

©Коллектив авторов

РОЛЬ ЛИПИДОВ ПРИ КЛАССИФИКАЦИИ АСТРОЦИТОМЫ И ГЛИОБЛАСТОМЫ ПРИ ПОМОЩИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ

В.А. Елиферов¹, Е.С. Жванский¹, А.А. Сорокин¹, В.А. Шурхай², Д.С. Бормотов¹, С.И. Пеков¹, П.В. Никитин², М.В. Рыжова², Е.Е. Куликов^{1,4}, А.А. Потапов², Е.Н. Николаев³, И.А. Попов^{1}*

¹Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), 141701, Московская область, Долгопрудный, Институтский пер., 9; *эл. почта: popov.ia@phystech.edu

²Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, 125047, Москва, 4-я Тверская-Ямская, 16

³Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования “Сколковский институт науки и технологий”,

121205, Москва, Территория инновационного центра “Сколково”, Большой бульвар, 30, стр. 1

⁴Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33

Экспресс-идентификация биологических тканей стала существенно более доступным методом исследования благодаря применению методов масс-спектрометрии с прямой атмосферной ионизацией. В отличие от традиционных методов анализа, использующих хромато-масс-спектрометрические методы определения молекулярных компонент исследуемых объектов, она исключает возможность учёта эффектов подавления различными ионами друг друга по результатам измерений. Несмотря на существенный прогресс в области прямой масс-спектрометрии биологических тканей, вопрос атрибуции масс-спектрометрического профиля определённому виду ткани остаётся открытым. Применение современных методов машинного обучения (случайных лесов) позволяет проследить взаимосвязь между компонентами масс-спектрометрического профиля и результатом идентификации ткани опухоли мозга (астроцитомы или глиобластомы). В данной работе показано, что основные отличия в масс-спектрометрических профилях этих опухолей обусловлены их липидным составом. Получение статистически достоверных различий липидных профилей астроцитомы и глиобластомы позволяет быстро проводить анализ во время хирургической операции и сообщать нейрохирургу, с какой тканью он работает. Возможность точного определения границ новообразования существенно улучшает качество и оперативного вмешательства, и постоперационной реабилитации, равно как и продолжительность и качество жизни пациентов.

Ключевые слова: масс-спектрометрия; опухоли головного мозга; прямое профилирование; статистический анализ данных

DOI: 10.18097/PBMC20206604317

ВВЕДЕНИЕ

Развитие методов прямого быстрого масс-спектрометрического (МС) профилирования тканей позволило разработать новые подходы к экспресс-анализу биологических образцов [1]. За последнее десятилетие опубликовано значительное количество работ, посвященных внедрению МС-методов в клиническую практику, в том числе для сопровождения хирургических операций [2].

Интерпретация масс-спектров сложных смесей биологических молекул всё ещё остаётся трудной задачей из-за огромного разнообразия классов и видов молекул, содержащихся в биологических тканях [3, 4]. Несмотря на повсеместное распространение методов жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС), которые используются в качестве инструмента для точной идентификации компонентов сложных смесей, эти методы невозможно использовать для быстрого анализа ввиду того, что исследование при помощи таких методов занимает значительное время и требует сложной пробоподготовки [5]. Альтернативой являются методы прямого МС-анализа,

в которых производится исследование биоматериала без предварительной подготовки и хроматографического разделения.

Прямая масс-спектрометрия позволяет реализовать быстрое получение МС-профиля изучаемого объекта без серьёзной пробоподготовки. Это особенно важно в медицинской практике, например, при интраоперационном мониторинге состава удаляемой ткани. Образец претерпевает перед анализом минимальные изменения, что позволяет получить максимум биологически релевантной информации стабильного и воспроизводимого качества. Кроме того, подход с прямой масс-спектрометрией позволяет анализировать как отдельные маркеры той или иной ткани, так и особенности всего МС-профиля.

Нейрохирургия является одной из областей, в которой внедрение методов экспресс-анализа биологических тканей, иссечённых во время операции [6] для определения границ опухоли и контроля объёма удаляемой ткани, имеет большое значение. Было показано, что эта задача принципиально может быть решена с помощью МС-подхода [7]. По статистике, первичные опухоли

головного мозга составляют 1,4% всех случаев рака и 2,4% всех случаев смерти от рака в США. Примерно 20,5 тысяч вновь диагностированных случаев и 12,5 тысяч случаев смерти связаны с первичными злокачественными опухолями головного мозга каждый год [8], преимущественно глиального происхождения. Они составляют 31% всех опухолей головного мозга и центральной нервной системы (ЦНС), диагностированных в США, и 81% злокачественных опухолей головного мозга и ЦНС [9, 10]. Глиальные опухоли, сильно неоднородные по своей структуре, можно разделить на различные подтипы на основе морфологических и генетических данных в соответствии с классификацией ВОЗ [11]. Заметные морфологические вариации наблюдаются не только между тканями разных пациентов, но даже среди образцов, иссеченных у одного пациента из-за неоднородности опухолей, состоящих из частей с различной степенью злокачественности [12]. Внутренняя вариабельность может стать серьезной проблемой для быстрого, точного и объективного определения уровня злокачественности опухоли. Клинические применения требуют решения задачи обнаружения опухолевых клеток в пограничной зоне, поскольку остаточные опухолевые клетки могут способствовать развитию рецидива рака в будущем [13].

Точное определение гистологического типа и распространенности внутримозговой опухоли в ходе операции позволяет увеличить степень радикальности удаления опухоли и персонализировать терапию с выбором соответствующих режимов лучевой и химиотерапии в зависимости от молекулярных особенностей опухоли. Помимо фундаментального значения сравнительного анализа типов опухолей, для хирургии первостепенное значение имеет уточнение границ опухоли. Максимально точное определение границы между опухолью и здоровой тканью в ходе операции позволяет снизить вероятность рецидива опухоли и увеличить общую выживаемость пациентов [14].

МЕТОДИКА

Измерения

МС-профилирование образцов осуществлялось при помощи экстракции во встроенном картридже (ICE) [15] с последующей электроспрейной ионизацией. Масс-спектры измеряли по ранее разработанному протоколу [15] с использованием масс-спектрометра Thermo LTQ XL ("Thermo Fischer Scientific", США) в режиме регистрации как положительных, так и отрицательных ионов (диапазон m/z — 100-2000).

Образцы тканей

57 образцов опухолевых тканей были предоставлены Национальным медицинским исследовательским центром (НМИЦ) нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко.

Каждый исследуемый образец ткани, удаленный во время планового нейрохирургического вмешательства, был разделен на две части. Первая часть была охарактеризована при помощи окрашивания гематоксилином и эозином и дальнейшего иммуногистохимического анализа для определения диагноза и степени злокачественности. Вторая часть была помещена в физиологический раствор, промыта в нём, заморожена и находилась при -80°C до проведения масс-спектрометрических измерений. В результате 26 образцов ткани были охарактеризованы как астроцитомы с различными вариантами мутаций гена IDH-1 (17 анапластических астроцитом (WHO Grade III, среди них 8 опухолей с IDH-1 R132H мутацией), 8 диффузных астроцитом (WHO Grade II, среди них 6 опухолей с IDH-1 R132H мутацией), 1 гемистоцитарная астроцитома WHO Grade II (с IDH-1 R132H мутацией)). Кроме этого, 31 образец ткани был охарактеризован как глиобластомы (WHO Grade IV, 10 опухолей с IDH-1 R132H мутацией).

Образцы опухолевой ткани были получены при удалении астроцитарных глиом с преимущественной локализацией в полушариях головного мозга (лобные, височные, островковые, теменные и затылочные доли). Объем фрагментов опухоли составлял в среднем около $1,5\text{--}2\text{ см}^3$; некоторые фрагменты имели размеры $4\text{--}5\text{ см}^3$.

Каждый образец опухолевой ткани был разделен на 3 фрагмента, для каждого из которых был измерен МС-профиль. Измерения проводили непрерывно с чередующимся режимом полярности и диапазоном измерения m/z , с четырёхкратным повторением в течение 10 мин. Таким образом, интервал между повторами условий измерения составлял 2,5 мин.

Обработка данных

Спектры обрабатывали по алгоритму, аналогичному описанному нами ранее [16, 17]. Масс-спектры переводили в векторное пространство с шириной биннинга $0,25\ m/z$, производили фильтрацию скользящим медианным значением с шириной и шагом окна в 51 спектр и нормировали на полный ионный ток. Корректировку базовой линии в спектрах проводили с использованием скользящего минимального значения. Все интенсивности в спектре меньше 10% от интенсивности основного пика (максимальной интенсивности в спектре) для масс-спектрометрических профилей, измеренных в режиме положительных ионов, и меньше 20% в режиме отрицательных ионов приравнивали к 0. Идентификацию ионов производили путём сопоставления спектров низкого разрешения и ранее измеренных спектров высокого разрешения аналогичных тканей с использованием tandemной масс-спектрометрии (МС/МС) со столкновительной диссоциацией [18].

Классификация

Классификацию исследуемых типов опухолей осуществляли при помощи алгоритма случайного леса [19], реализованного в библиотеке машинного

обучения Scikit-learn [20]. Для этого все спектры были разделены на тренировочную и тестовую выборки в соотношении 70 на 30 в упорядоченных по календарному времени измерениях. Таким образом, образцы из обучающей выборки не пересекаются с образцами тестовой выборки и возможные артефакты, связанные с измерительными особенностями в определенном календарном времени измерения, будут отражены в результатах классификации.

Оптимизация гиперпараметров была произведена на обучающей выборке при помощи пятикратной кросс-валидации, при этом МС-профили разных образцов попадали либо только в тренировочную выборку, либо только в обучающую. Для выбора оптимальных параметров процедура повторялась 10 раз.

После подбора гиперпараметров оценивали точность классификации на тестовой выборке и исследовали вклад различных признаков (ионов) на основе вычисления критерия Джини (Gini coefficient).

Статистический анализ

Для анализа работы классификатора отбирали только те признаки (ионы), вклад которых в классификаторе был больше 0,005 по критерию Джини. Количество таких признаков составило 60 в режиме положительных ионов и 52 в режиме отрицательных ионов. Для анализа статистической достоверности отличий в интенсивности наиболее важных признаков-ионов, которые также были идентифицированы при помощи МС/МС, использовали процедуру ANOVA пакета MATLAB.

Все расчёты и визуализации были сделаны с использованием кода, написанного авторами в среде MATLAB или Python. Авторский код доступен по запросу.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Поиск в масс-спектрах ионов, различие интенсивности которых между образцами хорошо согласуется с различиями в гистологических

характеристиках образцов, является трудноразрешимой задачей, в том числе и потому, что гистологические различия определяются согласованным поведением групп ионов. Один из подходов к поиску таких групп заключается в построении классификаторов образцов по МС-профилям с помощью методов машинного обучения и исследовании влияния различных групп ионов на качество полученных предсказаний.

Мы использовали в данной работе метод случайного леса, так как он не только позволяет достаточно эффективно предсказывать тип анализируемой ткани, но и предоставляет количественную оценку вклада вариации переменных.

На рисунке 1 показано распределение уровня значимости для различных ионов при решении задачи классификации типа опухоли. Мы выбрали для анализа наиболее значимые пики, уровень индекса Джини которых превышал 0,005 (всего 60 пиков), их усреднённые интенсивности показаны на рисунке 2. На рисунке 3 отмечены те же 60 ионов, но усреднённые для каждого класса по отдельности. Можно заметить, что несмотря на высокую значимость ионов за пределами масс 600-1000 Да, их пики имеют довольно низкую интенсивность. Это делает их менее удобными для исследования, так как увеличивает влияние на результат особенностей протокола исследования (Е.С. Жванский и др., данные готовятся к публикации). В итоге мы рассматривали только ионы в диапазоне масс 600-1000 Да, характеризующие липидную составляющую тканей опухоли. Из шестидесяти наиболее значимых ионов в этой области удалось идентифицировать молекулярную природу для шести соединений (табл. 1).

Для каждого из шести идентифицированных ионов мы провели анализ варибельности сравнительной интенсивностей МС-пиков, в результате которого было установлено что интенсивности пяти из шести значимо (на уровне p -value 5%) различаются между классами опухолей несмотря на то, что распределения интенсивностей сильно пересекаются на диаграммах разбросов

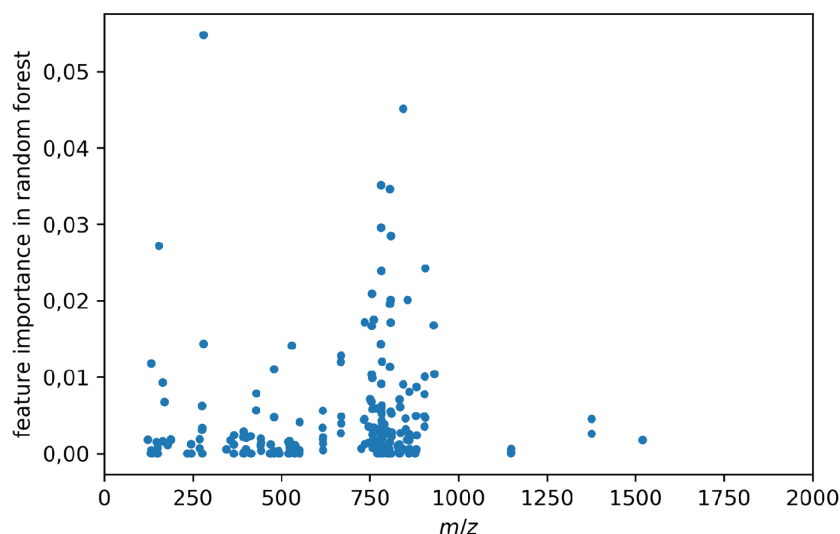


Рисунок 1. Распределение значимости различных положительных ионов для разделения между астроцитомами и глиобластомами. Режим положительных ионов. Точность классификации 0,740.

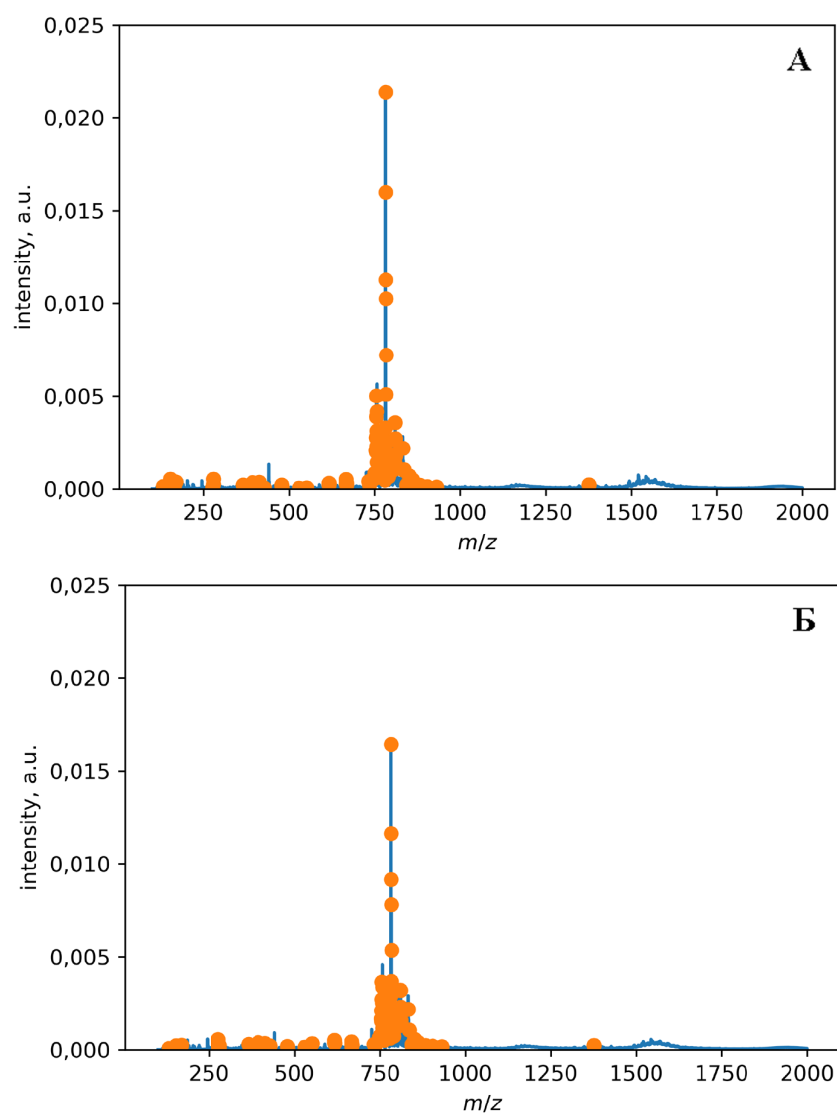


Рисунок 2. Шестьдесят наиболее значимых ионов отмечены на усреднённых спектрах астроцитомы и глиобластомы. Режим положительных ионов. А — астроцитома, Б — глиобластома.

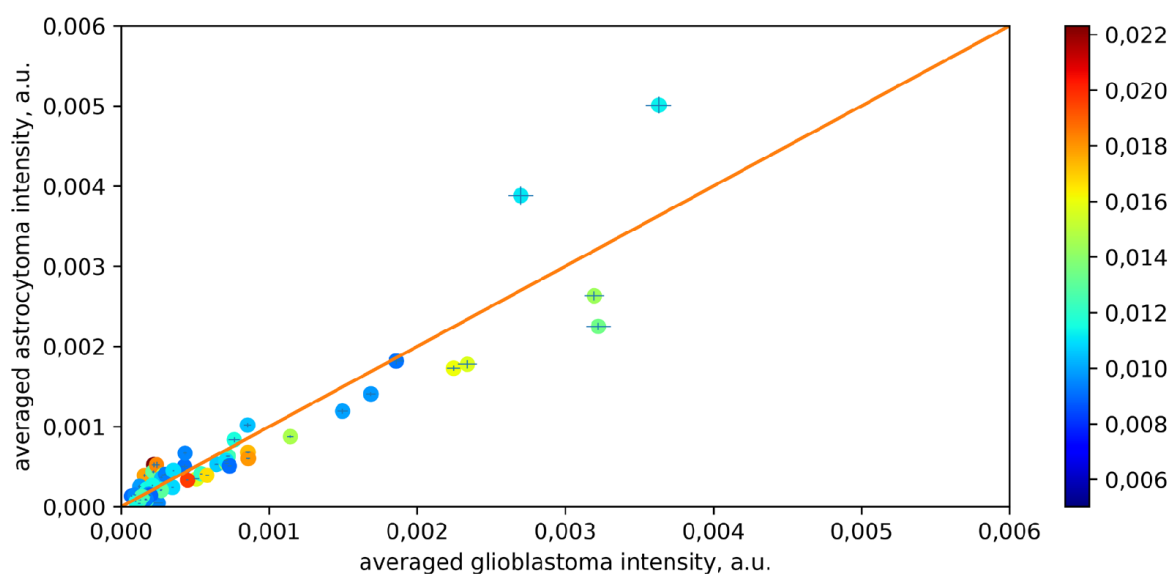


Рисунок 3. Шестьдесят наиболее значимых ионов, усреднённые по классам интенсивности наиболее значимых пиков (отсечка по критерию Джини 0,005). Режим положительных ионов.

(рис. Д1, дополнительные материалы). Аналогичные данные для режима отрицательных ионов приведены на рисунках 4-6, Д2 (дополнительные материалы) и в таблице 2. В этом случае выше выбранного уровня коэффициента Джини оказалось 52 иона, и для пяти из них удалось идентифицировать молекулярную структуру. 4 из 5 ионов различались статистически достоверно на уровне p -value 5%.

Из таблиц 1 и 2 видно, что часть липидов (PC(37:5), PC-O(38:4), PC(36:2), PC(34:2), PC(32:1), Cer(34:1), ST(26:1) и PI(38:4)) характеризуется статистически значимыми различиями по уровню интенсивности в спектрах, и их отличия можно трактовать отдельно. Другую часть липидов (PE-O(36:3) и PE-O(36:3)) невозможно рассматривать как отдельные маркеры из-за низкого уровня их значимости, несмотря на высокий индекс Джини.

Таблица 1. Идентификации молекул и их значимость в классификаторе. Режим положительных ионов

m/z	p -value	importance	identification
816,75	5×10^{-48}	0,0167	PC(37:5)+Na
818,50	$1,5 \times 10^{-29}$	0,0052	PC-O(38:4)+Na
808,75	2×10^{-10}	0,0120	PC(36:2)+Na
780,50	5×10^{-19}	0,0109	PC(34:2)+Na
754,75	7×10^{-23}	0,0080	PC(32:1)+Na
750,50	$1,6 \times 10^{-1}$	0,0084	PE-O(36:3)+Na

Таблица 2. Идентификации молекул и их значимость в классификаторе. Режим отрицательных ионов

m/z	p -value	importance	identification
726,75	5×10^{-2}	0,0081	PE-O(36:3)-H
830,75	4×10^{-16}	0,0141	PC-O(38:4)+Cl
572,50	6×10^{-5}	0,0056	Cer(34:1)+Cl
916,50	$1,2 \times 10^{-6}$	0,0075	ST(26:1)-H
888,75	6×10^{-1}	0,0060	PI(38:4)-H

Один и тот же липид (PC-O(38:4)) найден как обладающий статически значимыми различиями, так и высоким уровнем индекса Джини в обоих режимах полярности измерения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Построенный нами для двух видов опухолей классификатор обладает точностью около 75% в режиме положительных ионов и около 65% в режиме отрицательных ионов. Невысокая точность классификации может быть опосредована естественной гетерогенностью ткани опухоли и биологической вариабельностью образцов. Кроме того, глиобластомы могут быть результатом дальнейшей прогрессии менее агрессивных форм астроцитом, а не первичными опухолями [21, 22], что дополнительно усложняет классификацию образцов.

Среди наиболее важных с точки зрения классификации ионов на спектрах в основном присутствуют ионы липидов, большинство из которых обладают статистически достоверными отличиями нормализованных интенсивностей в разных типах опухолей. На рисунках 3 и 6 видно, что важнейшие идентифицирующие ионы ложатся не на прямую равенства средних значений интенсивностей пиков в группах астроцитом и глиобластом, а смещены либо больше к оси астроцитом, либо глиобластом, что отражает большие относительные концентрации липидов в астроцитомах или глиобластомах соответственно.

Положительный ион с измеренной массой 818,6132 и отрицательный ион с измеренной массой 830,5836, относящиеся к важнейшим в обоих режимах измерения, соответствуют липиду PC-O(38:4) и отличаются друг от друга на разность масс натрия и хлора — аддуктов, образовавших эти ионы. Наличие перекрывающихся молекулярных сигнатур увеличивает достоверность полученного ранжирования ионов по важности вклада при дифференциации астроцитомы и глиобластомы.

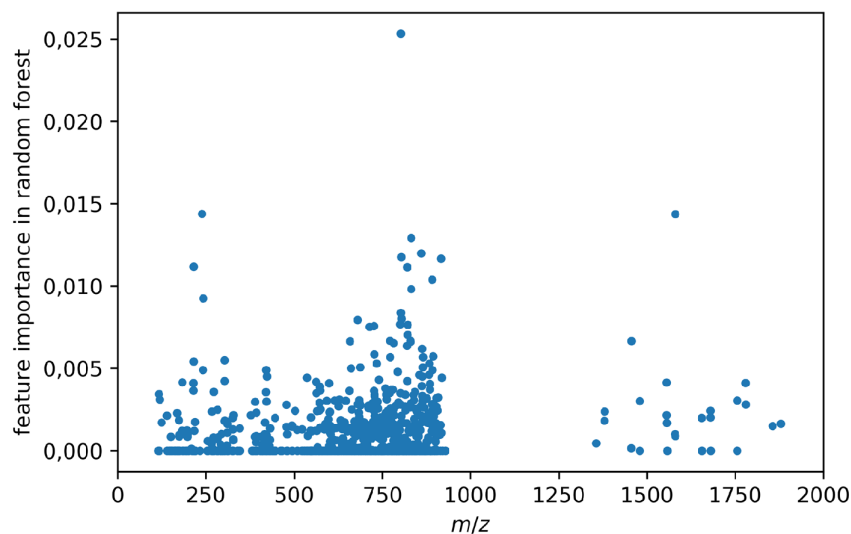


Рисунок 4. Распределение значимости различных положительных ионов для разделения между астроцитомами и глиобластомами. Режим отрицательных ионов. Точность классификации 0,656.

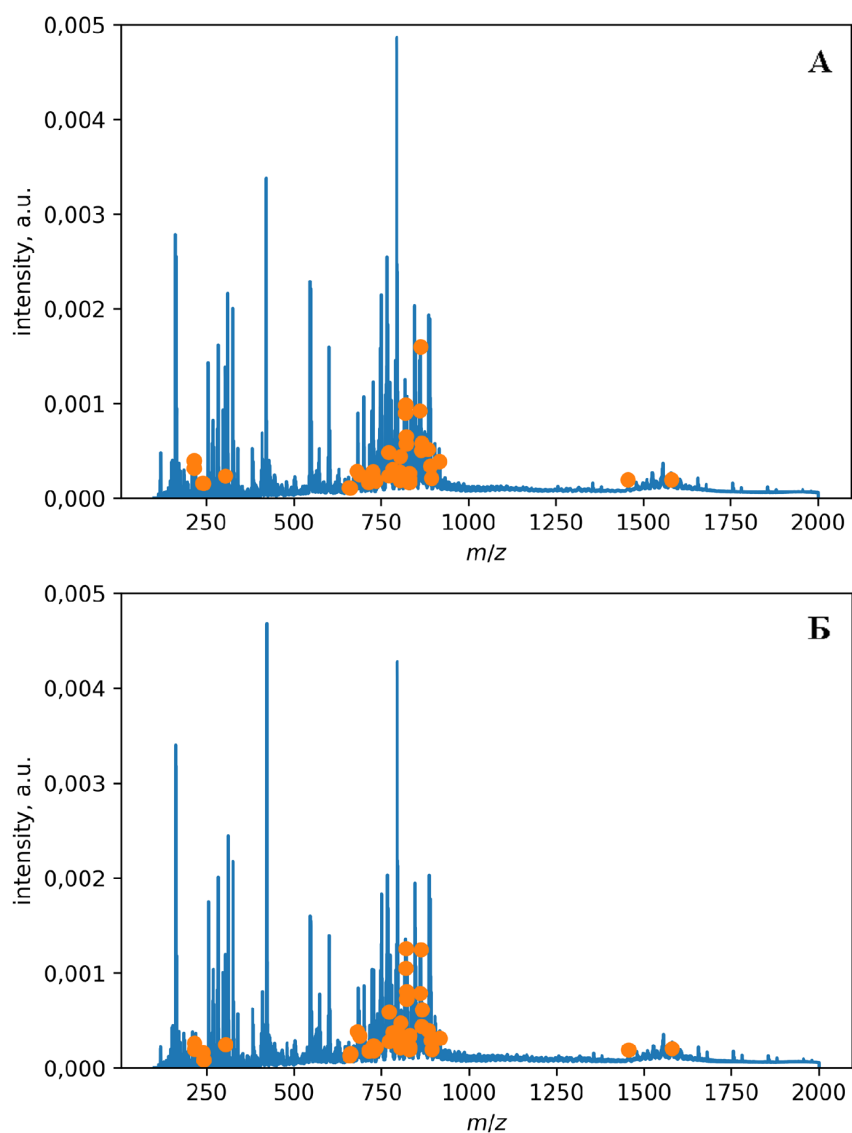


Рисунок 5. Пятьдесят два наиболее значимых иона отмечены на усреднённых спектрах астроцитомы и глиобластомы. Режим отрицательных ионов. А — астроцитома, Б — глиобластома.

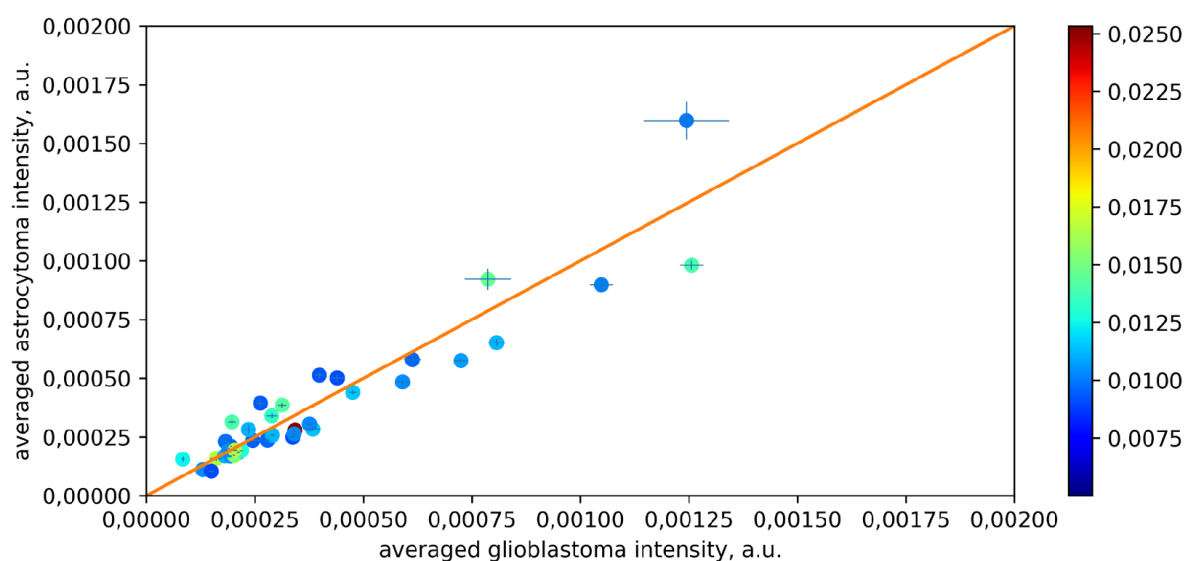


Рисунок 6. Пятьдесят два наиболее значимых иона, среднѐнные по классам интенсивности наиболее значимых пиков (отсечка по критерию Джини 0,005). Режим отрицательных ионов.

При сравнении пиков масс-спектров можно заметить, что в режиме положительных ионов основные пики имеют высокую важность по критерию Джини, в то время как в режиме отрицательных ионов важность наиболее интенсивных пиков по критерию Джини мала. Режим положительных ионов в большей степени характеризуется липидами, ассоциированными с тканью [28]. Это показывает, что исследования в режиме положительных и отрицательных ионов по-разному применимы для задачи классификации — режим отрицательных ионов в большей степени подвержен влиянию биологической вариативности внутри образца и между образцами, в то время как режим положительных ионов более устойчив и характеризуется липидами, ассоциированными с конкретной тканью в целом.

Из рисунков Д1 и Д2 (дополнительные материалы) видно, что два иона (m/z +888,75 и m/z -750,5) имеют довольно высокую классификационную значимость (0,006 и 0,008), но тем не менее не обладают статистически значимыми различиями в распределениях интенсивностей (рис. Д1 и Д2, дополнительные материалы) на уровне p -value в 1% (табл. 1 и 2). Это может означать, что определённый пик может статистически не различаться между группами, но входит в группу пиков ионов, согласованное изменение интенсивности которых значимо для дифференциации образцов. Совместное изменение группы ионов оказывается тут дискриминирующим тип опухоли признаком. Такую картину могут давать ионы, увеличение содержания которых ведёт к скоординированному уменьшению концентрации другого. Комбинация ионов, таким образом, определяет различия молекулярных ландшафтов исследуемых образцов. Таким образом, некоторые наблюдаемые ионы, не имеющие значимой роли в разделении классов образцов сами по себе, формируют группы ионов, обуславливающих надёжное разделение классов образцов. Это объясняет наличие точек (рис. 3 и 6), близких к биссектрисе, но имеющих важный вклад при классификации.

Совокупный анализ данных приводит нас к заключению, что групповая идентификация ионов позволяет существенно повысить точность экспресс-идентификации биологических образцов по сравнению с подходом, использующим для классификации отдельные индивидуальные ионы. Для некоторых из идентифицированных ионов уже была показана ассоциация с канцерогенезом, что позволяет предположить интерпретацию их роли в разделении астроцитов и глиобластом.

Фосфатидилхолин PC(34:2) чаще обнаруживается в некротических тканях и кровоизлияниях [23]. В то же время некроз и местные кровоизлияния более характерны для клинической картины глиобластомы, а не астроцитомы. Этот факт находится в полном соответствии со статистически значимыми отличиями масс-спектров (рис. Д1, дополнительные материалы), где значения интенсивностей ионов данного липида в МС-профилях глиобластом оказываются больше

таковых в МС-профилях астроцитом. Также было показано ранее, что PC(34:2) [24] является одним из соединений, чётко отличающих морфологически нормальную железистую ткань и опухолевую ткань.

В свою очередь, фосфатидилхолин PC (36:2) по-разному участвует в процессах опухолевого липогенеза: для колоректального рака обычно характерна пониженная концентрация липида, а для глиобластом — повышенная [25].

Ранее было показано [26], что относительная концентрация PC(32:1) повышена в нормальной ткани лёгких по сравнению с опухолевыми тканями; содержание PC(36:2) значительно повышено в тканях немелкоклеточного рака лёгких; PC(38:4) — повышено, а PC(34:2) — понижено в опухолевых тканях почек по сравнению со здоровыми.

Специфическая форма фосфатидилэтаноламина PE-O(36:3) была ранее ассоциирована с колоректальным раком и раком простаты [27]. Таким образом, поскольку липидный состав опухолей естественным образом изменяется вследствие изменения биохимических процессов синтеза липидов *de novo* и окислительного фосфорилирования [7], липидный состав астроцитов и глиобластом также отличается вследствие различного патогенеза опухолей. Часть липидов, идентифицированная в данной работе, была так или иначе ассоциирована с теми или иными видами опухолями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Наилучшие результаты дифференциации астроцитом и глиобластом по МС-профилю могут быть достигнуты комбинацией анализа содержания индивидуальных маркерных ионов и выявленных значимых групп ионов. Групповая идентификация ионов значительно дополняет индивидуальную, отражая естественную биологическую функциональность липидных маркеров, напрямую связанных с энергетическим и пластическим метаболизмом тканей.

По результатам анализа нами была составлена панель липидов, концентрация которых в образцах опухоли может служить для определения типа опухоли и уточнения первичного онкологического диагноза. Большинство этих липидов значимо ассоциированы с теми или иными видами злокачественных опухолей.

Показано, что относительные концентрации некоторых липидов в астроцитах и глиобластомах отличаются статистически достоверно, что свидетельствует о том, что липидный состав таких опухолей существенно различается. В липидном профиле глиобластомы повышена концентрация ранее известных липидных маркеров некротических изменений опухоли.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счёт средств гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-10431).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторский коллектив благодарит сотрудников патологоанатомического отделения НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко за помощь в проведении исследований.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование было проведено в соответствии с рекомендациями этического комитета НМИЦ им. акад. Н.Н. Бурденко (Приказ 40 от 12.04.2016 в редакции приказа 131 от 17.07.2018). У всех пациентов до операции было получено согласие на использование удалённых тканей в научных исследованиях в соответствии с законодательством и требованиями этического комитета. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией, пересмотренной в 2013 году. Все протоколы и процедуры были выполнены в соответствии с соответствующими руководящими принципами и правилами, утвержденными контролирующим советом НМИЦ им. акад. Н.Н. Бурденко.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дополнительные материалы доступны в электронной версии статьи на сайте журнала (pbmc.ibmc.msk.ru).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferreira C.R., Yannell K.E., Jarmusch A.K., Pirro V., Ouyang Z., Cooks R.G. (2016) Clin. Chem., **62**, 99-110.
2. Pirro V., Alfaro C.M., Jarmusch A.K., Hattab E.M., Cohen-Gadol A.A., Cooks R.G. (2017) Proc Natl Acad Sci USA, **114**, 6700-6705.
3. Jarmusch A.K., Pirro V., Baird Z., Hattab E.M., Cohen-Gadol A.A., Cooks R.G. (2016) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **113**, 1486-1491.
4. Balog J., Sasi-Szabó L., Kinross J., Lewis M.R., Muirhead L.J., Veselkov K., Mirnezami R., Dezső B., Damjanovich L., Darzi A., Nicholson J.K., Takáts Z. (2013) Sci. Transl. Med., **5**, 194ra93. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005623
5. Ma X., Ouyang Z. (2016) Trends Analyt. Chem., **85**, 10-19.
6. Eberlin L.S., Norton I., Orringer D., Dunn I.F., Liu X., Ide J.L., Jarmusch A.K., Ligon K.L., Jolesz F.A., Golby A.J., Santagata S., Agar N.Y.R., Cooks R.G. (2013) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **110**, 1611-1616.
7. Sorokin A., Shurkhay V., Pekov S., Zhvansky E., Ivanov D., Kulikov E.E., Popov I.A., Potapov A.A., Nikolaev E.N. (2019) Curr. Top. Med. Chem., **19**, 1521-1534.
8. Gladson C.L., Prayson R.A., Liu W.M. (2010) Annu. Rev. Pathol., **5**, 33-50.
9. Ostrom Q.T., Gittleman H., Stetson L., Virk S.M., Barnholtz-Sloan J.S. (2015) Cancer Treat. Res., **163**, 1-14.
10. Ostrom Q.T., Gittleman H., Farah P., Ondracek A., Chen Y., Wolinsky Y., Stroup N.E., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. (2013) Neuro Oncol., **15**, 760. DOI:10.1093/neuonc/not151
11. Diamandis P., Aldape K. (2018) Neurol. Clin., **36**, 439-447.
12. Pedetour-Braccini Z., Burel-Vandenbos F., Gozé C., Roger C., Bazin A., Costes-Martineau V., Duffau H., Rigau V. (2015) Virchows Arch., **466**, 433-444.
13. Ермолаев А.Ю., Кравец Л.Я., Сметанина С.В., Колпакова А.А., Яшин К.С., Морев А.В., Сметанина О.В., Ключев Е.А., Медяник И.А. (2020) Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, **84**(1), 33-42. [Ermolaev A.Y., Kravets L.Y., Smetanina S.V., Kolpakova A.A., Yashin K.S., Morev A.V., Smetanina O.V., Klyuev E.A., Medyanik E.A. (2020) Voprosy Neurokhirurgii im. N.N. Burdenko, **84**(1), 33-42.]
14. Lau D., Hervey-Jumper S.L., Han S.J., Berger M.S. (2018) J. Neurosurg., **128**, 1410-1418.
15. Pekov S.I., Elifirov V.A., Sorokin A.A., Shurkhay V.A., Zhvansky E.S., Vorobyev A.S., Potapov A.A., Nikolaev E.N., Popov I.A. (2019) Sci. Rep., **9**, 18960. DOI: 10.1038/s41598-019-55597-7
16. Zhvansky E.S., Sorokin A.A., Pekov S.I., Indeykina M.I., Ivanov D.G., Shurkhay V.A., Elifirov V.A., Zavorotnyuk D.S., Levin N.G., Bocharov K.V., Tkachenko S.I., Belenikin M.S., Potapov A.A., Nikolaev E.N., Popov I.A. (2019) Clinical Mass Spectrometry, **12**, 37-46.
17. Zhvansky E.S., Pekov S.I., Sorokin A.A., Shurkhay V.A., Elifirov V.A., Potapov A.A., Nikolaev E.N., Popov I.A. (2019) Sci. Rep., **9**, 914. DOI: 10.1038/s41598-018-37560-0
18. Kononikhin A.S., Zhvansky E.S., Shurkhay V.A., Popov I.A., Bormotov D.S., Kostyukovich Y.I., Karchugina S., Indeykina M.I., Bugrova A.E., Starodubtseva N.L., Potapov A.A., Nikolaev E.N. (2015) Anal. Bioanal. Chem., **407**, 7797-7805.
19. Breiman L. (2001) Machine Learning, **45**, 5-32.
20. Pedregosa F., Varoquaux G., Gramfort A., Michel V., Thirion B., Grisel O., Blondel M., Müller A., Nothman J., Louppe G., Prettenhofer P., Weiss R., Dubourg V., Vanderplas J., Passos A., Cournapeau D., Brucher M., Perrot M., Duchesnay E. (2011) J. Machine Learning Res., **12**, 2825-2830.
21. Ohgaki H., Kleihues P. (2013) Clin. Cancer Res., **19**, 764-772.
22. Richardson T.E., Sathe A.A., Kanchwala M., Jia G., Habib A.A., Xiao G., Snuderl M., Xing C., Hatanpaa K.J. (2018) J. Neuropathol. Exp. Neurol., **77**, 542-548.
23. Clark A.R., Calligaris D., Regan M.S., Pomeranz Krummel D., Agar J.N., Kallay L., MacDonald T., Schniederjan M., Santagata S., Pomeroy S.L., Agar N.Y.R., Sengupta S. (2018) J. Neurooncol., **140**, 269-279.
24. Guenther S., Muirhead L.J., Speller A.V.M., Golf O., Strittmatter N., Ramakrishnan R., Goldin R.D., Jones E., Veselkov K., Nicholson J., Darzi A., Takáts Z. (2015) Cancer Res., **75**, 1828-1837.
25. Taib B., Aboussalah A.M., Moniruzzaman M., Chen S., Haughey N.J., Kim S.F., Ahima R.S. (2019) Sci. Rep., **9**, 19593. DOI: 10.1038/s41598-019-55985-z
26. Perrotti F., Rosa C., Cicalini I., Sacchetta P., del Boccio P., Genovesi D., Pieragostino D. (2016) Int. J. Mol. Sci., **17**(12), DOI: 10.3390/ijms17121992.
27. Wolrab D., Jirásko R., Chocholoušková M., Peterka O., Holčapek M. (2019) Trends Analytical Chemistry, **120**, 115480. DOI:10.1016/j.trac.2019.04.012
28. Zhvansky E.S., Sorokin A.A., Shurkhay V.A., Pekov S.I., Bormotov D.S., Ivanov D.G., Elifirov V.A., Zavorotnyuk D.S., Bocharov K.V., Khaliullin I.G., Belenikin M.S., Potapov A.A., Nikolaev E.N., Popov I.A. (2020) J. Mass Spectrometry, e4640, DOI: 10.1002/jms.4640

Поступила в редакцию: 02. 07. 2020.
После доработки: 01. 08. 2020.
Принята к печати: 10. 08. 2020.

**THE ROLE OF LIPIDS IN THE CLASSIFICATION
OF ASTROCYTOMA AND GLIOBLASTOMA USING MS TUMOR PROFILING**

*V.A. Eliferov¹, E.S. Zhvansky¹, A.A. Sorokin¹, V.A. Shurkhay², D.S. Bormotov¹, S.I. Pekov¹,
P.V. Nikitin², M.V. Ryzhova², E.E. Kulikov^{1,4}, A.A. Potapov², E.N. Nikolaev³, I.A. Popov^{1*}*

¹Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University),
9 Institutsky per., Dolgoprudny, Moscow Region, 141701 Russia; *e-mail: popov.ia@phystech.edu

²N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery,
16, 4th Tverskaya-Yamskaya str., Moscow, 125047 Russia

³Skolkovo Institute of Science and Technology,
Territory of “Skolkovo” Innovation Center, 30, bldg. 1, Bolshoy blvd., Moscow, 121205 Russia

⁴Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology”, RAS,
33 Leninsky ave., Moscow, 119071 Russia

Express MS identification of biological tissues has become a much more accessible research method due to the application of direct specimen ionization at atmospheric pressure. In contrast to traditional methods of analysis employing GC-MS methods for determining the molecular composition of the analyzed objects it eliminates the influence of mutual ion suppression. Despite significant progress in the field of direct MS of biological tissues, the question of mass spectrometric profile attribution to a certain type of tissue still remains open. The use of modern machine learning methods and protocols (e.g., “random forests”) enables us to trace possible relationships between the components of the sample MS profile and the result of brain tumor tissue classification (astrocytoma or glioblastoma). It has been shown that the most pronounced differences in the mass spectrometric profiles of these tumors are due to their lipid composition. Detection of statistically significant differences in lipid profiles of astrocytoma and glioblastoma may be used to perform an express test during surgery and inform the neurosurgeon what type of malignant tissue he is working with. The ability to accurately determine the boundaries of the neoplastic growth significantly improves the quality of both surgical intervention and postoperative rehabilitation, as well as the duration and quality of life of patients.

Key words: mass spectrometry; brain tumors; direct profiling; statistical data analysis

Funding. The research was funded from the RSF (project No. 16-15-10431).

Received: 02.07.2020, revised: 01.08.2020, accepted: 10.08.2020.