

## MALDI ZOBRAZOVACÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE PRO STUDIUM FYZIOLOGICKÝCH POCHODŮ V NÁDORECH

ROMAN GURÁŇ<sup>a,b</sup>, ONDŘEJ ZÍTKA<sup>a,b</sup>,  
MIGUEL ANGEL MERLOS RODRIGO<sup>a,b</sup>,  
VOJTĚCH ADAM<sup>a,b</sup> a RENÉ KIZEK<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, <sup>b</sup> Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Technická 10, 616 00 Brno  
kizek@sci.muni.cz

Došlo 16.12.14, přepracováno 30.6.15, přijato 8.7.15.

Klíčová slova: MALDI MSI, nádorové markery, zobrazovací metody

### Obsah

1. Úvod
2. Studium nádorů pomocí MALDI MSI
  - 2.1. Princip MALDI MSI
  - 2.2. Techniky přípravy vzorku pro MALDI MSI
  - 2.3. Využitelnost MALDI MSI v diagnostice nádorových onemocnění
  - 2.4. MALDI MSI pro studium fyziologie nádorů
  - 2.5. MALDI MSI – kombinace s jinými technikami
3. Závěr

### 1. Úvod

Pro lepší pochopení dějů probíhajících v nádorech bylo nutné rozvíjet analytické metody s vhodným prostorovým rozlišením, s širokým dynamickým rozsahem, s možností přesné a rychlé analýzy desítek až stovek analytů zároveň. Jednou z metod, která se začala kolem roku 2000 uplatňovat v analýze prostorové distribuce různých biomarkerů, byla MALDI zobrazovací hmotnostní spektrometrie (MALDI MSI, MALDI imaging). Tato metoda využívá desorpce analytů s maticí pomocí laserového záření, nejčastěji v UV oblasti. Díky následně měkké ionizaci dochází k tvorbě především jedenkrát nabitých molekulárních iontů, což umožňuje relativně jednoduchou interpretaci hmotnostních spekter a zjištění molekulových hmotností analytů je proto rychlé. Nejčastěji se MALDI používá v kombinaci s průletovým hmotnostním analyzátozem (TOF), který umožňuje měření v širokém hmotnostním rozsahu a zaznamenává celé spektrum najednou. Poprvé byl MALDI MSI použit pro analýzu exprese proteinů v myším a lidském mozku<sup>1</sup>. Od té doby se metodou zabý-

vá stále více výzkumných týmů. Zároveň dochází k vývoji instrumentace, např. ke zrychlování analýzy<sup>2</sup>.

V tomto referátu byla provedena literární rešerše zaměřená na výsledky MALDI MSI různých nádorů z posledních dvou let. Základní rešerše byla provedena s využitím databáze Web of Science s použitím klíčových slov „MALDI imaging of tumors“ a „MALDI imaging and cancer“. Následně byly vybrány články podle toho, aby tematicky co nejvíce pojednávaly o různých typech nádorů a aby pocházely z renomovaných impaktovaných časopisů.

## 2. Studium nádorů pomocí MALDI MSI

### 2.1. Princip MALDI MSI

Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF se nejčastěji využívá pro identifikaci proteinů a peptidů a analýzu dalších biomolekul. Díky měkké ionizaci, širokému rozsahu měřitelných hmotností a rychlému záznamu spekter se tato metoda začala uplatňovat ve výzkumu molekulárních profilů různých karcinomů a v hledání vhodných biomarkerů jednotlivých typů onkologických onemocnění a tím se z MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie stává jeden z dalších diagnostických nástrojů. Pro kvantitativní a diagnostickou proteomiku lze využít principu SELDI (surface enhanced laser desorption/ionization – laserová desorpce/ionizace usnadněná povrchem), který využívá povrchově upravené MALDI destičky pro interakci analytů s povrchem<sup>3,4</sup>.

Typický postup MALDI MSI je následující. Nejprve je řez tkáně, nejčastěji o tloušťce 5–20 μm, nanesen na mikroskopické sklíčko pokryté vodivou vrstvou oxidu inditého dopovaného cínem (kvůli extrakčnímu napětí u MALDI), bílým korekčním perem jsou označeny minimálně tři kalibrační značky a pak jsou dané řezy na sklíčku skenovány pro vytvoření kvalitních fotografií vzorků. Po skenování je na vzorky tkáně nanesena rozprašovačem (existuje několik typů, komerčních i nekomerčních) souvislá homogenní vrstva připraveného roztoku matrice. Vzorek je vysušen a poté jsou sklíčka připevněna k MALDI adaptéru a vložena do iontového zdroje hmotnostního spektrometru. V ovládacím programu hmotnostního spektrometru se nejprve načte naskenovaný obrázek sklíčka se vzorkem a souřadnice sklíčka na adaptéru v iontovém zdroji se kalibrují pomocí kalibračních značek na sklíčku. Jakmile ovládací program vypočte souřadnice vzorku v iontovém zdroji, na skenovaném obrázku se označí regiony, které se budou měřit, a nastaví se hustota rastru pomocí šířky jednoho rastrového bodu. Nyní se nastaví automatická metoda s potřebnými parametry měření a před samotným měřením se provede kalibrace přístroje pomocí externí kalibrace na směsi standardů peptidů/proteinů v potřebném hmotnostním rozsahu. Data ze změ-

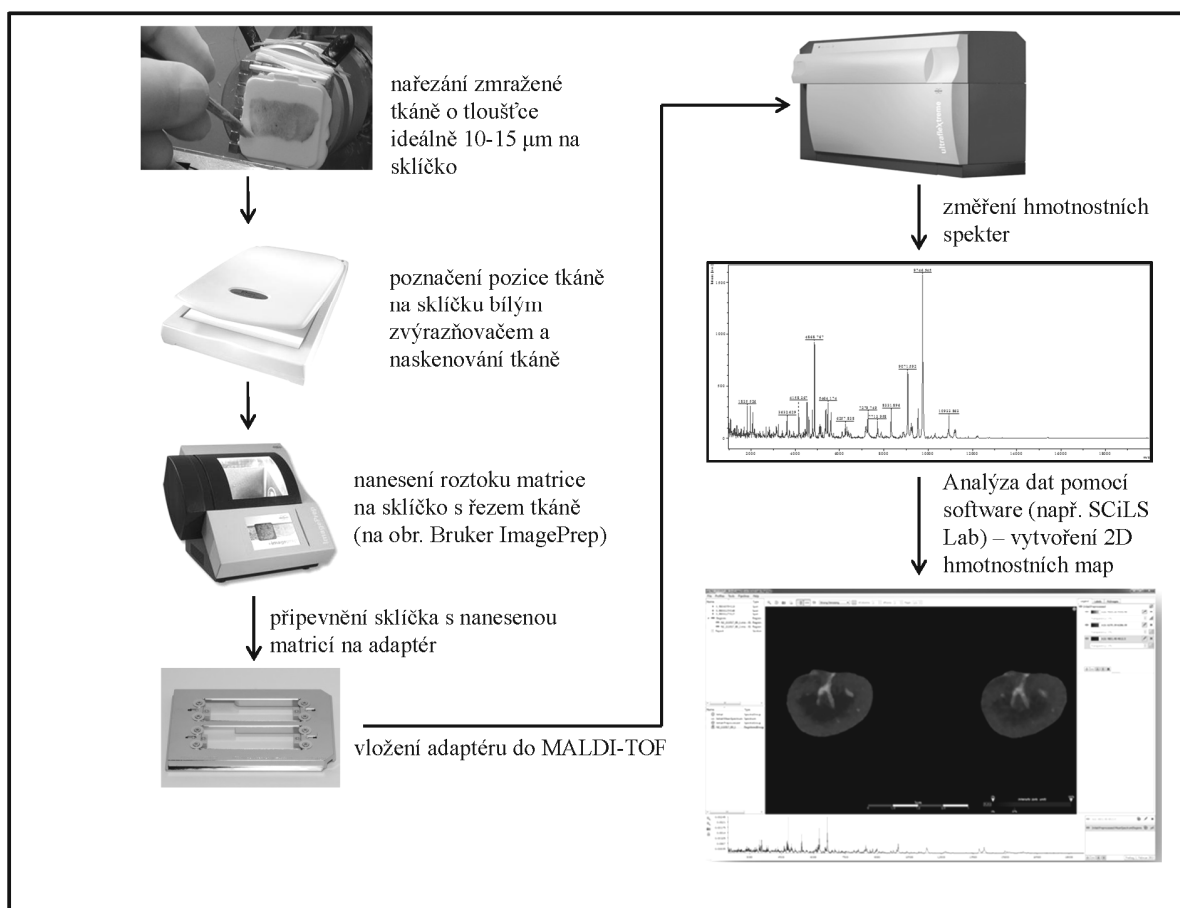
řených hmotnostních spekter se následně nahrají do vyhodnocovacího programu a v něm se vytvoří 2D mapy distribuce analytů o určitých molekulových hmotnostech – pro každou hmotnost je vybrána určitá barva a intenzita této barvy značí intenzitu daného píku v hmotnostním spektru (obr. 1). Získané 2D hmotnostní mapy lze korelovat s mikroskopickou fotografií daného řezu.

## 2.2. Techniky přípravy vzorku pro MALDI MSI

Pomocí MALDI zobrazovací hmotnostní spektrometrie mohou být zkoumány vzorky rozdílné povahy, nejčastěji různé orgány, rostlinná pletiva, kolonie bakterií a buňky samotné<sup>5–8</sup>. Existuje několik typů řezů tkání využívaných pro MALDI MSI, jedná se o řezy z čerstvé tkáně, z tkáně konzervované v ethanolu, z tkáně fixované formaldehydem a zalité v parafínu nebo z rychle a hluboce zmrazené tkáně<sup>9–11</sup>. Nejvíce se analyzují tkáně z mozku, ledvin, jater, plic, srdce a různé typy nádorů. Lidské tkáně se získávají převážně z biopsií, případně po resekci. Preferováno je okamžité a hluboké zmrazení získané tkáně (teplota –

80 °C), které minimalizuje degradaci analytů a fixuje jejich prostorovou distribuci. Důležité je, aby proběhlo zmrazení celé tkáně najednou a co nejrychleji, protože jinak může docházet k jejímu popraskání a k tvorbě nežádoucích ledových krystalů. Proto je žádoucí postupovat tak, že se tkáň volně zabalí do hliníkové fólie a postupně se ponoří do mrznoucí tekutiny, jako je dusík, ethanol nebo isopropanol, a udržuje se v závislosti na použité tekutině při teplotě –40 nebo –80 °C (cit.<sup>12</sup>). Řezy zmrazené tkáně o tloušťce 5–20 μm se běžně získávají pomocí kryotomu. Fixace mražených řezů na vodivé sklíčko se zpravidla provádí dehydratací – obvykle se sklíčko s tkání nejprve krátce namočí do 70% ethanolu a poté se na pár minut namočí do 90–100% ethanolu. Pro analýzu proteinů se před nanesením matrice vymyjí lipidy a soli ethanolom a vodou, případně pomocí jiných organických rozpouštědel jako je xylen nebo chloroform. Pro odsolení tkáně při analýze lipidů je možné použít roztok octanu amonného nebo mravenčanu amonného<sup>12</sup>.

U metody MALDI MSI z řezů tkání, které byly fixované formaldehydem a zalité parafinem, je příprava vzor-



Obr. 1. Schéma obecného pracovního postupu u MALDI zobrazovací hmotnostní spektrometrie

ků komplikovanější. Parafin může potlačovat ionizaci a formaldehydová fixace způsobuje dehydrataci, denaturaci, síťování (methylenové můstky), srážení a aglutinaci proteinů, což znemožňuje jejich detekci. Po přichycení tkáňových řezů na vodivé sklíčko je proto potřeba vzorek deparafinovat inkubací v xylenu po dobu několika minut. Poté se vzorek rehydratuje namáčením sklíčka se vzorkem do řady roztoků ethanolu s jeho postupně snižující se koncentrací. Následně se pro znovuzískání antigenů pomocí rozrušení methylenových můstků zesíťovaných proteinů vzorek inkubuje v pufrách o různém pH a iontové síle při vysokých teplotách – jedná se např. o Tris (2-amino-2-hydroxymethyl-propan-1,3-diol, 100 mM, na pH 9 upraveno pomocí 100mM NaOH nebo HCl) a citrátový (11,5 ml 100mM monohydrátu kyseliny citronové + 88,5 ml 100mM dihydrátu citrátu sodného, pH 6) pufr. K pufrům se také mohou přidávat různá chelatační činidla a organická rozpouštědla<sup>10</sup>.

Po fixaci tkáňových řezů na vodivém sklíčku se vzorky nechají vysušit a poté se může nanést roztok matrice, případně lze před nanesením matrice aplikovat roztok proteolytického enzymu pro štěpení proteinů přímo v tkáni, tzv. „on-tissue digestion“ – štěpení probíhá v tkáňovém řezu na sklíčku<sup>12</sup>. Další informace o metodách přípravy vzorků pro MALDI MSI lze získat např. v publikacích<sup>13,14</sup>.

### 2.3. Využitelnost MALDI MSI v diagnostice nádorových onemocnění

MALDI MSI se využívá především jako experimentální diagnostický nástroj pro detekci a identifikaci nových biomarkerů spojených s různými patologickými stavy – převážně s nádory<sup>4</sup>. Ve spojení s histologickým vyhodnocením poskytuje cenné údaje o rozdílech biomolekulárních profilů mezi nemocnou a zdravou tkání. Potenciál pro využití MALDI MSI jako běžného diagnostického nástroje v klinických laboratořích je poměrně velký<sup>15</sup>. Jeden z hlavních důvodů, proč zatím nepatří MALDI MSI mezi rutinní diagnostické nástroje, je pravděpodobně nedostatek proškolených pracovníků klinických laboratořích a využívání validovaných a dobře fungujících imunoanalytických metod na automatizovaných analytických linkách<sup>16</sup>.

### 2.4. MALDI MSI pro studium fyziologie nádorů

Od svého počátku byla MALDI MSI využívána pro analýzu různých nádorů. V této kapitole je podán stručný přehled současných významných výsledků.

#### *Studium nádorů mozku*

Při charakterizaci molekulárního profilu glioblastomu (zhoubný mozkový nádor) s využitím metody MALDI MSI ve spojení s ISD (in-source decay – rozpad ve zdroji) byly vytvořeny 2D hmotnostní mapy řezů mozkových tkání myši s 30 μm prostorovým rozlišením a byla vyzorována heterogenita glioblastomu<sup>17</sup>. Bylo identifikováno několik proteinů v různých oblastech a vývojových stádiích nádoru, které hrají zásadní roli při jeho vzniku. Mezi tyto

proteiny patří mimo jiné GFAP (gliální fibrilární acidický protein), Thymosin β4, S100-A6 (calcyclin – calcyklin).

#### *Studium nádorů jícnu*

Spojení MALDI MSI a tkáňového mikročipu (TMA) bylo využito pro hledání molekulárních profilů spojených s klinicko-patologickými parametry karcinomu jícnu<sup>18</sup>. Takto bylo odhaleno 72 rozdílných *m/z* píků spojených s nádorovými buňkami, z nichž 48 bylo detegováno pouze v karcinomu dlaždicových buněk a 12 jich bylo detegováno pouze v adenokarcinomech (nádory vzniklé ze žlázového epitelu). Výsledky zdůrazňují podstatné biologické rozdíly mezi adenokarcinomy a karcinomy dlaždicových buněk, a zároveň podtrhují možnosti výkonu MALDI MSI. Dále byly metodou MALDI MSI charakterizovány proteomické změny u Barrettova adenokarcinomu a jeho pre maligních stadií<sup>19</sup>. Barrettův adenokarcinom vzniká u pacientů s tzv. „Barrettovým jícnem“ (BJ) – jedná se o stav jícnu, kdy je část původního dlaždicového epitelu sliznice nahrazena metaplastickým cylindrickým epitelem, je to jeden z následků refluxní nemoci jícnu. Z 60 *m/z* píků různě exprimovaných molekul v Barrettově adenokarcinomu a prekurzorové lézi byly hmotnostní spektrometrií a imunohistochemií identifikovány dva proteiny – COX7A2 (cytochrom c oxidasa – polypeptid 7A2) a S100-A10. S100-A10 byl multivariační analýzou identifikován jako nezávislý nový prognostický faktor Barrettova adenokarcinomu.

#### *Studium nádorů plic*

Metodou MALDI ve spojení s lineární iontovou pastí (LTQ) a orbitrapem byla charakterizována prostorová distribuce léčiv v mikroprostředí karcinomu lidských plic a krysích xenoimplantátů (implantáty, které pocházejí z jiného organismu)<sup>20</sup>.

#### *Studium nádorů prsu*

Poprvé byla využita kombinace optického zobrazení ve spojení s MALDI MSI a iontově-mobilní separací pro analýzu distribuce lipidů u rostoucích nádorů prsu (proliferace nádorových buněk, invazivita, metastáze)<sup>21</sup>. V jiné studii byly metodami MALDI MSI a MALDI tandemové hmotnostní spektrometrie detegovány markery rané přestavby tkáňového mikroprostředí invazivní rakoviny prsu. Bylo zjištěno, že IGHA2 (imunoglobulin HA2) je v mikroprostředí nádoru prsu zónově specifický a mohl by sloužit jako marker rané přestavby mikroprostředí nádoru u invazivní rakoviny prsu, i jako marker metastáz u místních lymfatických uzlin pacientů s nádorem prsu<sup>22</sup>.

#### *Studium nádorů slinivky břišní*

MALDI MSI umožnila rozlišit metastáze nádorů prsu a slinivky břišní studiem parafinových řezů tkáně, fixovaných formaldehydem. Podařilo se rozeznat primární nádory prsu od primárních nádorů slinivky břišní s přesností 83 %, s citlivostí 86 % a se specifitou 77 %. Taktéž byly správně identifikovány prsní metastáze a metastáze slinivky břišní<sup>23</sup>. Pomocí MALDI MSI byly detegovány uvol-

něné *N*-glykany v řezech zdravých myších ledvin, lidských karcinomů slinivky břišní a prostaty a v tkáňovém mikročipu hepatocelulárního karcinomu. Složení *N*-glykanů bylo následně ověřeno přímou kolizně-indukovanou fragmentací v tkáni. Výsledky prokázaly účinnost MALDI MSI pro rozlišení nádorových tkání od normálních<sup>24</sup>.

#### *Studium nádorů jater*

Porovnáním MALDI MSI proteomických profilů dvou hlavních subtypů (H a P) jaterních cholangiokarcinomů (CC) byla prokázána jejich nádorová heterogenita. CC jsou druhým nejčastějším typem primárního nádoru u jater. V H subtypech byly nejvíce diskriminační lidské neutrofilní peptidy 1–3, které byly exprimovány nádorovými buňkami, a S100 proteiny (A6 a A11), které byly omezeny na stromální oblast; v P subtypech byl nejvíce diskriminační thymosin  $\beta$ 4 (cit.<sup>25</sup>). V jiné studii byl zjištěn proteomový profil jaterních metastáz kolorektálního karcinomu (CRC). Byly vybrány dva antigeny, LTBP2 a TGFBI, které jsou konzistentně exprimovány v metastázích CRC a jejichž klinický potenciál byl demonstrován pomocí *in vivo* protilátkové analýzy<sup>26</sup>. Další studie byla zaměřena na komparaci proteomu hepatocelulárního karcinomu (HCC), s a bez mikrovaskulární invaze (MiVI), za účelem identifikace zástupných biomarkerů MiVI. Srovnávací analýzou hmotnostních spekter těchto dvou skupin bylo detegováno 30 diferenčních *m/z* píků, z nichž dva píky byly poté identifikovány jako *N*-acetylovaný histon H4, jenž jeden byl dimetylovaný na K20 a druhý byl dimetylovaný na K20 a acetylovaný na K16. Oba píky byly ověřeny pomocí western blotu a imunohistochemie. Díky získaným výsledkům by mohla být detekce modifikovaných forem histonu H4 využitelná pro léčbu pacientů s HCC (cit.<sup>27</sup>).

#### *Studium nádorů ledvin*

Pro profilování proteinů v nádorové tkáni ledvin byly využity metody MALDI MSI a tandemová hmotnostní spektrometrie a pro celkovou analýzu lipidů ve stejných tkáních byla využita MALDI-FT-ICR (MALDI ve spojení s Fourierovou transformační iontovou cyklotronovou rezonancí) hmotnostní spektrometrie. Celkem bylo identifikováno 26 proteinů a 39 lipidů, které rozlišují zdravou tkáň od nádorové tkáně<sup>28</sup>.

#### *Studium nádorů tlustého střeva*

MALDI MSI analýzou tkáňových řezů kolorektálních karcinomů (CRC) a přilehlých zdravých tkání sliznice bylo zjištěno, že CRC tkáň obsahuje charakteristické fosfolipidové profily ve srovnání se zdravou tkání a že různé oblasti uvnitř mikroprostředí CRC ukazují odlišné biochemické profily. Byly také objeveny biochemické rozdíly mezi zdravou tkání, přilehlou k nádoru a vzdálenou od nádoru<sup>29</sup>.

#### *Studium nádorů prostaty*

Pro charakterizaci řezů prostatické tkáně byla využita HR-MALDI MSI (MALDI MSI s vysokým rozlišením).

Bylo detegováno 26 exprimovaných molekul v prostatě, které byly identifikovány tandemovou hmotnostní spektrometrií. Bylo zjištěno, že fosfatidylinositoly PI (18:0/18:1), PI (18:0/20:3) a PI (18:0/20:2) jsou signifikantně více exprimovány v nádorové tkáni než v benigním epitelu. Rozdíl v expresi fosfatidylinositolů proto mohou sloužit jako nový diagnostický nástroj karcinomu prostaty<sup>30</sup>. Ve studii zabývající se zlepšením specifity detekce karcinomu prostaty a charakterizací jednotlivých tumorů byly pomocí MALDI MSI proteomického profilování identifikovány charakteristické *m/z* píky rozlišující mezi karcinomem, benigním epitelem a stromální oblastí. Bylo zjištěno, že v prostatické tkáni je nadměrně exprimována biliverdin reduktasa B (BLVRB)<sup>31</sup>. V další studii byla využita metoda MALDI MSI tkáňového mikročipu (TMA), obsahujícího vzorky prostaty 1044 pacientů, k identifikaci molekulárních profilů spojených s klinicko-patologickými parametry karcinomu prostaty. Bylo identifikováno 15 rozdílných *m/z* píků souvisejících s karcinomem prostaty<sup>32</sup>.

#### *Studium nádorů kostí*

V inspirativní studii bylo vůbec poprvé využito spojení MALDI MSI a magnetické rezonance (MRI) pro studium kostních nádorů a metastáz. Ze získaných dat byly vytvořeny 3D modely kostních nádorů. Byla zjištěna rozdílná exprese kalcyklinu, ubiquitinu a dalších proteinů uvnitř nádorových buněk, a zároveň hemoglobin A a kalgranulin A pomohly při rozlišení regionů bohatých na červené, resp. na bílé krvinky<sup>33</sup>. V jiné studii bylo, pomocí hmotnostně-spektrometrické molekulární histologie pacientů s heterogenními, mikroskopicky identickými, kostními tumory (chondrosarkomy), možné zvýraznit typy nádorových buněk, které mohou být charakterizovány jediným hmotnostním profilem<sup>34</sup>.

#### 2.5. MALDI MSI – kombinace s jinými technikami

U metody MALDI MSI je poměrně běžná kombinace 2D hmotnostních map s imunohistochemickými mikroskopickými fotografiemi. Lze využít 3 možné postupy přípravy vzorků pro MALDI MSI a imunohistochemii<sup>12</sup>: 1) je využito barvení řezu pomocí barviva, které neinterferuje při MSI analýze (kresylová violet' apod.), 2) jsou nařezány dva po sobě následující řezy, přičemž jeden je použit pro MSI analýzu a druhý pro imunohistochemii, 3) je nejprve provedena MSI analýza a následně je odstraněna matrice pomocí rozpouštědla a stejný řez je použit pro imunohistochemii. Poslední postup patří mezi nejpoužívanější a pro barvení se využívá nejčastěji hematoxylin a eosin (H&E).

Další možnost spočívá v kombinaci MALDI 2D hmotnostních map s LA-ICP MS (laserová ablace ve spojení s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem)<sup>35</sup>, což by bylo možné využít např. při korelaci prostorové distribuce metaloproteinů, zjištěných pomocí MALDI MSI, s prostorovou distribucí iontů kovů, zjištěnou pomocí LA-ICP MS. Použít by se dala taky LA-ICP OES (laserová ablace ve spojení s optickou emisní spek-

trometrii s indukčně vázaným plazmatem). Mezi cílové analyty lze zařadit zejména metalothioneiny<sup>36–39</sup>. Je žádoucí, aby rozlišení obrazů pro korelaci bylo shodné nebo alespoň podobné, protože jinak může dojít ke zkreslení a nesprávné interpretaci.

### 3. Závěr

Podle získaných výsledků lze konstatovat, že díky MALDI MSI různých typů karcinomů je možné identifikovat několik vhodných biomarkerů. Aby je bylo možné považovat za klinicky významné analyty, bude nutné ověření v nezávislých studiích. Jakmile bude jejich validace úspěšná, lze očekávat větší zapojení této techniky v klinické praxi. S rychlejším rozšířením MALDI MSI v klinických laboratořích dojde pravděpodobně ke standardizaci metody.

Pro významnější zapojení v klinické praxi je však zapotřebí, aby neustál výzkum a vývoj účinnější ionizace a přesnější a rychlejší detekce. Otázkou však je, zda proti většímu rozšíření této metody nepřispívá její invazivní charakter, kdy je potřeba pro analýzu odebrat vzorek. Z tohoto hlediska lze o MALDI MSI uvažovat spíše jako o podpůrné a verifikační metodě *in vivo* zobrazovacích metod.

*Tato práce byla podpořena projektem SIX CZ.1.05/2.1.00/03.0072.*

#### Seznam zkratk

|            |   |
|------------|---|
| BLVRB      | biliverdin reductase B – biliverdin reduktasa B   |
| CC         | cholangiocarcinoma – cholangiokarcinom  |
| COX7A2     | cytochrome c oxidase – polypeptide 7A2 – cytochrom c oxidasa – polypeptid 7A2   |
| CRC        | colorectal cancer/carcinoma – kolorektální karcinom   |
| FT         | Fourier transform – Fourierova transformace   |
| GFAP       | glial fibrillary acidic protein – gliální fibrilární acidický protein   |
| HCC        | hepatocellular carcinoma – hepatocelulární karcinom   |
| HR         | high resolution – vysoké rozlišení  |
| ICR        | ion cyclotron resonance – iontová cyklotronová rezonance  |
| IGHA2      | immunoglobulin „heavy constant alpha 2“ – imunoglobulin HA2   |
| LA-ICP MS  | laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry – laserová ablace ve spojení s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem        |
| LA-ICP OES | laser ablation-inductively coupled plasma optical emission spectrometry – laserová ablace ve spojení s optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným |

|       |   |
|-------|---|
| LTBP2 | plazmatem<br>latent-transforming growth factor beta-binding protein 2 – latentní transformační růstový faktor beta vázající protein 2 |
| LTQ   | linear trap quadrupole – lineární iontová kvadrupólová past   |
| MiVI  | microvascular invasion – mikrovaskulární invaze   |
| MSI   | mass spectrometry imaging – zobrazovací hmotnostní spektrometrie  |
| PI    | phosphatidylinositol – fosfatidylinositol   |
| SELDI | surface enhanced laser desorption/ionization – laserová desorpce/ionizace usnadněná povrchem  |
| TGFBI | transforming growth factor, beta-induced – transformační růstový faktor beta  |
| TMA   | tissue microarray – tkáňová microarray/tkáňový mikročip   |

#### LITERATURA

1. Stoeckli M., Chaurand P., Hallahan D. E., Caprioli R. M.: *Nat. Med.* 7, 493 (2001).
2. Bednařík A., Kuba P., Houška P., Moskovets E., Tomalová I., Krásenský P., Preisler J.: *Chem. Listy* 107, S294 (2013).
3. Češková P., Brožková K., Hernychová L., Štěrba J., Valík D., Vojtěšek B.: *Chem. Listy* 100, 974 (2006).
4. Rodrigo M. A. M., Zitka O., Krizkova S., Moulick A., Adam V., Kizek R.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 95, 245 (2014).
5. Gorzolk K., Bednarz H., Niehaus K.: *Planta* 239, 1321 (2014).
6. Passarelli M. K., Ewing A. G.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 17, 854 (2013).
7. Louie K. B., Bowen B. P., Cheng X. L., Berleman J. E., Chakraborty R., Deutschbauer A., Arkin A., Northen T. R.: *Anal. Chem.* 85, 10856 (2013).
8. Liu H., Chen R., Wang J., Chen S., Xiong C., Wang J., Hou J., He Q., Zhang N., Nie Z., Mao L.: *Anal. Chem.* 86, 10114 (2014).
9. Chaurand P., Latham J. C., Lane K. B., Mobley J. A., Polosukhin V. V., Wirth P. S., Nanney L. B., Caprioli R. M.: *J. Proteome Res.* 7, 3543 (2008).
10. Gorzolk K., Walch A.: *Histol. Histopathol.* 29, 1365 (2014).
11. Steven R. T., Bunch J.: *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 4719 (2013).
12. Nimesh S., Mohottalage S., Vincent R., Kumarathanan P.: *Int. J. Mol. Sci.* 14, 11277 (2013).
13. Thomas A., Chaurand P.: *Bioanalysis* 6, 967 (2014).
14. Martin-Lorenzo M., Balluff B., Sanz-Maroto A., van Zeijl R. J. M., Vivanco F., Alvarez-Llamas G., McDonnell L. A.: *J. Proteomics* 108, 465 (2014).
15. Ko K. H., Kwon C. I., Park S. H., Han N. Y., Lee H. K., Kim E. H., Hahm K. B.: *Clin. Endosc.* 46, 611 (2013).
16. Nedvěd J., Hajdúch M., Lemr K., Havlíček V.: *Chem.*

- Listy 105, 356 (2011).
17. Ait-Belkacem R., Berenguer C., Villard C., Ouafik L., Figarella-Branger D., Chinot O., Lafitte D.: *Proteomics* 14, 1290 (2014).
  18. Quaas A., Bahar A. S., von Loga K., Seddiqi A. S., Singer J. M., Omidi M., Kraus O., Kwiatkowski M., Trusch M., Minner S., Burandt E., Stahl P., Wilczak W., Wurlitzer M., Simon R., Sauter G., Marx A., Schluter H.: *Histopathology* 63, 455 (2013).
  19. Elsner M., Rauser S., Maier S., Schone C., Balluff B., Meding S., Jung G., Nipp M., Sarioglu H., Maccarone G., Aichler M., Ruchtinger A., Langer R., Jutting U., Feith M., Kuster B., Ueffing M., Zitzelsberger H., Hofler H., Walch A.: *J. Proteomics* 75, 4693 (2012).
  20. Vegvari A., Fehniger T. E., Rezeli M., Laurell T., Dome B., Jansson B., Welinder C., Marko-Varga G.: *J. Proteome Res.* 12, 5626 (2013).
  21. Chughtai K., Jiang L., Greenwood T. R., Glunde K., Heeren R. M. A.: *J. Lipid Res.* 54, 333 (2013).
  22. Kang S. K., Maeng H., Kim B. G., Qing G. M., Choi Y. P., Kim H. Y., Kim P. S., Kim Y., Kim Y. H., Choi Y. D., Cho N. L.: *J. Proteome Res.* 11, 4567 (2012).
  23. Casadonte R., Kriegsmann M., Zweynert F., Friedrich K., Bretton G., Otto M., Deininger S. O., Paape R., Belau E., Suckau D., Aust D., Pilarsky C., Kriegsmann J.: *Proteomics* 14, 956 (2014).
  24. Powers T. W., Neely B. A., Shao Y., Tang H. Y., Troyer D. A., Mehta A. S., Haab B. B., Drake R. R.: *Plos One* 9, (2014).
  25. Le Faouder J., Laouirem S., Alexandrov T., Ben-Harzallah S., Leger T., Albuquerque M., Bedossa P., Paradis V.: *Proteomics* 14, 965 (2014).
  26. Turtoi A., Blomme A., Debois D., Somja J., Delvaux D., Patsos G., Di Valentin E., Peulen O., Mutijima E. N., De Pauw E., Delvenne P., Detry O., Castronovo V.: *Hepatology* 59, 924 (2014).
  27. Pote N., Alexandrov T., Le Faouder J., Laouirem S., Leger T., Mebarki M., Belghiti J., Camadro J. M., Bedossa P., Paradis V.: *Hepatology* 58, 983 (2013).
  28. Jones E. E., Powers T. W., Neely B. A., Cazares L. H., Troyer D. A., Parker A. S., Drake R. R.: *Proteomics* 14, 924 (2014).
  29. Mirnezami R., Spagou K., Vorkas P. A., Lewis M. R., Kinross J., Want E., Shion H., Goldin R. D., Darzi A., Takats Z., Holmes E., Cloarec O., Nicholson J. K.: *Mol. Oncol.* 8, 39 (2014).
  30. Goto T., Terada N., Inoue T., Nakayama K., Okada Y., Yoshikawa T., Miyazaki Y., Uegaki M., Sumiyoshi S., Kobayashi T., Kamba T., Yoshimura K., Ogawa O.: *Plos One* 9, (2014).
  31. Pallua J. D., Schaefer G., Seifarth C., Becker M., Meding S., Rauser S., Walch A., Handler M., Netzer M., Popovscaia M., Osl M., Baumgartner C., Lindner H., Kremser L., Sarg B., Bartsch G., Huck C. W., Bonn G. K., Klocker H.: *J. Proteomics* 9, 500 (2013).
  32. Steurer S., Borkowski C., Odinga S., Buchholz M., Koop C., Huland H., Becker M., Witt M., Trede D., Omidi M., Kraus O., Bahar A. S., Seddiqi A. S., Singer J. M., Kwiatkowski M., Trusch M., Simon R., Wurlitzer M., Minner S., Schlomm T., Sauter G., Schluter H.: *Int. J. Cancer* 133, 920 (2013).
  33. Seeley E. H., Wilson K. J., Yankeelov T. E., Johnson R. W., Gore J. C., Caprioli R. M., Matrisian L. M., Sterling J. A.: *Bone* 61, 208 (2014).
  34. Jones E. A., Schmitz N., Waaijer C. J. F., Frese C. K., van Remoortere A., van Zeijl R. J. M., Heck A. J. R., Hogendoorn P. C. W., Deelder A. M., Altelaar A. F. M., Bovee J., McDonnell L. A.: *J. Proteome Res.* 12, 1847 (2013).
  35. Sabine Becker J.: *J. Mass Spec.* 48, 255 (2013).
  36. Raudenska M., Gumulec J., Podlaha O., Sztalmachova M., Babula P., Eckschlager T., Adam V., Kizek R., Masarik M.: *Metallomics* 6, 55 (2014).
  37. Gumulec J., Raudenska M., Adam V., Kizek R., Masarik M.: *Plos One* 9, e85346 (2014).
  38. Sztalmachová M., Gumulec J., Cernei N., Hlavna M., Zítka O., Babula P., Adam V., Kizek R., Masařík M.: *Chem. Listy* 106, 1075 (2012).
  39. Rodrigo M. A. M., Zítka O., Adam V., Kizek R.: *J. Metallomics Nanotechnol.* 1(2), 25 (2014).
- R. Gurán<sup>a,b</sup>, O. Zítka<sup>a,b</sup>, M. A. M. Rodrigo<sup>a,b</sup>, V. Adam<sup>a,b</sup>, and R. Kizek<sup>a,b</sup>** (<sup>a</sup> Department of chemistry and biochemistry, Mendel University, Brno, <sup>b</sup> Central European Institute of Technology, Brno University of Technology): **The MALDI Imaging for Study of the Physiological Processes in Tumors**
- In recent years, MALDI imaging mass spectrometry, also known as MALDI imaging or MALDI MSI, has been getting wider recognition thanks to an increasing number of studies devoted to various tumor markers, comparing 2D mass maps of healthy and diseased tissue sections. By determining the spatial distribution of markers in the tissue we step forward to clarify the physiological processes in tumors and to better understand them. Moreover, by combining 2D mass maps with microscopic photos of the sections from histology, we get a more comprehensive picture of the distribution of the examined analytes. However, one of the disadvantages of MALDI imaging is a complicated ionization of analytes in a complex matrix of tissues and thus low detection limits. In this paper we report on the current state of MALDI imaging in oncology research. Development option of this method in the near future is outlined according to authors' opinion.