svežih vzorcev: zamrzemo tkivo, razrežemo, položimo na nosilec, naneseemo matriks.

Priprava obdelanih vzorcev (fiksacija s formalinom, vključitev v parafin): toplotna obdelava, encimska obdelava s tripsinom, nanos matriksa.

Metode nanosa matriksa: suho prekrivanje (lipidi), sublimacija (lipidi), naprševanje (proteini), točkovni nanos (proteini).

Pogosto uporabljeni matriksi: DHB (za lipide; 2,5-dihidroksi-benzojska kislina), CHCA (za peptide, proteine <10 kDa;  $\alpha$ -ciano-4-hidroksi-cimetna kislina), SA (za proteine >10 kDa; 3,5-dimetoksi-4-hidroksi-cimetna kislina).

Profiliranje tkiva oz. "molekularni podpis" tkiva: posnamemo spekter v nekaj točkah, ki nas zanimajo ter nato gledamo razlike v spektrih različnih vzorcev.

Slikanje tkiva: spekter posnamemo za vsako točko (koordinati x, y) in na podlagi dobljenih spektrov prikažemo porazdelitev proteina v tkivu.

Prednosti metode: rekonstrukcija podatkov v 3D sliko, neposredna povezava med spektri in anatomskimi ali patološkimi značilnostmi, ne potrebujemo tarčno specifičnih reagentov in predhodnega označevanja analitov, analiza večih vzorcev hkrati.

## Diagnostične in prognozične študije

V zadnjih letih se vse bolj uporablja metoda MALDI-IMS za identifikacijo bioloških molekul (proteinov), ki sodelujejo pri razvoju in napredovanju bolezni (raka). Te biološke molekule so t.i. biomarkerji oz. biološki označevalci, ki kažejo na določeno patološko stanje v telesu.

Diagnostične študije: Primerjajo tumorska in zdrava tkiva ter različne podtipse tumorjev med seboj na način, da iščejo razlike v ekspresiji proteinov.

Prognozične študije: Kategorizirajo paciente z dolgo in kratko dobo preživetja. Čas preživetja pacienta ugotavljajo glede na to, kateri protein je bolj izražen v tkivu.

Po metodi MALDI IMS identifikacijo določenega proteina potrdimo z metodama IHC in western blot. Metoda IHC ima namreč boljšo resolucijo od metode MALDI IMS in boljše lokalizira proteine. Uporaba obeh metod omogoča, da dobimo več informacij za identifikacijo proteinov.

## Študije odgovorov zdravil na peptidni in proteinski analizi

Poznamo veliko različnih terapij za odpravljanje tumorjev, vendar poznamo tumorje, ki so odporni na določena zdravila. To pa je težko napovedati pred začetkom zdravljenja. Zato je ključno, da se pred kliničnim zdravljenjem napove oz. identificira molekularni marker tega tumorja, saj je tako zdravljenje uspešnejše.

## Lipidna analiza

Lipidi imajo poleg pomembne vloge pri prenosu signalov in shranjevanju energije, tudi majhno maso (manjšo od 1000 Da). Ta majhnost omogoča, da lahko v tkivu z MALDI IMS opazujemo regije, ki so značilne za lipide, ker lahko razberemo katera vrsta lipidov je tam prisotna.

## Aplikacija MALDI IMS za razvoj zdravil

Za popolno razumevanje odziva zdravil in za odkritje zdravil je pomembno opazovati potencialna zdravila čez celoten metabolizem. Za analizo zdravil se uporablja MS/MS, ki omogoča, da se sočasno opazuje vrsta molekule in struktura specifičnih fragmentov te molekule, poleg tega ta zvišuje senzitivnost in identifikacijo signalov.