

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор, директор

Куницына Анастасия Владимировна

научный сотрудник, ассистент

Ачилов Атабег Батырович

научный сотрудник

Шишин Степан Александрович

IT-сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных
проблем биоэкологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Ульяновский
государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-168413

MALDI-TOF КАК ИНСТРУМЕНТ НЕИНВАЗИВНОГО СКРИНИНГА ОНКОМАРКЕРОВ В АСПЕКТЕ РАЗВИТИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

Аннотация: в статье ретроспективно за последние 26 лет рассматривается роль масс-спектрометрии (MS) в изучении онкогенеза и поиска диагностических и прогностических биомаркеров злокачественно трансформированных клеток. Несмотря на существующие ограничения, будущее MS в онкологии остается многообещающим благодаря значительным достижениям в области интеграции данных на основе машинного обучения, портативных устройств для отбора проб и клинических исследований, которые продвигают метаомиксные технологии в направление прецизионной терапии.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, метаболиты рака, метаболический биомаркер, метаболомика, микроокружение опухоли, меланома, белковое профилирование.

Онкологические заболевания характеризуются высоким уровнем пролиферации клеток, инвазии и метастазирования; остаются основной причиной смерти

среди людей моложе 85 лет [2; 19]. Меланома кожи выделяется как самое агрессивное мультифакторное онкозаболевание с высокой мутационной нагрузкой (14–17 мутаций/Мб в ДНК), ранним метастазированием и стремительным ростом заболеваемости. По данным GLOBOCAN, ежегодно регистрируется более 324 000 новых случаев [11]. Хотя меланома составляет лишь 3–5% всех случаев рака кожи, она ответственна за ~75% случаев смертности, с 10-летней выживаемостью менее 10%, что обусловлено поздней диагностикой и повышенной устойчивостью к системной терапии [7]. Ключевые онкогены опухоли связаны с сигнальным путем RAS/MAPK; в процессе развития клетки опухоли сталкиваются и адаптируются к различным метаболическим стрессам, которые создает кислая и гипоксическая микросреда опухоли [16]. Метаболомика рака стала мощным инструментом для понимания биологии опухолей, идентификации биомаркеров и метаболитов, а также для развития прецизионной онкологии. MS, наряду со многими другими аналитическими платформами, приобрела популярность за последние десятилетия благодаря своей уникальной способности напрямую анализировать геном, протеом, транскриптом и метаболиты в тканях и биологических жидкостях с пространственным разрешением для понимания клеточных сигнальных путей и диагностики лекарственных средств. MS обладает потенциалом стать многоплатформенным методом анализа всех малых молекул из биологических образцов, особенно в сочетании с другими методами для повышения чувствительности, селективности, скорости, молекулярной специфичности. Все это демонстрирует успешное применение методов MS в омиксных исследованиях, в частности, в исследованиях рака с позиции внедрения концепции персонализированной медицины.

Масс-спектрометрия как аналитическая основа омиксных исследований.

Масс-спектрометрия (MS) – это комплексная высокочувствительная и селективная технология идентификации и количественного определения органических молекул, лежащая в основе геномики, протеомики и метаболомики, возможность анализировать протеом, посттрансляционные модификации белков, распределение лекарств и метаболитов в тканях с пространственным разрешением

[4]. Современные системы позволяют детектировать аналиты в аттомолярном диапазоне (10^{-18} моль/л). Анализ протеома с помощью MS используется в широком спектре биомедицинских исследований, включая анализ клеточных реакций и специфических для заболеваний посттрансляционных модификаций белков, открывая большие перспективы для поиска более эффективных кандидатов в биомаркеры, которые могут быть проверены на доклиническом этапе, для ранней диагностики заболеваний.

Технология MS базируется на измерении отношения массы к заряду (m/z) и состоит из трех этапов: ионизация молекул в газовой фазе; разделение ионов по m/z в масс-анализаторе с помощью электромагнитных полей; детектирование ионов и получение сигнала, пропорционального их количеству [6]. Масс-анализатор – ключевой узел, чьи характеристики (разрешающая способность, точность, диапазон масс и воспроизводимость) определяют качество анализа. Ранние методы (EI, CI) были ограничены небольшими массами и термической нестабильностью образцов. Революцию произвели мягкие методы ионизации, позволяющие анализировать крупные биомолекулы без фрагментации: электро-спрейная ионизация (ESI) и MALDI стали основными для биологии [6].

MALDI (матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация): образец смешивается с матрицей (поглощает УФ-лазер, стабильна в вакууме, переносит протоны), наносится на пластину и облучается лазером (обычно 337 нм). Матрица испаряется, ионизируя аналит. Хорошая матрица в MALDI должна быть способна поглощать энергию лазера, быть вакуумно-стабильной и способствовать переносу протонов без повреждения молекул аналита. К числу часто используемых матриц относятся СНСА (циано-4-гидроксикоричная кислота), идеально подходящая для пептидов и небольших белков, синапиновая кислота (3,5-диметокси-4-гидроксикоричная кислота), используемая для более крупных белков и аналитов с высокой массой, и DHB (2,5-дигидроксibenзойная кислота), часто используемая для пептидов, гликозидов и в режиме MALDI-MSI с положительными ионами, матрицы на основе наночастиц (например, оксида железа, серебра

и золота), жидкокристаллические и нанокристаллические матрицы, которые особенно полезны для анализа липидов и малых молекул.

MALDI-TOF – это метод «сверху-вниз», разработанный в 1980-х годах F. Hillenkamp и K. Tanaka для анализа пептидов и белков различных типов тканей путем прямого воздействия, используя небольшое количество образца – 1 мкл [4]. В MALDI ионы десорбируются из твердой фазы, разведенный образец смешивают с избытком соответствующей матрицы и наносят на пластину MALDI, после чего он высыхает и сокристаллизуется внутри матрицы. Компоненты смеси переводятся в газовую фазу лазерным лучом, который попадает на кристалл образца-матрицы, вызывая, косвенно, испарение матрицы, содержащей аналиты. Матрица поглощает энергию лазера и действует как донор или рецептор протонов, ионизируя аналиты в катионном и анионном виде.

MALDI-IMS (Imaging Mass Spectrometry) – перспективный инструмент в поиске биомаркеров в области трансляционной медицины, который позволяет получать молекулярные изображения тканей (большие объемы данных с возможностью создания карты плотности для каждого значения m/z) и картировать множество метаболитов в срезах тканей толщиной 30–50 мкм. MALDI-IMS была представлена в 1994 г. позволяет исследовать молекулярное распределение метаболитов, белков и липидов без мечения используя метод десорбционной электро-спрейной ионизации (Desorption Electrospray Ionization, DESI), при этом этапы подготовки образцов сокращаются. С помощью этой методики были исследованы характерные липидные профили, связанные с различными формами рака, и результаты коррелируют с гистопатологическим исследованием. В последние годы эта методика была разработана для распределения лекарственных препаратов с применением в визуализации терапевтических агентов низкомолекулярных соединений в срезах опухолей рака молочной железы [4].

Разрешение лазера является решающим фактором, который влияет на пространственную точность, чувствительность и молекулярное покрытие при визуализации и обнаружении метаболитов. В системах субклеточной MALDI-MSI оно обычно составляет от 200 мкм до примерно 10–20 мкм. Размер кристаллов

матрицы, однородность после подготовки образца и диффузия ионов в срезе ткани, наряду с диаметром лазерного пятна, являются факторами, влияющими на разрешение лазера.

MALDI также зависит от эталонных спектральных баз данных, содержащих данные масс-спектров, структурные аннотации и биологический контекст. Например, база данных метаболома человека (HMDB) является наиболее полной и тщательно составленной базой данных метаболитов человека, содержащей более 220 000 записей о метаболитах, что позволяет точно сопоставлять массы и идентифицировать их в исследованиях метаболомики рака. Руководящие принципы качества для метаболомических исследований и основы отчетности предоставляются Инициативой по стандартам метаболомики, созданной в 2007 году, в рамках которой приведена классификация метаболитов, обнаруженные методом MALDI, по четырем уровням достоверности, с описанием степени их идентификации.

Эволюция MS в онкологии: от белковых карт к мультиомиксным фенотипам.

Зарождение метода: белковая визуализация и первые протеомные профили. В 2000 г. были получены первые MALDI-спектры непосредственно из тканей опухолей, что позволило создавать молекулярные карты гистологии на основе белков и пептидов. Параллельно продемонстрировали возможность регистрации спектров с микропрепаратов, полученных лазерной микродиссекцией (LCM), что открыло путь к профилированию протеома конкретных клеточных популяций. Однако анализ малых полярных метаболитов оставался ограниченным из-за несовершенства матриц. К 2001–2002 гг. MALDI-MSI утвердился как основной инструмент тканевого картирования белков, позволяя различать границы опухоли и микроокружение. Внедрение SELDI (поверхностно-усиленная лазерная десорбция) и совершенствование пробоподготовки повысили чувствительность метода. Уже в 2003 г. MALDI-профилирование замороженных тканей применили для классификации подтипов немелкоклеточного рака легких, а SELDI – для сыворо-

точной диагностики гепатоцеллюлярной карциномы. К 2004 г. метод начали использовать для поиска биомаркеров и, что важно, для пространственного картирования лекарственных препаратов, а также освоили безматричную ионизацию на кремнии (DIOS) для малых молекул [2].

Прорыв в пространственном разрешении и переход к липидомике. Ключевым достижением 2005 г. стало доведение пространственного разрешения до ~25 мкм, что имело решающее значение для картирования гетерогенных участков опухолей головного мозга, включая малые метаболиты и липиды. Была представлена трехмерная реконструкция изображений. В 2006 г. устранили основные технические барьеры для детекции липидов, внедрили роботизированное нанесение матрицы на области, выбранные патологами, и масштабировали MSI на большие срезы [8]. С 2007 г. фокус сместился с протеомики на визуализацию липидов и малых молекул (рак толстой кишки, метастазы в печени). Начали применять тандемную MS/MS на тканях и разработали новые матрицы (DHAP/DHA) [5]. Критическим этапом 2008 г. стала адаптация MALDI-MSI для анализа клинических архивных образцов, залитых в парафин (FFPE), что открыло доступ к огромным гистологическим коллекциям. В этом же году метод применили для визуализации распределения противоопухолевых препаратов. К 2009 г. была создана концепция спектральных библиотек в стиле NIST для колоректального рака и обнаружены гликаные биомаркеры в сыворотке при раке молочной железы, яичников и простаты [18].

Доминирование липидного профилирования и технические усовершенствования. В 2010–2012 гг. MALDI-MSI активно применяли для визуализации липидов в немелкоклеточном раке легких, используя матричные наночастицы и органические соли, что повысило чувствительность и разрешение до ~15 мкм. Впервые показали, что липидные профили дифференцируют опухоль от нормальной ткани и классифицируют подтипы. Важным шагом стало последовательное применение DESI (для липидов) и MALDI (для белков) на одном срезе, объединив метаболомику и протеомику [17]. С 2012 г. метод расширили на низкомолекуляр-

ные энергетические метаболиты, включая FFPE-блоки. В 2013 г. MALDI перешел к крупномасштабным тканевым микрочипам (ТМА) с сотнями образцов пациентов, что продемонстрировало возможность интеграции в клиническую патологию для диагностики и прогноза. В 2014 г. исследования на свежемороженых срезах колоректального рака выявили метаболические изменения в здоровой слизистой возле опухоли, а также впервые использовали ионизацию в открытой среде интраоперационно для отслеживания метаболитов при операциях на головном мозге [13].

Метаболитная визуализация. В 2015 г. произошел прорыв в визуализации «метаболического уровня»: специализированные матрицы (NEDC) позволили картировать очень малые метаболиты, включая глюкозу, и выявить внутриопухолевые градиенты, соответствующие эффекту Варбурга, связав оксигенацию с молекулярными фенотипами [1]. Компания Bruker коммерциализировала MALDI-2 – систему с двумя лазерами – с повторной ионизацией нейтральных частиц, увеличивая выход ионов в 10–100 раз. В 2016 г. акцент сместился на стандартизацию, контроль качества и статистическую обработку данных, а также на локализацию химиотерапевтических препаратов и их метаболитов внутри 3D-клеточных моделей, что важно для анализа лекарственной резистентности. Исследования выявили молекулярные дискриминаторы метастазирования [14].

Выход на клинический уровень: мультиомика и высокое разрешение. В 2017 г. метод MALDI-FT-ICR-MSI с усовершенствованным матричным покрытием (MCAEF) позволил детектировать и локализовать более 1000 эндогенных метаболитов в ткани простаты. Представлены портативные системы, такие как MasSpec Pen, для классификации тканей в реальном времени. В 2018–2019 гг. стандартизировали обнаружение N-гликанов, расширили область применения на АТФ/АДФ/АМФ в опухолях пациентов и мониторинг метаболизма лекарств в органоидах. MALDI-2 был адаптирован к коммерческим платформам, что резко улучшило детекцию липидов и малых молекул [9]. В 2020 г. MasSpec Pen интегрировали в роботизированную хирургию, а MALDI-2 – в систему с атмосферным давлением (timsTOF fleX). Проводятся сопоставления метаболических карт

с полным экзомом и РНК-последовательностями из FFPE-срезов. В 2021 г. визуализацию N-гликанов применили к большим тканевым микрочипам рака простаты, связав их со степенью злокачественности и рецидивом. MALDI начали использовать для 3D-сфероидов, моделируя пространственное распределение метаболитов при лечении [15].

Интеграция с другими омиксными технологиями и прогностические возможности. 2022 год стал этапом мультиплатформенной интеграции: метаболомику MALDI на FFPE-срезах объединили с данными полного экзоста и РНК-секвенирования, показав корреляцию пространственных метаболических характеристик с мутациями и экспрессией генов. Сверхвысокоразрешающая MALDI-FT-ICR-MSI на образцах почечного рака идентифицировала метаболиты, связанные с общей выживаемостью, что перевело метод от диагностики к прогнозированию исхода [12]. Выявлены ограничения для некоторых полярных метаболитов, что обусловило обязательное сочетание MALDI-MSI с LC-MS/MS (для высокой чувствительности) и GC-MS (для летучих соединений). В 2023 году оптимизировали протоколы для фосфатных энергетических метаболитов, увеличив интенсивность сигнала до 20 раз, ввели изовизуализацию метаболических потоков в органах [10].

Одноклеточный уровень, пространственная транскриптомика и фармакодинамика. В 2024 г. усовершенствовали MALDI-2 для изотопного трассирования полярных метаболитов и разработали протоколы PRISM-MS для анализа гидрофильных метаболитов на уровне отдельных клеток, что позволило изучать метаболическую гетерогенность внутри опухолей [20]. Важнейшей вехой стала разработка инструкций по сопоставлению карт MALDI-MSI с масс-цитометрией и пространственной транскриптомикой, связав метаболические фенотипы с клеточной идентичностью и иммунным микроокружением. В 2025 г. продемонстрировали новые этапы предобработки тканей для полярных и изотопно-меченых метаболитов, а также визуализировали L-аргинин в опухолях при лечении инги-

битором аргиназы, доказав, что MALDI-карты способны количественно оценивать фармакодинамический эффект в микроокружении опухоли, что открывает возможности для персонализированной оценки ответа на иммунотерапию [3].

Таким образом за последние 26 лет обнаружение метаболитов рака методом MALDI эволюционировало от простого экспериментального подтверждения концепции до мощной платформы пространственной метаболомики и трансляционной онкологии. Технологические инновации неуклонно повышали охват метаболитов и чувствительность MALDI, в обнаружении метаболического перепрограммирования при раке и интеграции с искусственным интеллектом, мультимодальной визуализацией трехмерной пространственной метаболомики. Все эти разработки подчеркивают прогресс MS как надежного инструмента для обнаружения метаболитов рака *in situ* и его растущую трансляционную значимость.

В перспективе интеграция пространственной метаболомики MS с другими мультиомиксными технологиями и искусственного интеллекта позволит выявить метаболическую гетерогенность отдельных опухолей и разработать методы прецизионной терапии. В целом, в ближайшем будущем MS будет развиваться в направлении стандартизации операционных процедур для упрощения пути от открытия до клинических диагностических тестов [2].

Работа выполнена в рамках Дополнительного соглашения №073-03-2026-035/1 от 21.02.2026 г. к Соглашению о предоставлении субсидии федеральному бюджетному или автономному учреждению на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на оказание государственных услуг (выполнения работ) №073-03-2026-035 от 23.01.2026 г., заключенного между ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова» и Министерством просвещения Российской Федерации.

References

1. Enhanced sensitivity using MALDI imaging coupled with laser postionization (MALDI-2) for pharmaceutical research / F.P.Y. Barré, M.R.L. Paine, B. Flinders [et al.] // *Anal. Chem.* – 2019. – Vol. 91. – P. 10840–10848.

2. Bartusik-Aebisher D. Detection of protein and metabolites in cancer analyses by MALDI 2000–2025 / D. Bartusik-Aebisher, D.R.J. Raj, D. Aebisher // *Cancers*. – 2025. – Vol. 17, no. 21. – Art. 3524. <https://doi.org/10.3390/cancers17213524>. EDN: XHGARS

3. Driving innovations in cancer research through spatial metabolomics: A bibliometric review of trends and hotspot / S. Chen, Y. Zhang, X. Li [et al.] // *Front. Immunol.* – 2025. – Vol. 16. – Art. 1589943.

4. The relevance of mass spectrometry analysis for personalized medicine through its successful application in cancer «Omics» / C.A. Ciocan-Cartita, A. Jurj, M. Buse [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, no. 10. – Art. 2576. <https://doi.org/10.3390/ijms20102576>. EDN: AONTZL

5. MALDI imaging mass spectrometry: Molecular snapshots of biochemical systems / D.S. Cornett, M.L. Reyzer, P. Chaurand, R.M. Caprioli // *Nat. Methods*. – 2007. – Vol. 4, no. 10. – P. 828–833.

6. The role of mass spectrometry in the «Omics» Era / F. Di Girolamo, I. Lante, M. Muraca, L. Putignani // *Curr. Org. Chem.* – 2013. – Vol. 17, no. 23. – P. 2891–2905.

7. A review of melanoma subtypes: genetic and treatment considerations / C. Druskovich, J. Kelley, J. Aubrey [et al.] // *J. Surg. Oncol.* – 2025. – Vol. 131, no. 3. – P. 356–364.

8. Jurchen J.C. MALDI-MS imaging of features smaller than the size of the laser beam / J.C. Jurchen, S.S. Rubakhin, J.V. Sweedler // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* – 2005. – Vol. 16. – P. 1654–1659. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2005.06.006>. EDN: KNGBYP

9. High-resolution imaging mass spectrometry combined with transcriptomic analysis identified a link between fatty acid composition of phosphatidylinositols and the immune checkpoint pathway at the primary tumour site of breast cancer / M. Kawashima, M. Tokiwa, T. Nishimura [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2020. – Vol. 122, no. 2. – P. 245–257.

10. Matrix selection for the visualization of small molecules and lipids in brain tumors using untargeted MALDI-TOF mass spectrometry imaging / T. Lu, L. Freytag,

V.K. Narayana [et al.] // *Metabolites*. – 2023. – Vol. 13. – Art. 1139. <https://doi.org/10.3390/metabo13111139>. EDN: TPFBPM

11. Skin photodamage and melanomagenesis: A comprehensive review / M. Manganeli, G. Stabile, C. Scharf [et al.] // *Cancers*. – 2025. – Vol. 17, no. 11. – Art. 1784. <https://doi.org/10.3390/cancers17111784>. EDN: HYCEHM

12. Enhancing metabolite coverage in MALDI-MSI using laser post-ionisation (MALDI-2) / J.C. McKinnon, H.H. Milioli, C.A. Purcell [et al.] // *Anal. Methods*. – 2023. – Vol. 15. – P. 4311–4320.

13. Chemical mapping of the colorectal cancer microenvironment via MALDI imaging mass spectrometry (MALDI-MSI) reveals novel cancer-associated field effects / R. Mirnezami, K. Spagou, P.A. Vorkas [et al.] // *Mol. Oncol.* – 2014. – Vol. 8, no. 1. – P. 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2013.08.010>. EDN: YFDMLJ

14. Lymph node metastasis of primary endometrial cancers: Associated proteins revealed by MALDI imaging / P. Mittal, M. Klingler-Hoffmann, G. Arentz [et al.] // *Proteomics*. – 2016. – Vol. 16, no. 11–12. – P. 1793–1801. <https://doi.org/10.1002/pmic.201500455>. EDN: YDUCAL

15. Mass spectrometry imaging identifies metabolic patterns associated with malignant potential in pheochromocytoma and paraganglioma / M. Murakami, N. Sun, C. Greunke [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2021. – Vol. 5. – P. 179–191. <https://doi.org/10.1530/EJE-20-1407>. EDN: HFWHJF

16. Ohshima K. The landscape of cancer metabolism as a therapeutic target / K. Ohshima // *Pathol. Int.* – 2025. – Vol. 75, no. 8. – P. 387–402. <https://doi.org/10.1111/pin.70034>. EDN: TOWQRW

17. Lipid profiles for intrahepatic cholangiocarcinoma identified using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry / Y.S. Park, C.W. Yoo, S.C. Lee [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2011. – Vol. 412, no. 21–22. – P. 1978–1982.

18. Mass spectrometry MALDI imaging of colon cancer biomarkers: A new diagnostic paradigm / P.H. Pevsner, J. Melamed, T. Remsen [et al.] // *Biomark. Med.* – 2009. – Vol. 3. – P. 55–69. <https://doi.org/10.2217/17520363.3.1.55>. EDN: MNCPSJ

19. Cancer statistics, 2025 / R.L. Siegel, T.B. Kratzer, A.N. Giaquinto [et al.] // CA Cancer J. Clin. – 2025. – Vol. 75, no. 1. – P. 10–45. <https://doi.org/10.3322/caac.21871>. EDN: MHQXTB

20. Mass spectrometry imaging for spatially resolved multi-omics molecular mapping / H. Zhang, K.H. Lu, M. Ebbini [et al.] // NPJ Imaging. – 2024. – Vol. 2, no. 1. – Art. 20. <https://doi.org/10.1038/s44303-024-00025-3>. EDN: XNIYIV