

ПРЯМОЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ МЕНИНГИОМ: ИНТРАОПЕРАЦИОННЫЙ МОНИТОРИНГ НА ОСНОВЕ ОНКОМЕТАБОЛИТОВ

Д. С. Бормотов¹, М. А. Шамраева¹, А. А. Кузин¹, Е. В. Шамарина¹, В. А. Елиферов¹, С. В. Силкин¹, Е. В. Жданова¹, С. И. Пеков^{2,3}✉, И. А. Попов¹

¹ Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

² Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

³ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Основным методом лечения менингиом на первом этапе является нейрохирургическое вмешательство с максимальной радикальностью. Для повышения полноты резекции в настоящее время разрабатывают различные подходы интраоперационной диагностики, в частности, опирающиеся на принципы молекулярного профилирования. Основанные на масс-спектрометрии с прямой ионизацией, подобные методы демонстрируют свою эффективность на различных видах опухолей, однако особенности молекулярного строения и механические характеристики менингиом не позволяют напрямую транслировать протоколы, разработанные для других нозологий. Целью работы было провести сравнение возможностей применения трех методов прямой ионизации для исследования образцов менингиом: метода прямого спрея с ткани, метод картриджной экстракции и метода ионизации с поверхности сферического пробоотборника. Для этого анализировали липидный и метаболический профиль тканей менингиом, иссеченных в ходе планового нейрохирургического вмешательства. Было показано, что для анализа липидных компонент молекулярного профиля оптимальным для клинического применения оказывается метод картриджной экстракции, отличающийся наиболее простой реализацией и максимальной информативностью. Для анализа онкометаболитов с малой молекулярной массой лучшим выбором является метод ионизации с поверхности сферического пробоотборника, обеспечивающий высокую чувствительность и наилучшую производительность масс-спектрометрического комплекса.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, прямая ионизация, электрораспылительная ионизация, менингиома, липиды, онкометаболиты

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования (соглашение № 075-00337-20-02, проект № 0714-2020-0006), с использованием оборудования ЦКП ФИЦ ХФ им. Н. Н. Семенова РАН.

Вклад авторов: Д. С. Бормотов — проведение эксперимента, анализ данных, редактирование статьи; М. А. Шамраева — анализ данных, подготовка иллюстраций, написание статьи; А. А. Кузин — проведение эксперимента; Е. В. Шамарина — проведение эксперимента, разработка ионных источников; В. А. Елиферов — разработка ионных источников; С. В. Силкин — проведение экспериментов, анализ данных; Е. В. Жданова — анализ данных; С. И. Пеков — концепция, написание статьи; И. А. Попов — поиск источников финансирования, руководство, редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом НМИЦН имени Н. Н. Бурденко (протоколы № 40 от 12 апреля 2016 г. и № 131 от 17 июля 2018 г.), проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации (2000 г.) и ее последующих пересмотров. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании и использование биоматериалов в исследовательских целях.

✉ **Для корреспонденции:** Станислав Игоревич Пеков
Большой бульвар, д. 30, стр. 1, Москва, 121205, Россия; stanislav.pekov@forwe.ru

Статья получена: 27.11.2022 **Статья принята к печати:** 14.12.2022 **Опубликована онлайн:** 30.12.2022

DOI: 10.24075/vrgmu.2022.072

AMBIENT MS PROFILING OF MENINGIOMAS: INTRAOPERATIVE ONCOMETABOLITE-BASED MONITORING

Bormotov DS¹, Shamraeva MA¹, Kuzin AA¹, Shamarina EV¹, Eliferov VA¹, Silkin SV¹, Zhdanova EV¹, Pekov SI^{2,3}✉, Popov IA¹

¹ Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia

² Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

³ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

The primary method of initial treatment of meningiomas is radical neurosurgical intervention. Various methods of intraoperative diagnostics currently in development aim to improve resection efficiency; we focus on methods based on molecular profiling using ambient ionization mass spectrometry. Such methods have been proven effective on various tumors, but the specifics of the molecular structure and the mechanical properties of meningiomas raise the question of applicability of protocols developed for other conditions for this particular task. The study aimed to compare the potential clinical use of three methods of ambient ionization in meningioma sample analysis: spray from tissue, inline cartridge extraction, and touch spherical sampler probe spray. To this end, lipid and metabolic profiles of meningioma tissues removed in the course of planned neurosurgical intervention have been analyzed. It is shown that in clinical practice, the lipid components of the molecular profile are best analyzed using the inline cartridge extraction method, distinguished by its ease of implementation and highest informational value. Analysis of oncometabolites with low molecular mass is optimally performed with the touch spherical sampler probe spray method, which scores high in both sensitivity and mass-spectrometric complex productivity.

Keywords: mass spectrometry, ambient ionization, electrospray ionization, meningioma, lipids, oncometabolites

Funding: The study was conducted as part of the state task of the Ministry of Science and Higher Education (agreement №075-00337-20-02, project № 0714-2020-0006), using the equipment of the N. N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics of the Russian Academy of Sciences.

Author contribution: Bormotov DS — experiment, data analysis, manuscript editing; Shamraeva MA — data analysis, preparation of illustrations, manuscript writing; Kuzin AA — experiment; Shamarina EV — experiment, ion source development; Eliferov VA — ion source development; Silkin SV — experiments, data analysis; Zhdanova EV — data analysis; Pekov SI — study concept, manuscript writing; Popov IA — search for sources of funding, project management, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of N. N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery (protocols №40 of 12 April 2016 and №131 of 17 July 2018) and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (2000 and subsequent revisions). All patients signed a voluntary informed consent form to participate in the study with use of biomaterials for research purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Stanislav I. Pekov
Bolshoy Blvd., 30, str. 1, 121205, Moscow, Russia; stanislav.pekov@forwe.ru

Received: 27.11.2022 **Accepted:** 14.12.2022 **Published online:** 30.12.2022

DOI: 10.24075/brsmu.2022.072

Среди разнообразных оболочечных опухолей центральной нервной системы (ЦНС) менингиомы наиболее клинически значимы. Эти часто встречающиеся у взрослых образования головного мозга составляют более 36% от общего числа новодиагностированных опухолей ЦНС [1, 2]. В подавляющем большинстве случаев их обнаруживают случайно, т. е. на начальном этапе заболевание развивается бессимптомно, однако в 15% случаев можно наблюдать клиническую симптоматику. С увеличением возраста отмечается увеличение частоты встречаемости менингиом, при этом достоверно чаще они встречаются у женщин репродуктивного возраста; соотношение женщин и мужчин в этой группе составляет 2 : 1 [3]. Предполагается, что это может быть обусловлено особенностями гормонального профиля женщин. Клиническая симптоматика при менингиомах отличается значительной вариабельностью и зависит от локализации опухоли. Как и при других интракраниальных опухолях, при менингиомах могут иметь место проявления внутричерепной гипертензии в виде головной боли, тошноты, рвоты, снижения остроты зрения [4].

Первым этапом лечения симптоматических менингиом является их микрохирургическое или эндоскопическое удаление с максимально возможной радикальностью [5, 6]. В последнее время разработано множество методов, используемых для визуализации опухолей головного мозга, однако в большинстве случаев в клинической практике определение границ опухоли не производят в режиме реального времени. В настоящее время методы магнитно-резонансной томографии, преимущественно используемые на предоперационном этапе, имеют как диагностическое, так и оперативно-навигационное применение. Другие клинически значимые методы включают флуоресцентный молекулярный имаджинг [7] (его применение ограничено в основном специфичностью и чувствительностью проводимого исследования) и интраоперационное ультразвуковое исследование (неприменимо, если плотность опухоли близка к плотности интактной ткани). Гистопатологические методы являются золотым стандартом при исследовании опухолей и позволяют получить диагностическую информацию во время операции в течение получаса, но обычно они ограничены оценкой одного или небольшого количества сегрегированных образцов от каждой операции и не используются для оценки границы краев опухоли.

Для увеличения эффективности хирургического вмешательства идет разработка различных технологий интраоперационной диагностики [8, 9], позволяющих контролировать состав удаляемой ткани, и основанных в том числе на молекулярном профилировании иссекаемых тканей [10–13]. Например, ганглиозиды используют для дифференциации астроцитомы [14]. Липидные профили, онкометаболиты и специфические нейрометаболиты, такие как *n*-ацетиласпартат (NAA), тоже используют для определения границ опухоли [15, 16].

Методы прямой масс-спектрометрии позволяют анализировать иссекаемые ткани практически в режиме реального времени. Регистрируемые молекулярные профили содержат информацию как о метаболическом профиле тканей, так и об изменении соотношения различных липидов, что позволяет построить автоматические классификаторы, определяющие присутствие и долю злокачественных клеток в исследуемом образце [17, 18]. Так, при помощи методов, основанных на экспресс-экстракции липидов и метаболитов из ткани [13, 17, 19]

либо на ионизации после касания (*touch spray ionization*) [15, 20, 21], были разработаны методы дифференциации различных опухолей от интактной ткани. Однако специфика молекулярного строения оболочечных опухолей ЦНС ставит задачу выбора метода прямой ионизации, оптимального для дальнейшего развития методов интраоперационной диагностики менингиом. Целью данной работы было провести сравнение трех методов масс-спектрометрического профилирования и определить их применимость для решения задач дифференциации опухолевой и интактной ткани у пациентов с менингиомой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гистологически аннотированные и анонимизированные образцы менингиом были предоставлены НМИЦН им. Н. Н. Бурденко. Все образцы получены в рамках плановых операций по резекции патологической ткани головного мозга.

Три метода молекулярного профилирования были применены к образцам оболочечных опухолей головного мозга человека: метод прямого спрея с ткани (*spray from tissue, SFT*) [22, 23], метод картриджной экстракции (*inline cartridge extraction, ICE*) [17], ионизация с поверхности сферического волоконистого пробоотборника, или прямая экстракционная ионизация (*touch spherical sampler probe spray, SSP*) [21].

Для анализа образцов менингиом с помощью метода прямого спрея с ткани [22, 23] образец размером около 2 мм² помещали на острие одноразовой инъекционной иглы, расположенной на расстоянии 10 мм от входного интерфейса в вакуумную систему масс-спектрометра. Для подачи растворителя к образцу использовали капилляр из кварцевого стекла (*fused silica*) (рис. 1).

Для экстракции липидов и метаболитов растворитель по капилляру непосредственно на поверхность образца, в результате чего молекулы экстрагируются из образца. Для ионизации молекул к инъекционной игле прикладывают высокое напряжение, до 4–6 кВ (подбирают эмпирически исходя из геометрических параметров образца), что обеспечивает формирование конуса Тейлора и электрораспыление на конце иглы, непосредственно после экстракции молекул. Скорость потока растворителя для экстракции составляет 3 мкл/мин.

Для реализации метода картриджной экстракции [17] в линию для подачи растворителя посредством стандартных соединений для подачи растворов вставляют одноразовый картридж с образцом (рис. 2).

Картридж представляет собой трубку из нержавеющей стали, внутренний диаметр которой составляет 1,8 мм. В картридж помещают образец объемом приблизительно 1 мм², молекулы из которого экстрагируются растворителем, протекающим через линию подачи растворителя. Для соединения с линией в трубку вставляют два коротких участка капилляра ПEEK (*polyether ether ketone*) и обжимают для предотвращения утечек. Фильтр из стекловолна в картридже предотвращает попадание макроскопических частей образца в линию и ее перекрывания. После картриджа на конце линии установлен стандартный коммерчески доступный ионный источник электрораспыления. Напряжение на ионном источнике составляет 3 кВ в режиме регистрации положительно-заряженных ионов и 4 кВ в режиме регистрации отрицательно-заряженных ионов. Скорость потока растворителя для экстракции составляет 2 мкл/мин.

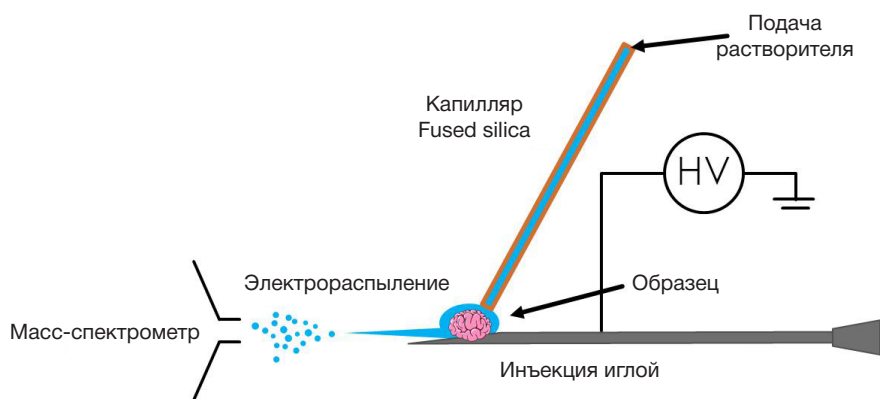


Рис. 1. Схема установки для прямого спрея с ткани

В методе ионизации с поверхности сферического волокнистого пробоотборника [21] используют объемные пробоотборники с последующей ионизацией электрораспылением непосредственно с их поверхности. Пробоотборники представляют собой стержень из очищенных и прессованных полимерных волокон (полиэтилентерефталат) длиной 10 мм, диаметром 2 мм. Процедура отбора включает в себя забор образца с помощью пористого объемного пробоотборника посредством мазка. В дальнейшем пробоотборник закрепляют в специальном ионном источнике, в котором обеспечивается подведение растворителя (80 мкл) и высокого напряжения (5 кВ) для осуществления электрораспыления.

Для сравнения эффективности применения различных методов прямой ионизации проводили анализ трех образцов менингиомы, полученных от трех пациентов. Каждый образец менингиомы разделяли на три части и анализировали каждым из предложенных методов. Результаты исследования валидировали на образцах менингиом, полученных от трех различных пациентов. Эксперименты проводили с использованием гибридного масс-спектрометра LTQ XL Orbitrap ETD (ThermoFisher; США) в режиме полного сканирования с m/z 100–2000. Масс-спектры были получены с использованием масс-анализаторов как низкого разрешения (ионной ловушки LTQ XL в режиме сканирования «normal»), так и высокого разрешения (Orbitrap с разрешением 30 000 FWHM при $m/z = 400$). Температура нагревательного капилляра

на входе в масс-спектрометр составляла 220 °С. Для приготовления рабочего раствора для экстракции использовали метанол (MeOH, > 99,9% ВЭЖХ; Merck KGaA; Германия), изопропанол (i-PrOH, > 99,9% ВЭЖХ; Merck KGaA, Германия), ацетонитрил (ACN, > 99,9% ВЭЖХ; Merck KGaA, Германия), уксусную кислоту (CH₃COOH, > 99%; Merck KGaA, Германия) и деионизированную воду, чистоту которой контролировали по значению удельного сопротивления, составлявшего не менее 17 МОм•см. Для экстракции использовали растворитель, состоящий из MeOH, i-PrOH, ACN и H₂O в отношении 3 : 3 : 3 : 1 (об.), с добавлением 0,1% (об.) CH₃COOH, оптимально экстрагирующий молекулы липидов и метаболитов из мягких тканей и подходящий для применения в источниках ионизации электрораспылением.

Наиболее интенсивные пики идентифицировали по их точной массе с помощью ПО LipiDex [24], и по их изотопному распределению с помощью ПО Xcalibur™ (Thermo Scientific-Xoce; США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При регистрации масс-спектров в высоком разрешении в режиме регистрации положительных ионов все три метода: SFT (рис. 3), ICE (рис. 4А) и SSP (рис. 4Б) характеризуются схожими по составу и относительной интенсивности спектрами ионов, связанных с липидами (в диапазоне m/z 600–900). Положительные ионы зарегистрированы в виде протонированных ионов или ионов, катионизированных

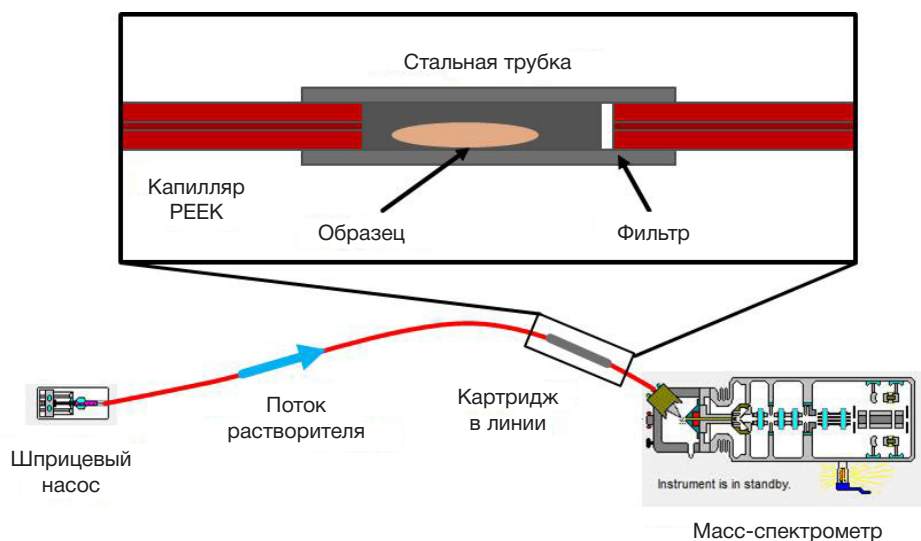


Рис. 2. Схема установки для экстракции в картридже (ICE)

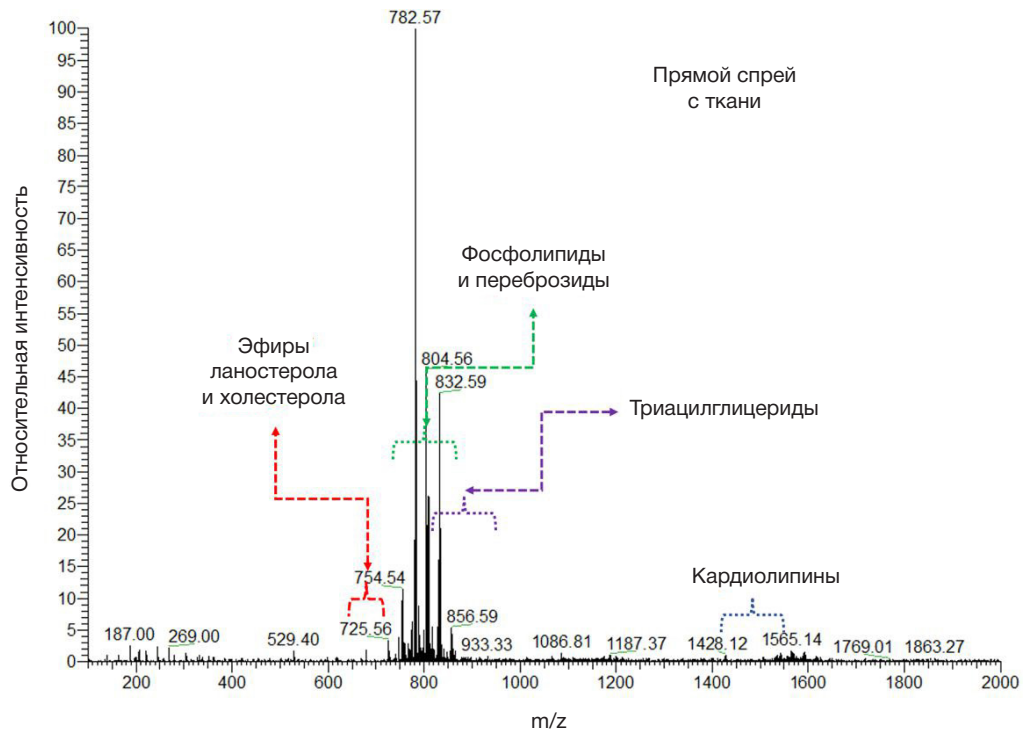


Рис. 3. Масс-спектр образцов менингиомы, полученный с помощью метода прямого спрея с ткани в высоком разрешении для режима регистрации положительных ионов

натрием или калием). В спектрах SFT не наблюдали интенсивную группу пиков в области m/z 1450–1650, представляющую собой суперпозицию групп пиков, характерных как для кардиолипидов, так и для димеров мембранных липидов. Значения отношения сигнала к шуму близки у спектров SFT и ICE, а для пробоотборника этот показатель существенно (в 2–4 раза) ниже, что затрудняло поиск и анализ пиков малой интенсивности.

В низком разрешении для спектров положительных ионов наблюдается схожая картина. Для SFT также выявлена большая (приблизительно в 2,5 раза) интенсивность пиков липидов (рис. 5А), и, соответственно, меньшая относительная (но не абсолютная) интенсивность пиков в области m/z 100–400 в сравнении с методом ICE (рис. 5Б), в то время как для SSP обнаружена сниженная интенсивность в характерной для липидов области спектра, но увеличенная интенсивность и разнообразие

пиков в области малых масс, в которой регистрируются метаболиты (рис. 5В).

Во всех спектрах для высокого разрешения в отрицательных ионах выявлены характерные пики липидов (рис. 6 и 7). Значения интенсивности сигналов молекул различных классов варьируют между методами в значительно меньшей степени, нежели в режиме регистрации положительно заряженных ионов. Однако только для двух методов прямой ионизации (ICE и SSP) в спектрах удалось зарегистрировать ионы, соответствующие нейрометаболиту NAA, характерному для интактной нервной ткани [25, 26]. Присутствие данного метаболита свидетельствует о том, что исследованные образцы были взяты с границы опухоли. Для низкого разрешения в отрицательных ионах спектры, как и в высоком разрешении, похожи по представленным ионам липидов (результаты полностью аналогичны случаю

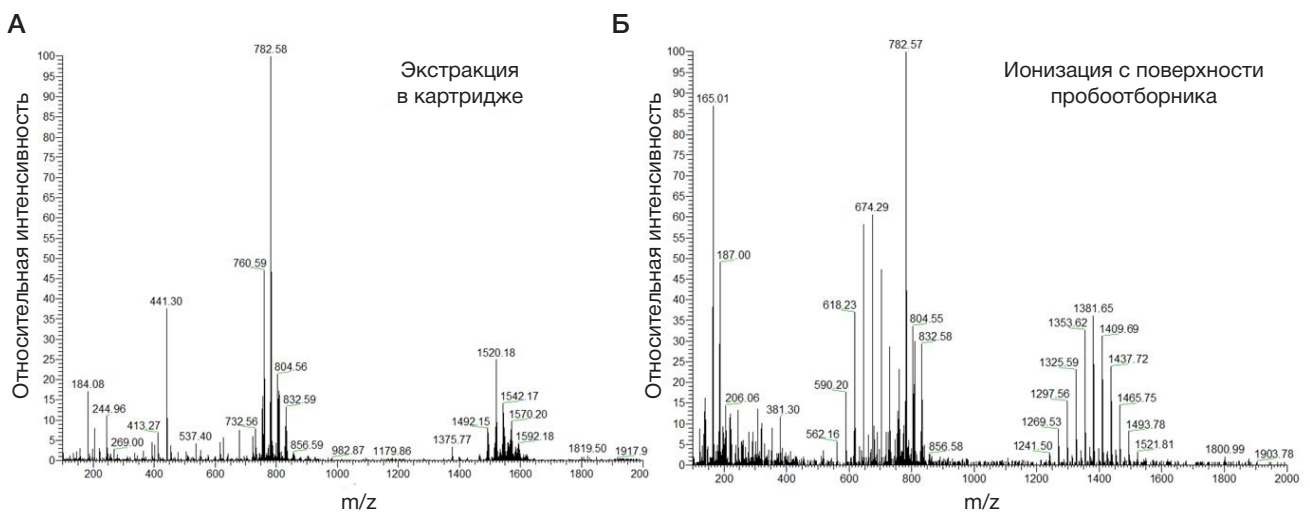


Рис. 4. Масс-спектры образцов менингиом, полученные с помощью метода ICE (А) и с помощью метода SSP (Б) в высоком разрешении для режима регистрации положительных ионов

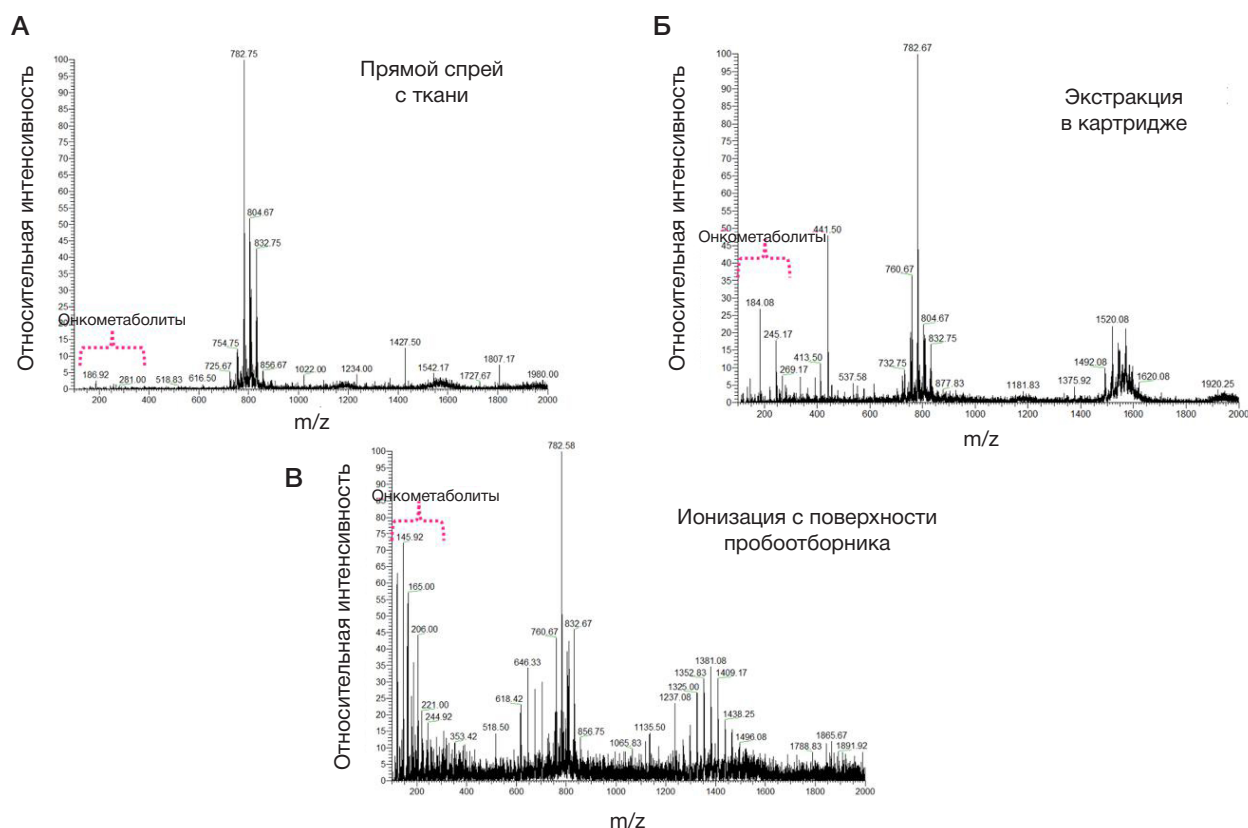


Рис. 5. Масс-спектры образцов менингиом, полученные с помощью SFT (А), ICE (Б) и SSP (В) в низком разрешении для режима регистрации положительных ионов

регистрации масс-спектров высокого разрешения и здесь не представлены). Однако NAA не удалось идентифицировать ни в одном из спектров, полученных в данном режиме.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Быстрый анализ ткани с помощью прямой масс-спектрометрии рассматривают как инструмент для молекулярной диагностики опухолей ЦНС. Несмотря на привлекательность методов молекулярного профилирования, встраиваемых в хирургический инструмент [11, 19], их применение сопряжено с недостатками, аналогичными применению интраоперационной томографии. Необходимость оборудования каждой операционной дорогостоящим масс-спектрометром, а также сложность сертификации подобных комплексов затрудняет их внедрение в клиническую практику. В то же время методы офлайн-анализа [13, 17], в которых образец ткани берут *in vivo* в процессе резекции, а затем анализируют *ex vivo* в патоморфологической лаборатории, легко встраиваются в рутинную практику, что обеспечивает быструю обратную связь хирургу для прецизионного иссечения опухоли. Будучи встроенным в стандартный процесс экспресс-гистологического исследования клинических образцов, молекулярное профилирование предоставляет информацию об иссекаемых тканях в течение минут, причем скорость-лимитирующей стадией оказывается время транспортировки образца между операционной и лабораторией.

Каждый из рассмотренных методов прямой ионизации опухолевых тканей обладает набором характерных особенностей. Так, метод SFT позволяет исключить какие-либо «эффекты памяти» (т. е. наличия остаточных

молекул предыдущего образца при анализе текущего, и их влияние на масс-спектр) за счет полностью одноразовых элементов источника ионов, контактирующих с анализируемым образцом. Однако стабильность ионизации, которая важна для получения надежных и повторяемых результатов исследования, оказывается зависимой от формы анализируемого образца ткани. Поскольку оболочечные опухоли головного мозга, как правило, имеют малую механическую жесткость и пластичны, контроль формы и размера образца представляется трудновыполнимой задачей, поэтому для каждого образца требуется дополнительная подстройка напряжения в ионном источнике, что снижает оперативность и требует значительной квалификации персонала.

Метод ICE, в свою очередь, обеспечивает высокую стабильность процесса ионизации за счет использования стандартного электрораспылительного источника масс-спектрометра. Ионные источники этого типа широко распространены и их применяют для анализа различных биологических молекул, в том числе используемых в медицинской диагностике. Однако необходимость промывки ионного источника между пробами также снижает производительность метода, поскольку недостаточная очистка ионного источника может приводить к кросс-контаминации между образцами и, следовательно, ошибочной идентификации онкометаболитов в исследуемой пробе.

Метод SSP, основанный на использовании одноразовых пробоотборников, позволяет нивелировать как проблему перекрестного загрязнения образцов, характерную для метода ICE, так и упростить процесс анализа в сравнении с SFT. Сферическая форма жестких пробоотборников обеспечивает постоянство геометрии ионного источника, а также облегчает процесс пробоотбора, который

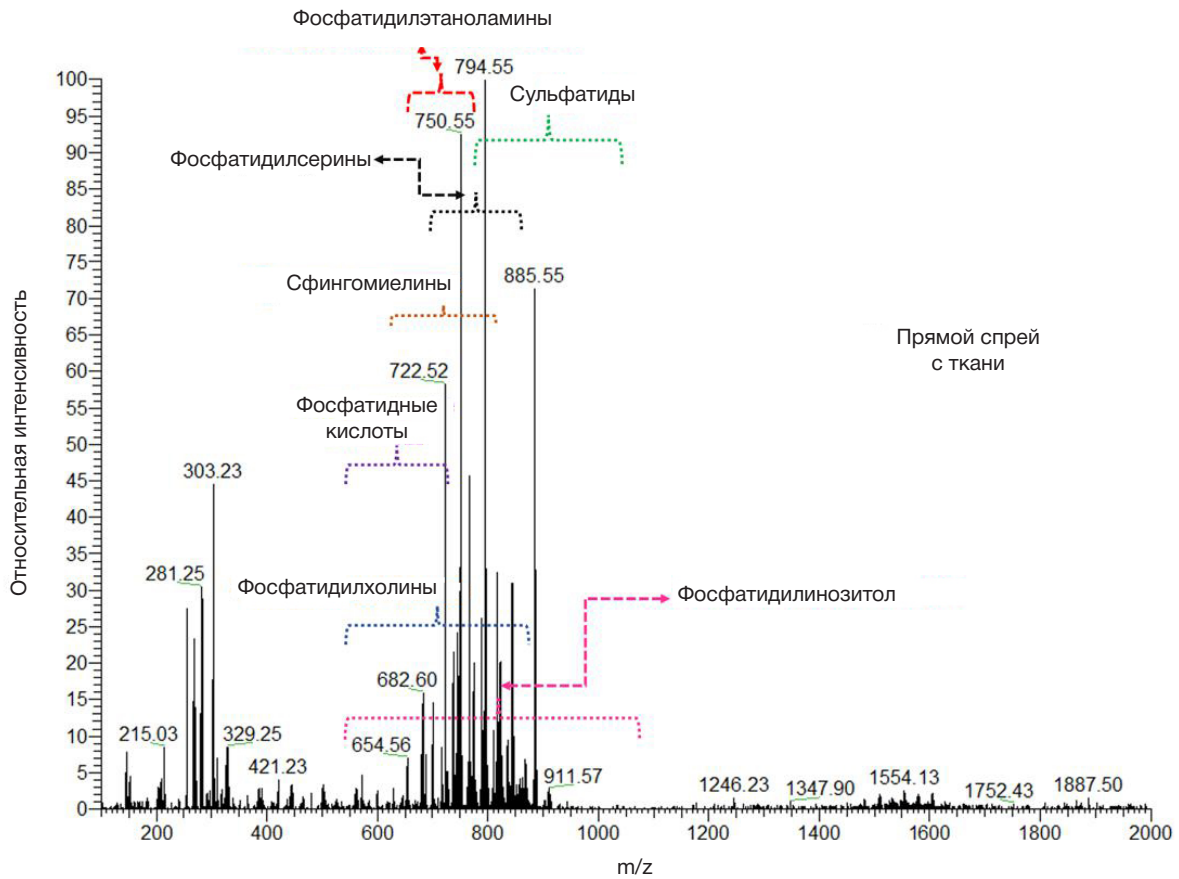


Рис. 6. Масс-спектр образцов менингиомы, полученный с помощью метода прямого спрея с ткани в высоком разрешении для режима регистрации отрицательных ионов

заключается только в касании образца кончиком пробоотборника. Инертность материалов, из которых изготовлен пробоотборник, тоже позволяет использовать его для отбора проб непосредственно в операционной в случае осуществления соответствующей сертификации. Несмотря на указанные преимущества, метод SSP менее эффективен для анализа липидной компоненты молекулярного профиля, ионизируемой в режиме

образования положительно-заряженных ионов. В первую очередь, к ним относятся фосфатидилхолины и другие компоненты клеточных мембран, которые значительно изменяются в процессе малигнизации. Однако в режиме регистрации отрицательно-заряженных ионов в спектре липидной компоненты наблюдаются, в частности, фосфатидилсерины, которые составляют значительную долю липидов в составе клеточных мембран интактной

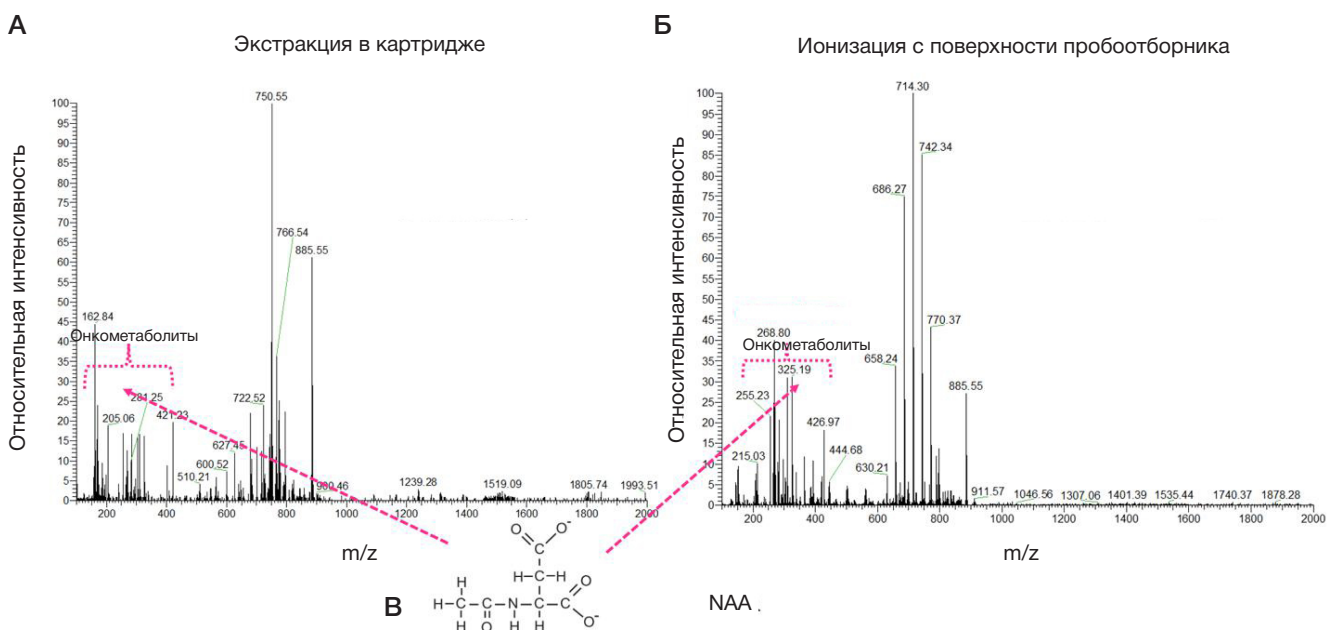


Рис. 7. Масс-спектры образцов менингиом, полученные с помощью методов ICE (А) и SSP (Б) в высоком разрешении для режима регистрации отрицательных ионов. В. Структурная формула нейрометаболита NAA

ткани головного мозга, что позволяет применять метод SSP для дифференциации опухолевой и интактной ткани по данным молекулярного профилирования.

В отличие от липидной компоненты, эффективность ионизации метаболитов малой массы, ионизируемых в диапазоне m/z 100–400, оказалась сравнимой для всех методов ионизации. Однако метаболический профиль, полученный при помощи метода SFT, был менее разнообразным — в нем наблюдается меньшее число масс-спектрометрических пиков. В первую очередь, ни в одном из экспериментов с помощью этого метода не удалось обнаружить NAA, который был зарегистрирован при одновременном исследовании данных образцов с использованием других методов ионизации. Такой результат, по всей видимости, связан с менее эффективной экстракцией водорастворимых метаболитов из цельного образца ткани в процессе омывания его растворителем в процессе ионизации в сравнении с более полной экстракцией в картридже, либо с эффективным переносом аналитов умеренной гидрофобности на поверхность волокнистого пробоотборника.

Метод прямой экстракционной ионизации с использованием объемного пробоотборника в режиме регистрации отрицательных ионов, в свою очередь, перспективен для экспрессной хирургической оценки края резекции опухоли. Вследствие сравнительно высокой интенсивности ионов в данном диапазоне представляется возможным регистрировать онкометаболит, в частности NAA, и обеспечивать оценку инфильтрации опухоли,

которая имеет первостепенное значение при попытке максимизировать резекцию глиомы, что является благоприятным прогностическим фактором для пациентов с глиомой.

ВЫВОДЫ

Применение различных методов прямой ионизации для исследования образцов оболочечных опухолей ЦНС позволяет получить достаточно интенсивный молекулярный профиль, пригодный для дифференциации опухолевых тканей от интактных, как было продемонстрировано ранее для глиальных опухолей. Метод спрея с ткани позволяет получать спектры липидной компоненты тканей с высокой производительностью. Метод картриджной экстракции наиболее прост для реализации, но обладает наименьшей производительностью анализа. Метод ионизации с поверхности сферического волокнистого пробоотборника ограниченно применим для анализа липидной фракции, но эффективен с точки зрения обнаружения онко- и нейрометаболитов, а также отличается простотой реализации. Таким образом, выбор метода ионизации для клинического применения напрямую зависит как от требований к простоте реализации и производительности анализа, предъявляемых к осуществляющей его лаборатории, так и от набора классов биологических молекул, липидов или водорастворимых метаболитов, в наибольшей степени характеризующих конкретную нозологию с учетом ее степени злокачественности.

Литература

- Islim AI, Mohan M, Moon RDC, Srikantharajah N, Mills SJ, Brodbelt AR, et al. Incidental intracranial meningiomas: a systematic review and meta-analysis of prognostic factors and outcomes. *J Neurooncol.* 2019; 142: 211–21. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11060-019-03104-3>.
- Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013–2017. *Neuro Oncol.* 2020; 22: iv1–96. Available from: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa200>.
- Buerki RA, Horbinski CM, Kruser T, Horowitz PM, James CD, Lukas R v. An overview of meningiomas. *Future Oncology.* 2018; 14: 2161–77. Available from: <https://doi.org/10.2217/fo-2018-0006>.
- Ogasawara C, Philbrick BD, Adamson DC. Meningioma: A Review of Epidemiology, Pathology, Diagnosis, Treatment, and Future Directions. *Biomedicine.* 2021; 9: 319. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicine9030319>.
- Nguyen PX, Thi-Ngoc Doan H, van Vu H. Neuronavigation in falcine meningiomas surgery: Initial results from a Vietnamese multicenter study. *Annals of Medicine and Surgery.* 2022: 104905. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104905>.
- Bir SC, Konar SK, Maiti TK, Thakur JD, Guthikonda B, Nanda A. Utility of Neuronavigation in Intracranial Meningioma Resection: A Single-Center Retrospective Study. *World Neurosurg.* 2016; 90: 546–555.e1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2015.12.101>.
- Stummer W, Koch R, Valle RD, Roberts DW, Sanai N, Kalkanis S, et al. Intraoperative fluorescence diagnosis in the brain: a systematic review and suggestions for future standards on reporting diagnostic accuracy and clinical utility. *Acta Neurochir (Wien).* 2019; 161: 2083–98. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00701-019-04007-y>.
- Ifa DR, Eberlin LS. Ambient ionization mass spectrometry for cancer diagnosis and surgical margin evaluation. *Clin Chem.* 2016; 62: 111–23. Available from: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.237172>.
- Kiritani S, Yoshimura K, Arita J, Kokudo T, Hakoda H, Tanimoto M, et al. A new rapid diagnostic system with ambient mass spectrometry and machine learning for colorectal liver metastasis. *BMC Cancer.* 2021; 21: 262. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08001-5>.
- Huang Y-C, Chung H-H, Dutkiewicz EP, Chen C-L, Hsieh H-Y, Chen B-R, et al. Predicting Breast Cancer by Paper Spray Ion Mobility Spectrometry Mass Spectrometry and Machine Learning. *Anal Chem.* 2020; 92: 1653–7. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03966>.
- Phelps DL, Balog J, Gildea LF, Bodai Z, Savage A, El-Bahrawy MA, et al. The surgical intelligent knife distinguishes normal, borderline and malignant gynaecological tissues using rapid evaporative ionisation mass spectrometry (REIMS). *Br J Cancer.* 2018; 118: 1349–58. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0048-3>.
- Ogrinc N, Attencourt C, Colin E, Boudahi A, Tebbakha R, Salzet M, et al. Mass Spectrometry-Based Differentiation of Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma and Nontumor Regions With the SpiderMass Technology. *Frontiers in Oral Health.* 2022; 3. Available from: <https://doi.org/10.3389/froh.2022.827360>.
- Pekov SI, Bormotov DS, Nikitin PV, Sorokin AA, Shurkhay VA, Eliferov VA, et al. Rapid estimation of tumor cell percentage in brain tissue biopsy samples using inline cartridge extraction mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2021; 413: 2913–22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03220-y>.
- Eberlin LS, Dill AL, Golby AJ, Ligon KL, Wiseman JM, Cooks RG, et al. Discrimination of human astrocytoma subtypes by lipid analysis using desorption electrospray ionization imaging mass spectrometry. *Angewandte Chemie — International Edition.* 2010; 49: 5953–6. Available from: <https://doi.org/10.1002/>

- anie.201001452.
15. Pirro V, Llor RS, Jarmusch AK, Alfaro CM, Cohen-Gadol AA, Hattab EM, et al. Analysis of human gliomas by swab touch spray-mass spectrometry: Applications to intraoperative assessment of surgical margins and presence of oncometabolites. *Analyst*. 2017; 142: 4058–66. Available from: <https://doi.org/10.1039/c7an01334e>.
 16. Jarmusch AK, Pirro V, Baird Z, Hattab EM, Cohen-Gadol AA, Cooks RG. Lipid and metabolite profiles of human brain tumors by desorption electrospray ionization-MS. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016; 113: 1486–91. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1523306113>.
 17. Pekov SI, Eliferov VA, Sorokin AA, Shurkhay VA, Zhvansky ES, Vorobyev AS, et al. Inline cartridge extraction for rapid brain tumor tissue identification by molecular profiling. *Sci Rep*. 2019; 9: 18960. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55597-7>.
 18. Pirro V, Jarmusch AK, Alfaro CM, Hattab EM, Cohen-Gadol AA, Cooks RG. Utility of neurological smears for intrasurgical brain cancer diagnostics and tumour cell percentage by DESI-MS. *Analyst*. 2017; 142: 449–54. Available from: <https://doi.org/10.1039/c6an02645a>.
 19. Keating MF, Zhang J, Feider CL, Retailleau S, Reid R, Antaris A, et al. Integrating the MasSpec Pen to the da Vinci Surgical System for in Vivo Tissue Analysis during a Robotic Assisted Porcine Surgery. *Anal Chem*. 2020; 92: 11535–42. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02037>.
 20. Shamraeva MA, Pekov SI, Bormotov DS, Levin RE, Larina IM, Nikolaev EN, et al. The lightweight spherical samplers for simplified collection, storage, and ambient ionization of drugs from saliva and blood. *Acta Astronaut*. 2022; 195: 556–60. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2022.03.026>.
 21. Shamraeva MA, Bormotov DS, Shamarina EV, Bocharov KV, Peregodova OV, Pekov SI, et al. Spherical Sampler Probes Enhance the Robustness of Ambient Ionization Mass Spectrometry for Rapid Drugs Screening. *Molecules*. 2022; 27: 945. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules27030945>.
 22. Chagovets V, Wang Z, Kononikhin A, Starodubtseva N, Borisova A, Salimova D, et al. A Comparison of Tissue Spray and Lipid Extract Direct Injection Electrospray Ionization Mass Spectrometry for the Differentiation of Eutopic and Ectopic Endometrial Tissues. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2017; 6–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13361-017-1792-y>.
 23. Adamyan L, Starodubtseva N, Borisova A, Stepanian A, Chagovets V, Salimova D, et al. Direct Mass Spectrometry Differentiation of Ectopic and Eutopic Endometrium in Patients with Endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol*. 2017. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2017.08.658>.
 24. Hutchins PD, Russell JD, Coon JJ. LipiDex: An Integrated Software Package for High-Confidence Lipid Identification. *Cell Syst*. 2018; 6: 621–5.e5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.03.011>.
 25. Bogner-Strauss JG. N-acetylaspartate metabolism outside the brain: Lipogenesis, histone acetylation, and cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017; 8: 1–5. Available from: <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00240>.
 26. Pirro V, Alfaro CM, Jarmusch AK, Hattab EM, Cohen-Gadol AA, Cooks RG. Intraoperative assessment of tumor margins during glioma resection by desorption electrospray ionization-mass spectrometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017; 114: 201706459. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1706459114>.

References

1. Islim AI, Mohan M, Moon RDC, Srikantharajah N, Mills SJ, Brodbelt AR, et al. Incidental intracranial meningiomas: a systematic review and meta-analysis of prognostic factors and outcomes. *J Neurooncol*. 2019; 142: 211–21. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11060-019-03104-3>.
2. Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013–2017. *Neuro Oncol*. 2020; 22: iv1–96. Available from: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa200>.
3. Buerki RA, Horbinski CM, Kruser T, Horowitz PM, James CD, Lukas R v. An overview of meningiomas. *Future Oncology*. 2018; 14: 2161–77. Available from: <https://doi.org/10.2217/fon-2018-0006>.
4. Ogasawara C, Philbrick BD, Adamson DC. Meningioma: A Review of Epidemiology, Pathology, Diagnosis, Treatment, and Future Directions. *Biomedicines*. 2021; 9: 319. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030319>.
5. Nguyen PX, Thi-Ngoc Doan H, van Vu H. Neuronavigation in falxine meningiomas are surgery: Initial results from a Vietnamese multi-center study. *Annals of Medicine and Surgery*. 2022: 104905. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104905>.
6. Bir SC, Konar SK, Maiti TK, Thakur JD, Guthikonda B, Nanda A. Utility of Neuronavigation in Intracranial Meningioma Resection: A Single-Center Retrospective Study. *World Neurosurg*. 2016; 90: 546–555.e1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2015.12.101>.
7. Stummer W, Koch R, Valle RD, Roberts DW, Sanai N, Kalkanis S, et al. Intraoperative fluorescence diagnosis in the brain: a systematic review and suggestions for future standards on reporting diagnostic accuracy and clinical utility. *Acta Neurochir (Wien)*. 2019; 161: 2083–98. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00701-019-04007-y>.
8. Ifa DR, Eberlin LS. Ambient ionization mass spectrometry for cancer diagnosis and surgical margin evaluation. *Clin Chem*. 2016; 62: 111–23. Available from: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.237172>.
9. Kiritani S, Yoshimura K, Arita J, Kokudo T, Hakoda H, Tanimoto M, et al. A new rapid diagnostic system with ambient mass spectrometry and machine learning for colorectal liver metastasis. *BMC Cancer*. 2021; 21: 262. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08001-5>.
10. Huang Y-C, Chung H-H, Dutkiewicz EP, Chen C-L, Hsieh H-Y, Chen B-R, et al. Predicting Breast Cancer by Paper Spray Ion Mobility Spectrometry Mass Spectrometry and Machine Learning. *Anal Chem*. 2020; 92: 1653–7. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03966>.
11. Phelps DL, Balog J, Gildea LF, Bodai Z, Savage A, El-Bahrawy MA, et al. The surgical intelligent knife distinguishes normal, borderline and malignant gynaecological tissues using rapid evaporative ionisation mass spectrometry (REIMS). *Br J Cancer*. 2018; 118: 1349–58. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0048-3>.
12. Ogrinc N, Attencourt C, Colin E, Boudahi A, Tebbakha R, Salzet M, et al. Mass Spectrometry-Based Differentiation of Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma and Nontumor Regions With the SpiderMass Technology. *Frontiers in Oral Health*. 2022; 3. Available from: <https://doi.org/10.3389/froh.2022.827360>.
13. Pekov SI, Bormotov DS, Nikitin PV, Sorokin AA, Shurkhay VA, Eliferov VA, et al. Rapid estimation of tumor cell percentage in brain tissue biopsy samples using inline cartridge extraction mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2021; 413: 2913–22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03220-y>.
14. Eberlin LS, Dill AL, Golby AJ, Ligon KL, Wiseman JM, Cooks RG, et al. Discrimination of human astrocytoma subtypes by lipid analysis using desorption electrospray ionization imaging mass spectrometry. *Angewandte Chemie — International Edition*. 2010; 49: 5953–6. Available from: <https://doi.org/10.1002/anie.201001452>.
15. Pirro V, Llor RS, Jarmusch AK, Alfaro CM, Cohen-Gadol AA, Hattab EM, et al. Analysis of human gliomas by swab touch spray-mass spectrometry: Applications to intraoperative assessment of surgical margins and presence of oncometabolites. *Analyst*. 2017; 142: 4058–66. Available from: <https://doi.org/10.1039/c7an01334e>.
16. Jarmusch AK, Pirro V, Baird Z, Hattab EM, Cohen-Gadol AA,

- Cooks RG. Lipid and metabolite profiles of human brain tumors by desorption electrospray ionization-MS. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016; 113: 1486–91. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1523306113>.
17. Pekov SI, Eliferov VA, Sorokin AA, Shurkhay VA, Zhvansky ES, Vorobyev AS, et al. Inline cartridge extraction for rapid brain tumor tissue identification by molecular profiling. *Sci Rep*. 2019; 9: 18960. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55597-7>.
 18. Pirro V, Jarmusch AK, Alfaro CM, Hattab EM, Cohen-Gadol AA, Cooks RG. Utility of neurological smears for intrasurgical brain cancer diagnostics and tumour cell percentage by DESI-MS. *Analyst*. 2017; 142: 449–54. Available from: <https://doi.org/10.1039/c6an02645a>.
 19. Keating MF, Zhang J, Feider CL, Retaillieu S, Reid R, Antaris A, et al. Integrating the MasSpec Pen to the da Vinci Surgical System for in Vivo Tissue Analysis during a Robotic Assisted Porcine Surgery. *Anal Chem*. 2020; 92: 11535–42. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02037>.
 20. Shamraeva MA, Pekov SI, Bormotov DS, Levin RE, Larina IM, Nikolaev EN, et al. The lightweight spherical samplers for simplified collection, storage, and ambient ionization of drugs from saliva and blood. *Acta Astronaut*. 2022; 195: 556–60. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2022.03.026>.
 21. Shamraeva MA, Bormotov DS, Shamarina EV, Bocharov KV, Peregudova OV, Pekov SI, et al. Spherical Sampler Probes Enhance the Robustness of Ambient Ionization Mass Spectrometry for Rapid Drugs Screening. *Molecules*. 2022; 27: 945. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules27030945>.
 22. Chagovets V, Wang Z, Kononikhin A, Starodubtseva N, Borisova A, Salimova D, et al. A Comparison of Tissue Spray and Lipid Extract Direct Injection Electrospray Ionization Mass Spectrometry for the Differentiation of Eutopic and Ectopic Endometrial Tissues. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2017; 6–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13361-017-1792-y>.
 23. Adamyan L, Starodubtseva N, Borisova A, Stepanian A, Chagovets V, Salimova D, et al. Direct Mass Spectrometry Differentiation of Ectopic and Eutopic Endometrium in Patients with Endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol*. 2017. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2017.08.658>.
 24. Hutchins PD, Russell JD, Coon JJ. LipiDex: An Integrated Software Package for High-Confidence Lipid Identification. *Cell Syst*. 2018; 6: 621–5.e5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.03.011>.
 25. Bogner-Strauss JG. N-acetylaspartate metabolism outside the brain: Lipogenesis, histone acetylation, and cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017; 8: 1–5. Available from: <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00240>.
 26. Pirro V, Alfaro CM, Jarmusch AK, Hattab EM, Cohen-Gadol AA, Cooks RG. Intraoperative assessment of tumor margins during glioma resection by desorption electrospray ionization-mass spectrometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017; 114: 201706459. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1706459114>.