

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ ПОСМЕРТНОГО БИОМАТЕРИАЛА ДЛЯ РАЗВИТИЯ МЕТОДОВ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКИ

Е. В. Парочкина¹✉, А. А. Румянцева¹, Д. К. Семёнова¹, Д. С. Бормотов¹, А. А. Темнов^{1,2}, Г. С. Ступникова¹, Д. С. Заворотнюк¹, К. В. Бочаров^{1,3}¹ Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия² Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна, Москва, Россия³ Институт энергетических проблем химической физики имени В. Л. Тальрозе, Москва, Россия

Интраоперационное определение границ опухоли позволяет снизить объем резекции, обеспечивая полноту удаления злокачественной ткани без повышения риска рецидива. Существующие подходы, такие как интраоперационная гистология или томография, отличаются высокой эффективностью, но увеличивают продолжительность хирургического вмешательства. Поэтому особый интерес представляет развитие методов анализа в реальном времени. Одним из таких решений является масс-спектрометрическое профилирование, основанное на методах прямой ионизации. Молекулярный профиль исследуемой ткани сопоставляется с референсной базой данных, содержащей профили патологически измененной и здоровой контрольной ткани, получение которой для многих органов человека возможно только с использованием аутопсийного материала. Однако из-за неизбежной задержки между наступлением смерти и отбором образцов, процессы деградации тканей могут вносить вклад в картину изменений, связанных с развитием патологического процесса. Цель проведенного экспериментального количественного исследования — изучить стабильность профилей полярных липидов в тканях печени и головного мозга здоровых мышей линии Balb/c ($n = 23$) в раннем посмертном периоде (0–72 ч). Показано, что лизолипиды и свободные жирные кислоты коррелируют ($r > 0,6$ для всех; $r = 0,75$ для FA 20:4 и FA 22:6) с посмертным интервалом, поэтому не могут быть использованы как молекулярные маркеры для построения диагностических моделей на базе коллекций аутопсийного материала. В то же время фосфолипиды клеточных мембран не претерпевают существенных изменений предсказуемости в тканях в раннем посмертном периоде, поэтому сохраняют потенциал как биомаркеры, подходящие для выявления с использованием не только биопсийного, но и аутопсийного материала.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, молекулярная диагностика, метаболическое профилирование, липиды, посмертная стабильность, онкометаболиты, интраоперационная диагностика

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 23-69-10035.

Вклад авторов: Е. В. Парочкина — концепция, проведение эксперимента, анализ данных, написание статьи; А. А. Румянцева, Д. К. Семёнова, Г. С. Ступникова — проведение эксперимента; Д. С. Бормотов — проведение эксперимента, анализ данных; А. А. Темнов — концепция, проведение эксперимента; Д. С. Заворотнюк — анализ данных; К. В. Бочаров — поиск источников финансирования, руководство исследованием.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных центра доклинических исследований центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦДИ ЦНИЛ) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 1 от 13 октября 2023 г.). Работа выполнена в соответствии с Федеральным законом № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии 2023 г. «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований». Соблюдены санитарно-эпидемиологические нормы, закрепленные в СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Владимировна Парочкина
ул. Первомайская, д. 5, г. Долгопрудный, 141701, Россия; shamarina.ev@phystech.edu

Статья получена: 12.05.2026 **Статья принята к печати:** 17.06.2026 **Опубликована онлайн:** 29.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.037

Авторские права: © 2026 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ASSESSMENT OF LIPID PROFILE STABILITY IN POSTMORTEM SAMPLES FOR THE DEVELOPMENT OF INTRAOPERATIVE DIAGNOSTIC METHODS

Parochkina EV¹✉, Rumiantseva AA¹, Semyonova DK¹, Bormotov DS¹, Temnov AA^{1,2}, Stupnikova GS¹, Zavorotnyuk DS¹, Bocharov KV^{1,3}¹ Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Russia² Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia³ Talrose Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russia

Intraoperative determination of tumor margins reduces the volume of resected tissue while ensuring complete removal of malignant tissue without increasing the risk of recurrence. The existing approaches, including intraoperative histology or tomography, are highly effective, but they extend the time of the surgery. Therefore, real-time analysis methods are a particularly interesting avenue. One such solution is mass spectrometric profiling based on ambient ionization mass spectrometry. The molecular profile of the examined tissue is compared with a reference database of healthy and pathologically altered tissues. For many human organs, samples for this database can only be obtained from autopsy material. However, due to the unavoidable time delay between the moment of death and sample collection, tissue degradation may change the picture of pathological process. This experimental quantitative study investigated the stability of polar lipid profiles in the liver and brain tissues of healthy BALB/c mice ($n = 23$) during the early postmortem period (0–72 hours). It has been shown that lysolipids and free fatty acids correlate with the postmortem interval ($r > 0.6$ overall; $r = 0.75$ for FA 20:4 and FA 22:6); therefore, they cannot be used as molecular markers in diagnostic models based on autopsy samples. At the same time, the profile of phospholipids in tissue cell membranes remains largely unchanged in the early postmortem period, which preserves their value as biomarkers detectable in both biopsy and autopsy specimens.

Keywords: mass spectrometry, molecular diagnostics, molecular profiling, lipids, postmortem stability, oncometabolites, intraoperative diagnostics

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation within the framework of research project No. 23-69-10035.

Author contribution: Parochkina EV — study conceptualization, experiment, data analysis, article authoring; Rumiantseva AA, Semyonova DK, Stupnikova GS — experiment; Bormotov DS — experiment, data analysis; Temnov AA — study conceptualization, experiment; Zavorotnyuk DS — data analysis; Bocharov KV — fundraising, research management.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Commission for the Control of the maintenance and use of laboratory animals of the Preclinical Research Center of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Minutes No. 1 of October 13, 2023). The study complied with Federal Law No. 61-FZ "On the Circulation of Medicines" and the 2023 Eurasian Economic Commission Board Guidelines for Working with Laboratory (Experimental) Animals During Preclinical (Non-clinical) Studies. The sanitary and epidemiological norms stipulated in SanPiN 3.3686-21 "Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases" have been observed.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina V. Parochkina
Pervomayskaya, 5, Dolgoprudny, 141701, Russia; shamarina.ev@phystech.edu

Received: 12.05.2026 **Accepted:** 17.06.2026 **Published online:** 29.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.037

Copyright: © 2026 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Благодаря короткому времени анализа молекулярное профилирование, основанное на методах масс-спектрометрии с прямой ионизацией, является перспективным подходом для ассистирования хирургу в принятии решений в ходе плановых вмешательств в онкологии [1]. Такие интраоперационные методы диагностики основаны на поиске дескрипторов патологического состояния путем сравнения молекулярного профиля, полученного от исследуемой ткани, с профилями, содержащимися в референсной базе данных, включающей патологически измененные и контрольные образцы. При этом особенно важной оказывается задача выбора образцов, накапливаемых в базе данных в качестве неопухолевого контроля. Одним из наиболее распространенных подходов является использование тканей, расположенных вблизи опухоли [2]. Однако в таких образцах также может быть обнаружено некоторое количество опухолевых клеток, кроме того некоторые изменения метаболического профиля ткани наблюдаются и для морфологически здоровых клеток вблизи границы опухоли [1]. Использование в качестве контроля ткани с патологией иной природы также не является оптимальным в метаболических исследованиях из-за комплексного влияния патологического процесса на различные метаболические пути [3]. Возможным решением проблемы доступности контрольных образцов может быть использование аутопсийного материала здоровых тканей. По сравнению с интраоперационной биопсией использование посмертных тканей позволяет также получать образцы из нескольких регионов органа и при необходимости образцы большого объема. Использование посмертных тканей человека в рамках исследовательской аутопсии — одно из важных инструментов исследования этиологии и патогенеза различных заболеваний, особенно в области нейробиологии [4] и онкологии [5]. Однако точность молекулярно-биологических исследований может быть искажена из-за включения образцов с различными посмертными интервалами (ПИ) в общую коллекцию аутопсийного материала человека и труднопредсказуемого влияния ПИ на молекулярный профиль тканей [6, 7].

Смерть организма не приводит немедленно к гибели его клеток. Это иллюстрируется трупным окоченением, при котором скелетные мышцы продолжают метаболизировать АТФ до тех пор, пока все запасы не будут истощены. Продолжение метаболических процессов в клетках погибшего организма является фундаментальной причиной, объясняющей возможность осуществления трансплантации органов и тканей умерших людей [5]. В последнее десятилетие выделилось новое научное направление — танатотранскриптомика, изучающая глобальные изменения экспрессии генов после смерти организма [8]. В масштабном анализе данных проекта GTEx была выявлена ткане- и геноспецифичность экспрессии и деградации мРНК при увеличении ПИ [9]. В тканях органов лабораторных животных было выявлено значительное увеличение транскрипции более тысячи генов, в основном связанных со стрессом, иммунитетом, воспалением и апоптозом, в период до 96 ч после смерти [10]. Изучение процессов деградации в здоровых и патологически измененных тканях важно для того, чтобы отделить истинные, физиологически или патологически обусловленные изменения от артефактов, вызванных процессами, происходящими после смерти. Сравнительный анализ посмертной динамики экспрессии

генов показал сближение транскрипционных профилей здоровой и опухолевой ткани печени к ПИ 24 ч на фоне адекватного качества биоматериала и изначальных существенных различий в экспрессии отдельных генов [11]. Таким образом, посмертные изменения в здоровой и опухолевой тканях протекают по-разному, что маскирует изначальные различия, присутствовавшие в живой ткани. Помимо нуклеиновых кислот исследуются также посмертные изменения среди белков [12] и малых молекул — метаболитов [13] и липидов, — в составе которых наиболее быстро отображаются все изменения, происходящие в организме из-за внутренних и внешних факторов.

Липиды являются обязательным компонентом клеточной мембраны и участвуют во многих биологических процессах, например, энергетическом метаболизме, клеточном распознавании, развитии и разрешении воспаления. Липиды просты в обнаружении при помощи высокопроизводительных методов масс-спектрометрии, поэтому поиск липидных маркеров представляется перспективным в области нейродегенеративных и психических заболеваний [14], а также некоторых видов онкологических заболеваний: опухолей гепатобилиарной системы [15], мозга [16] и др. В отличие от нуклеиновых кислот и белков, к настоящему моменту существует ограниченное число работ на тему посмертной стабильности липидного профиля тканей. Судебно-медицинские исследования фокусируются на длительных посмертных интервалах и соответствующих органах и тканях (костях и мышцах) [17, 18]. В систематическом обзоре 2024 г. [19] были рассмотрены липидные данные для определения ПИ, однако среди работ, посвященных липидному составу органов, есть исследования, проводившиеся только в отношении мышечной и жировой тканей и крови. Отмечено, что до сих пор не существует уравнений, связывающих концентрации липидов с ПИ. Исследование стабильности липидов в уже изъятых образцах головного мозга человека и грызунов показало, что среди соединений, значимо изменяющихся с увеличением ПИ до 48 ч, были выделены только окисленные жирные кислоты [20]. Показано, что варьирование условий хранения изъятых образцов головного мозга крыс в первый час не влияет на липидный профиль [21]. Таким образом, на сегодняшний день остается актуальным изучение посмертной стабильности липидов, полученных из аутопсийного материала раннего посмертного периода (до 72 ч), когда представляется возможность получения аутопсийного материала человека.

Цель данной работы — исследовать изменения липидного состава тканей печени и головного мозга модельного животного в раннем посмертном периоде методом молекулярного профилирования с использованием масс-спектрометрии с прямой ионизацией. Выбор органов интереса обусловлен тем, что для головного мозга наиболее критична полнота резекции опухоли при минимальном затрагивании здоровых тканей и, следовательно, интраоперационное определение границ. Для опухолей печени обычной практикой является резекция значительных объемов органа, однако определение степени инвазии опухоли может позволить снизить объем резекции без повышения риска рецидива. Также для печени характерны относительная однородность и быстрый метаболизм липидов, что делает ее удобным органом для оценки процессов изменения в липидных профилях тканей после смерти.

Таблица. Распределение животных по экспериментальным группам

Номер группы	Время хранения при температуре +22 °С, ч	Время хранения при температуре +4 °С, ч	Общее время от эвтаназии до некропсии, ч	Количество животных
Группа 1	0	0	0	2
	0	1	1	1
	0	2	2	1
	0	4	4	2
	0	8	8	2
	0	16	16	1
	0	24	24	1
	0	35	35	1
	0	48	48	1
Группа 2	0	72	72	1
	0	1	1	1
	0	2	2	1
	0	4	4	1
	4	1	5	1
	4	2	6	1
	4	4	8	1
	4	16	20	1
	4	26	30	1
	4	46	50	1
	4	65	69	1

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на 23 самцах мышей серии Balb/c (вес — 19–22 г, возраст — около 2 месяцев). После поступления из вивария животные проходили карантин в течение 7 дней при естественном освещении и свободном доступе к корму и воде. Для эвтаназии использовали раствор золетила (Zoletil 100, 200 мг/кг), затем животных подвергали дислокации шейных позвонков.

Мыши были случайным образом разделены на две группы с различными температурными условиями хранения тела животного после эвтаназии: группа 1 — хранение при +4 °С до проведения некропсии, группа 2 — хранение при +22 °С первые 4 ч, затем при +4 °С до проведения некропсии (таблица). Условия в группе 2 выбраны в связи со схожестью с условиями проведения аутопсии человека в клинических учреждениях. При вскрытии отбирали образцы тканей объемом порядка 70 мм³ каждый. Образцы помещали в криопробирки, охлаждали в жидком азоте и переносили на хранение при –80 °С.

Масс-спектрометрическое профилирование осуществляли с использованием методики проточной микроэкстракции [22]. Для этого в качестве ионного источника применяли картриджи со встроенным одноразовым электрораспылительным эмиттером. Образец ткани размораживали, из него вырезали три фрагмента объемом от 1 до 2 мм³ (что соответствует трем техническим повторам), которые затем промывали 0,9%-м (масс.) раствором хлорида натрия. Каждый фрагмент помещали в картридж и запечатывали капилляром для ввода растворителя [22]. Картридж подключается к линии подачи растворителя при помощи хроматографических винтов и размещается в изготовленном для этой цели держателе, обеспечивающем трехмерное позиционирование и подачу напряжения от масс-спектрометра. Рабочий раствор, используемый для проточной микроэкстракции липидов, состоял из смеси растворителей: метанол : изопропанол : ацетонитрил :

вода в соотношении 3 : 3 : 3 : 1, с добавлением 0,1% (об.) уксусной кислоты. Состав рабочего раствора был выбран как обеспечивающий эффективную ионизацию полярных липидов различных классов [22].

Эксперименты проводили с использованием гибридного масс-спектрометра LTQ XL Orbitrap ETD (ThermoFisher, США) в режиме полного сканирования с m/z 100–2000. Спектры были получены с использованием масс-анализатора высокого разрешения (30 000 FWHM при m/z 400), в режимах регистрации положительных и отрицательных ионов. Для каждого режима выполняли два технических повтора в рамках одного образца (картриджа).

Оценку изменений в липидном портрете тканей проводили при помощи анализа поведения индивидуальных глицерофосфолипидов и потенциальных продуктов их деградации — лизофосфолипидов и свободных жирных кислот (ЖК). Исследовали зависимость от величины посмертного интервала относительных интенсивностей фосфатидилинозитолов, фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноломинов с жирнокислотными остатками FA 16 : 0, 18 : 0 в первом положении и FA 18 : 2, 20 : 3, 20 : 4, 20 : 5, 22 : 4, 22 : 5, 22 : 6 — во втором как наиболее распространенных липидов в тканях печени и головного мозга [23]. Чтобы обнаружить наличие тренда (монотонной зависимости величины отклика от времени), использовали линейную регрессию.

Для построения матрицы интенсивности пиков, которые могут содержать липиды из списка, каждый скан масс-спектра нормировали на полный ионный ток, в нем выделяли пики с отношением сигнал/шум не менее 2, и в матрицу сохраняли только те пики, интенсивность которых отличалась от нуля как минимум в 25% масс-спектров. После этого отфильтровывали столбцы, значение m/z которых отличалось от теоретического не более чем на 0,05 Да. Таким столбцам присваивали имена соответствующих соединений.

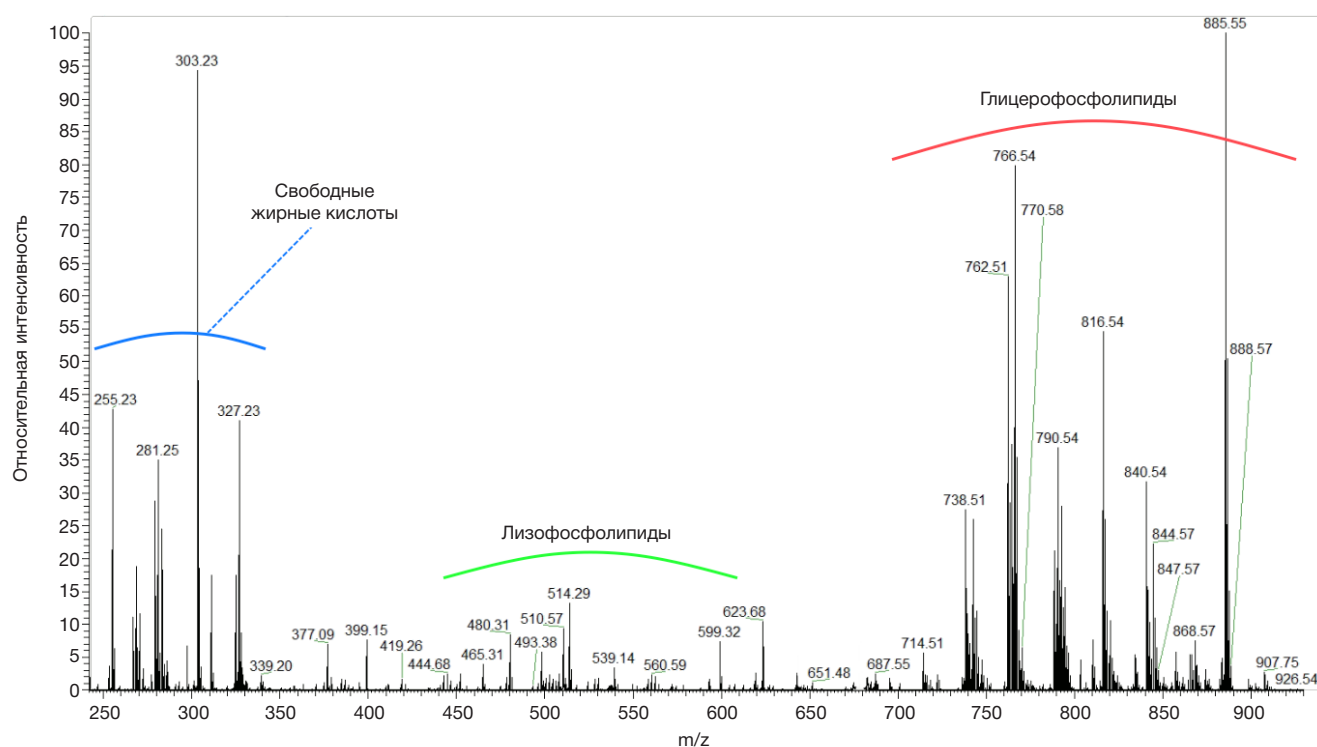


Рис. 1. Масс-спектр образцов ткани печени, в режиме регистрации отрицательных ионов

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для масс-спектрометрических профилей тканей печени и головного мозга в режиме регистрации положительных ионов характерны две группы пиков в диапазонах m/z 450–600 и 750–900, принадлежащие сигналам лизофосфолипидов и глицерофосфолипидов соответственно. В режиме регистрации отрицательных ионов помимо аналогичных групп пиков наблюдается группа пиков в диапазоне m/z 250–350, соответствующая депротонированным ионам свободных ЖК (рис. 1). При увеличении посмертного интервала возрастала относительная представленность в профилях пиков из диапазонов малых масс (до m/z 600).

На рис. 2 показана матрица корреляций Спирмена между липидами и ПИ для образцов ткани печени животных из группы 2 (хранение при +22 °C первые 4 ч, затем при +4 °C). Между уровнями свободных ЖК, лизолипидов и ПИ показана высокая положительная корреляция (коэффициент более 0,6; наибольший коэффициент корреляции для арахидоновой (FA 20 : 4) и докозагексаеновой (FA 22 : 6) кислот: $r = 0,75$), в то время как корреляция между всеми обозначенными выше величинами и уровнями глицерофосфолипидов была незначительная (модуль коэффициента менее 0,4) или умеренная отрицательная (коэффициент менее –0,5). Для образцов ткани печени животных из группы 1 (хранение при +4 °C) по сравнению с группой 2 корреляция уровней липидов с посмертным интервалом была слабее, но корреляция уровней различных групп липидов между собой оставалась на том же уровне. То же наблюдается для образцов головного мозга животных из группы 2. Для образцов головного мозга животных из группы 1 значительной корреляции с ПИ (модуль коэффициента более 0,5) не было выявлено для каких-либо липидов из списка; из различных классов липидов показана высокая положительная корреляция (коэффициент более 0,7) уровней свободных ЖК между собой.

Среди лизолипидов, относительная интенсивность которых возрастает с увеличением ПИ, присутствуют лизофосфолипиды с остатками жирных кислот, характерных для sn-1 и sn-2 положения в глицерофосфолипидах. Относительные интенсивности 1- и 2-лизофосфолипидов одного порядка, но на порядок ниже, чем относительные интенсивности фосфолипидов — возможных предшественников соответствующих лизолипидов (рис. 3). Поэтому относительные интенсивности фосфолипидов значительно не меняются с увеличением ПИ.

Для образцов ткани печени относительная интенсивность свободных жирных кислот FA 16 : 0, FA 16 : 1, FA 18 : 0, FA 18 : 1, FA 18 : 2, FA 20 : 3, FA 20 : 4, FA 22 : 4, FA 22 : 5, FA 22 : 6 растет с увеличением ПИ. Для образцов тканей животных из группы 1 (хранение тела при +4 °C) значимый рост начинается с ПИ 36–48 ч для всех ЖК, кроме FA 22 : 5, FA 22 : 6, у которых рост начинается с ПИ 16 ч. Для образцов, полученных от животных из группы 2 (хранение тела при +22 °C первые 4 ч, затем при +4 °C), значимый рост начинается с ПИ 10 ч. Для обеих групп динамика изменений была одинакова между FA16 : 0 и FA 18 : 0; FA 22 : 4, FA 22 : 5, FA 22 : 6 внутри группы (рис. 4).

Для образцов головного мозга относительная интенсивность всех названных выше жирных кислот не меняется со временем хранения, за исключением FA 20 : 4 и FA 22 : 4, FA 22 : 5, FA 22 : 6 — их относительная интенсивность достигает максимума при ПИ 2–8 ч.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Повышение относительной представленности в профилях пиков из диапазонов малых масс (до m/z 600) при увеличении ПИ свидетельствует о гидролизе глицерофосфолипидов с образованием лизолипидов и свободных жирных кислот. Однако уровень возможных предшественников остается, в целом неизменным. Изменения относительных интенсивностей лизолипидов и свободных жирных кислот в печени более выражены, чем

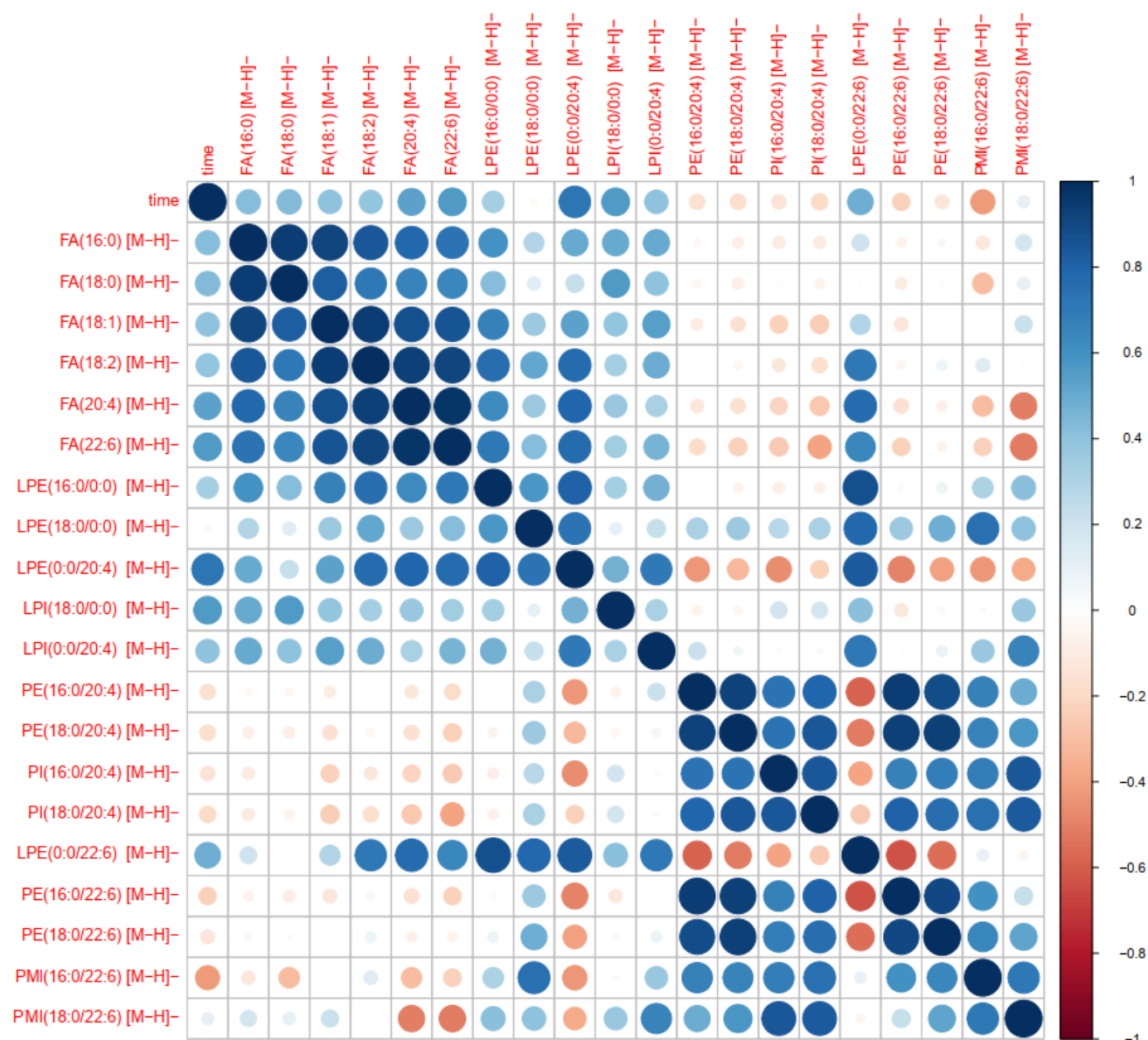


Рис. 2. Матрица корреляций Спирмена между липидами и посмертным интервалом; печень, группа 2

в мозге, а в группе 2 (хранение тела животного при +22 °С первые 4 ч, затем при +4 °С), как и ожидалось, более выражены, чем в группе 1 (хранение тела животного при +4 °С). Это согласуется с данными о лучшей посмертной стабильности тканей мозга [24] и может быть связано с высоким содержанием липаз в нормальной паренхиме печени.

Характерной особенностью являются относительные интенсивности полиненасыщенных жирных кислот, превышающие насыщенные. В литературных данных [23] представленность в липидах ткани печени ЖК с 16 и 18 атомами углерода составляет порядка 25 и 45% соответственно, арахидоновой — 13%, а докозагексаеновой кислоты — менее 5%. При этом в полученных данных молекулярного профилирования арахидоновой и докозагексаеновой кислот высвобождается больше, чем ЖК, характерных для sn-1 положения в фосфолипидах. ДГК, в отличие от жирных кислот с 16-ю и 18-ю атомами углерода, не является распространенным компонентом триглицеридов, что позволяет сделать вывод о том, что источник ее высвобождения при деградации ткани — именно фосфолипиды. Посмертные

изменения в липидном профиле могут быть связаны с неспецифической деградацией липидов, а также с ферментативной активностью фосфолипаз в клетках, подвергающихся стрессу из-за гибели организма: PLA2 для высвобождения ПНЖК для дальнейшего синтеза эйкозаноидов и докозаноидов [25], PLA1 для выработки лизофосфолипидных медиаторов [26].

Посмертная деградация фосфолипидов с образованием лизофосфолипидов лишь незначительно влияет на уровень исходного липида, а величина этого изменения может быть сравнима, либо лишь незначительно превышать естественную биологическую вариабельность концентрации соответствующего фосфолипида. В то же время количество лизофосфолипида изменяется значительно по сравнению с исходным количеством, что делает набор лизофосфолипидов комплексным маркером посмертного интервала. Относительные интенсивности свободных ЖК, в свою очередь, оказываются сравнимы, или даже на порядок превышают интенсивности фосфолипидов. Это может быть связано с разнообразием источников высвобождения жирных кислот в процессе посмертной деградации тканей. Таким образом, высокая

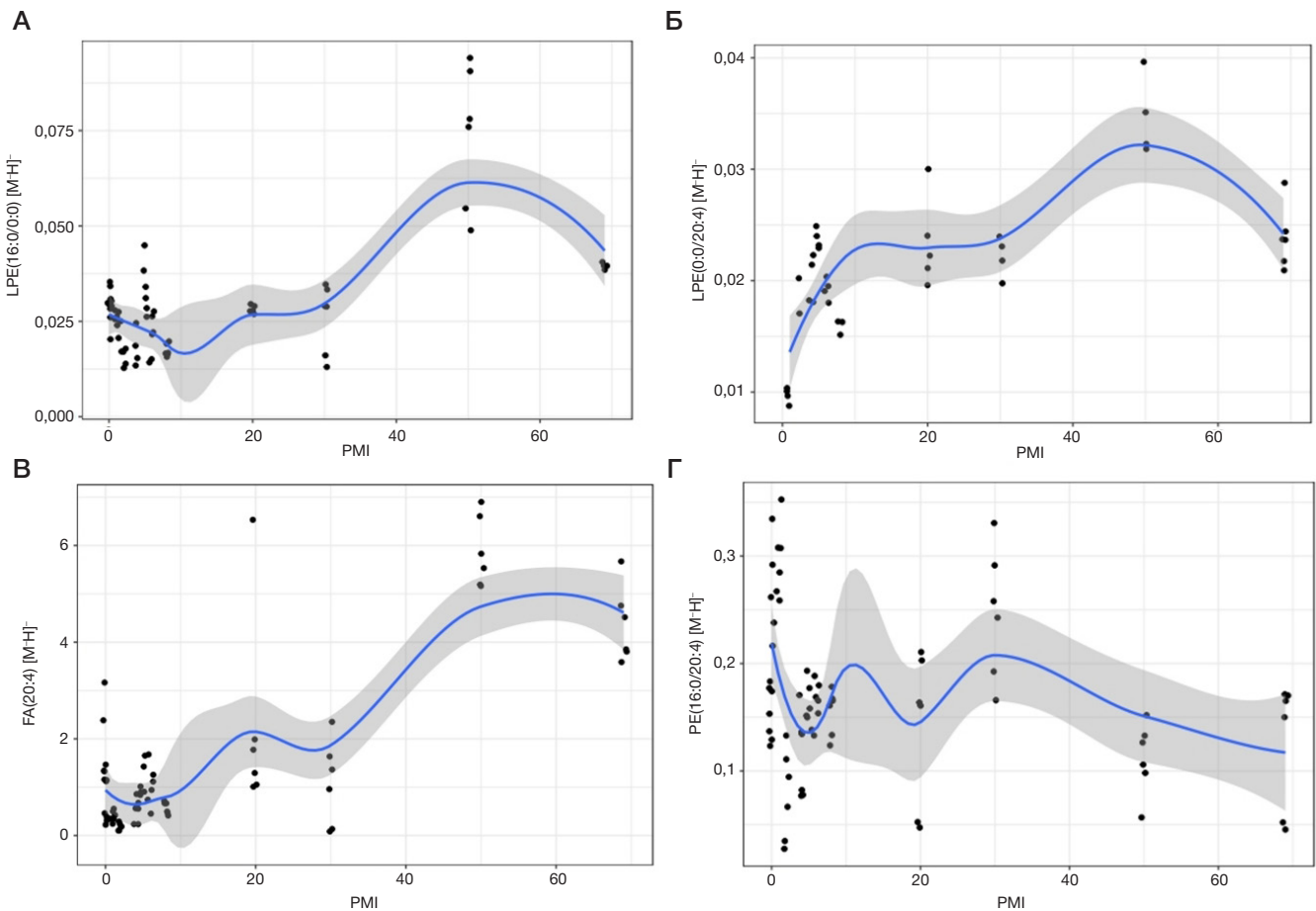


Рис. 3. График зависимости от ПИ относительных интенсивностей PE 16 : 0 / 20 : 4 и продуктов его разложения в образцах печени, группа 2 (хранение тела при +22 °C первые 4 ч, затем при +4 °C). **А.** LPE 16 : 0, $p < 0,0001$. **Б.** LPE 20 : 4, $p = 0,0001$. **В.** FA 20 : 4, $p < 0,0001$. **Г.** PE 16 : 0 / 20 : 4, $p = 0,08$. Синей линией показана аппроксимация по алгоритму LOESS (locally estimated scatterplot smoothing), серый — 95%-й доверительный интервал. Одна точка соответствует одному техническому повтору

активность фосфолипаз в тканях печени, по сравнению с тканями головного мозга, приводит к выявлению ряда маркеров посмертной деградации, связанных именно с ферментативной активностью, а не спонтанной, неспецифической, деградацией липидов, при которой не происходит значимого увеличения концентраций узкого набора продуктов катаболизма липидов.

Исследование процессов посмертной деградации полярных липидов тканей здоровых животных показало, что и лизофосфолипиды, и свободные жирные кислоты не могут, в общем случае, быть использованы как молекулярные маркеры для построения диагностических моделей на базе коллекций аутопсийного материала. Значимое изменение содержания лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в процессе посмертной деградации тканей будет препятствовать построению достоверных диагностических моделей, а немонотонность этих изменений существенно затрудняет корректировку данных даже с учетом использования достоверной информации о степени посмертной деградации по данным о сохранности РНК [27]. В то же время фосфолипиды клеточных мембран не претерпевают статистически значимых изменений концентраций в тканях в раннем посмертном периоде, поэтому они сохраняют потенциал, как биомаркеры, подходящие для выявления с использованием не только биопсийного, но и аутопсийного материала. Таким образом, использование аутопсийного материала для анализа патологий относительно стабильных органов, таких как головной мозг, — потенциально

пригодное решение, поскольку основными маркерами, позволяющими классифицировать биопсийный материал как опухолевый или здоровый, являются именно фосфолипиды, а не лизофосфолипиды и жирные кислоты [16]. Однако для построения диагностических моделей, предназначенных для определения наличия опухолевых клеток в образцах относительно быстро деградирующих внутренних органов, таких как печень, аутопсийный материал, вероятно, ограниченно пригоден и требует контроля ПИ.

Ограничения исследования

Следует отметить, что использование тканей печени грызунов, динамика метаболизма липидов в гепатоцитах которых отличается от таковой для человека, не позволяет в данный момент делать вывод о максимальной величине посмертного интервала для аутопсийных образцов человека, пригодных для исследования липидного профиля тканей печени.

Выводы

Для липидных профилей головного мозга показан рост представленности лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в профиле с увеличением посмертного интервала, в то же время такой зависимости не обнаружено для большинства глицерофосфолипидов. Это позволяет предположить возможность использования аутопсийного

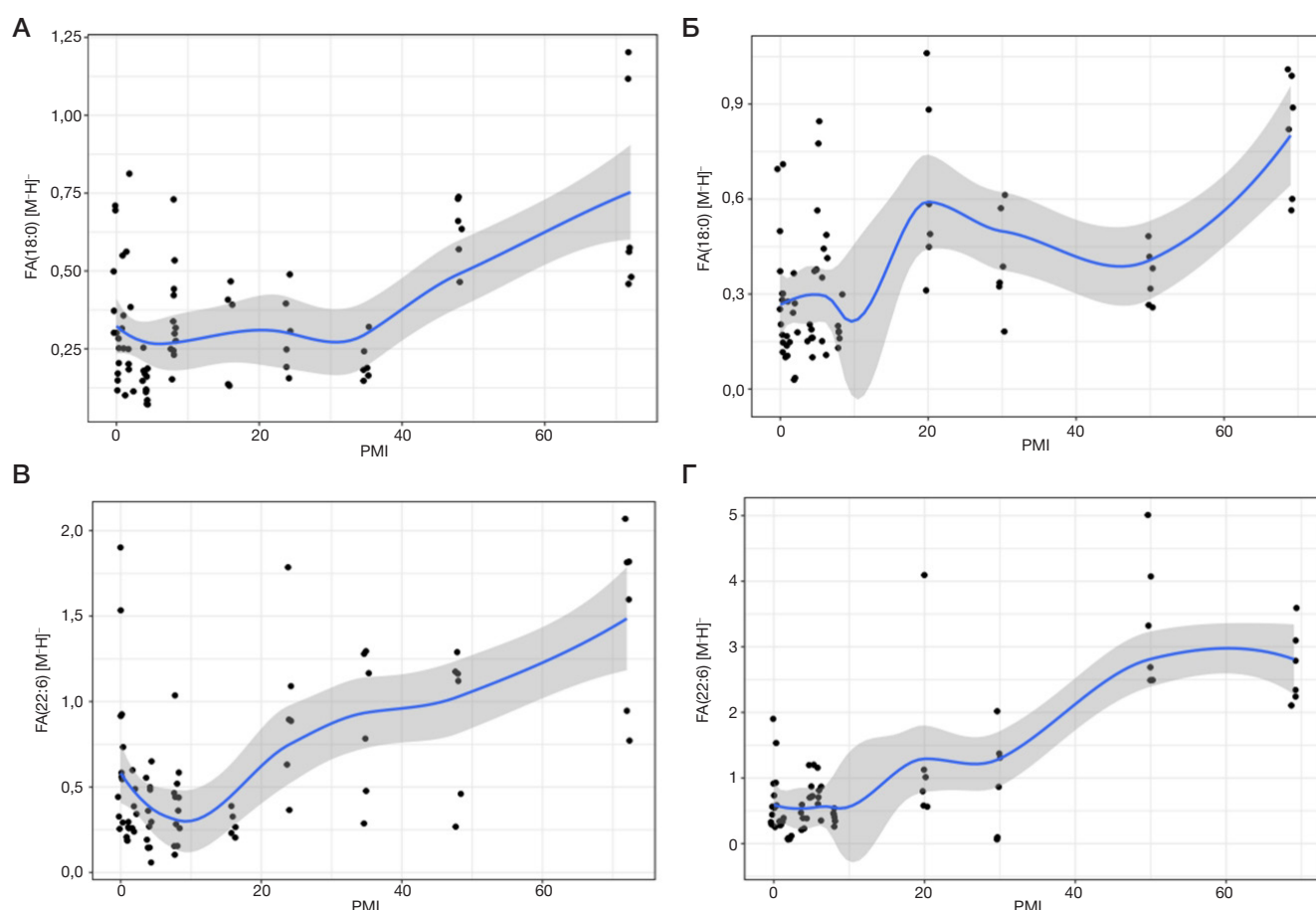


Рис. 4. Графики зависимости от ПИ относительных интенсивностей жирных кислот в образцах печени. **А.** FA 18 : 0, группа 1, $p < 0,0001$. **Б.** FA 18 : 0, группа 2, $p < 0,0001$. **В.** FA 22 : 6, группа 1, $p < 0,0001$. **Г.** FA 22 : 6, группа 2, $p < 0,0001$. Синей линией показана аппроксимация по алгоритму LOESS (locally estimated scatterplot smoothing), серый — 95%-й доверительный интервал. Одна точка соответствует одному техническому повтору

материала мозга с посмертным интервалом вплоть до 72 ч для исследования молекулярных механизмов развития патологического процесса или построения диагностических моделей в онкологии на основе панели фосфолипидов. Для ткани печени, несмотря на морфологическую сохранность, на молекулярном уровне была показана низкая стабильность: начиная

с 3–8 ч появляются значительные изменения в липидных профилях. Это делает аутопсийный материал печени менее пригодным для молекулярно-биологических исследований патогенеза, однако оставляет возможность выявлять маркеры деградации, например, для улучшенной оценки развития повреждения органа при трансплантации от посмертного донора.

Литература

1. Pekov SI, Bormotov DS, Bocharova SI, Sorokin AA, Derkach MM, Popov IA. Mass spectrometry for neurosurgery: Intraoperative support in decision-making. *Mass Spectrom Rev.* 2025; 44 (1): 62–73.
2. Cakmakci D, Karakaslar EO, Ruhland E, Chenard MP, Proust F, Piotto M, et al. Machine learning assisted intraoperative assessment of brain tumor margins using HRMAS NMR spectroscopy. *PLoS Comput Biol.* 2020; 16 (11): e1008184.
3. Muthu M, Nordström A. Current Status and Future Prospects of Clinically Exploiting Cancer-specific Metabolism — Why Is Tumor Metabolism Not More Extensively Translated into Clinical Targets and Biomarkers? *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (6): 1385.
4. McCullumsmith RE, Meador-Woodruff JH. Novel Approaches to the Study of Postmortem Brain in Psychiatric Illness: Old Limitations and New Challenges. *Biol Psychiatry.* 2011; 69 (2): 127–33.
5. Iacobuzio-Donahue CA, Michael C, Baez P, Kappagantula R, Hooper JE, Hollman TJ. Cancer biology as revealed by the research autopsy. *Nat Rev Cancer.* 2019; 19 (12): 686–97.
6. Olney KC, Gibson KA, Cadiz MP, Rahimzadeh N, Swarup V, Fryer JD. Postmortem Interval Leads to Loss of Disease-Specific Signatures in Brain Tissue. *eNeuro.* 2025; 12 (3): ENEURO.0505-24.2025.
7. Carithers LJ, Ardlie K, Barcus M, Branton PA, Britton A, Buia SA, et al. A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project. *Biopreserv Biobank.* 2015; 13 (5): 311–9.
8. Pozhitkov AE, Noble PA. Gene expression in the twilight of death. *BioEssays.* 2017; 39 (9): 1700066.
9. Zhu Y, Wang L, Yin Y, Yang E. Systematic analysis of gene expression patterns associated with postmortem interval in human tissues. *Sci Rep.* 2017; 7 (1): 5435.
10. Pozhitkov AE, Neme R, Domazet-Lošo T, Leroux BG, Soni S, Tautz D et al. Tracing the dynamics of gene transcripts after organismal death. *Open Biol.* 2017; 39 (9): e160267.
11. Buyko EE, Perina EA, Sobakin DS, Tsyganov MM, Vasilchenko DV, Vtorushin SV, et al. Dynamics of Postmortem Gene Expression in Normal and Neoplastic Murine Liver. *Life.* 2026; 16 (4): 683.
12. Parker GJ, McKiernan HE, Legg KM, Goecker ZC. Forensic proteomics.

- Forensic Sci Int Genet. 2021; 54: 102529.
13. Zelentsova EA, Yanshole LV, Melnikov AD, Kudryavtsev IS, Novoselov VP, Tsentalovich YP. Post-mortem changes in metabolomic profiles of human serum, aqueous humor and vitreous humor. *Metabolomics*. 2020; 16 (7): 80.
 14. Wei J, Wong LC, Boland S. Lipids as Emerging Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2023; 25 (1): 131.
 15. Paul B, Lewinska M, Andersen JB. Lipid alterations in chronic liver disease and liver cancer. *JHEP Rep*. 2022; 24 (6): e100479.
 16. Pekov SI, Sorokin AA, Kuzin AA, Bocharov KV, Bormotov DS, Shivalin AS et al. Analysis of phosphatidylcholines alterations in human glioblastomas ex vivo. *Biochem Mosc Suppl B Biomed Chem*. 2021; 15 (3): 241–7.
 17. Bonicelli A, Mickleburgh HL, Chighine A, Locci E, Wescott DJ, Procopio N. The 'ForensOMICS' approach for postmortem interval estimation from human bone by integrating metabolomics, lipidomics, and proteomics. *Elife*. 2022; 30 (11): e83658.
 18. Nolan AN, Mead RJ, Maker G, Speers SJ. A review of the biochemical products produced during mammalian decomposition with the purpose of determining the post-mortem interval. *Aust J Forensic Sci*. 2019; 52 (4): 477–88.
 19. Caballero-Moreno L, Luna A, Legaz I. Lipidomes in Cadaveric Decomposition and Determination of the Postmortem Interval: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2014; 25 (2): 984.
 20. Zavolskova M, Senko D, Bukato O, Troshin S, Stekolshchikova E, Kachanovski M, et al. Postmortem Stability Analysis of Lipids and Polar Metabolites in Human, Rat, and Mouse Brains. *Biomolecules*. 2025; 15 (9): e1288.
 21. Pekov SI, Zhvansky ES, Elifirov VA, Sorokin AA, Ivanov DG, Nikolaev EN, et al. Determination of Brain Tissue Samples Storage Conditions for Reproducible Intraoperative Lipid Profiling. *Molecules*. 2022; 27 (8): 2587.
 22. Bormotov DS, Elifirov VA, Peregodova OV, Zavorotnyuk DS, Bocharov KV, Pekov SI et al. Incorporation of a Disposable ESI Emitter into Inline Cartridge Extraction Mass Spectrometry Improves Throughput and Spectra Stability. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2023; 34 (1): 119–22.
 23. Surma MA, Gerl MJ, Herzog R, Helppi J, Simons K, Klose C. Mouse lipidomics reveals inherent flexibility of a mammalian lipidome. *Sci Rep*. 2021; 11 (1): 19364.
 24. Buyko EE, Perina EA, Vasilchenko DV, Tsydenova IA, Khmelevskaya ES, Ufandeev AA, et al. Dynamic changes in RNA integrity, gene expression, and tissue pathomorphology of experimental mice in the postmortem period. *Bull Sib Med*. 2024; 23 (4): 5–14.
 25. Khan SA, Ilies MA. The Phospholipase A2 Superfamily: Structure, Isozymes, Catalysis, Physiologic and Pathologic Roles. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (2): 1353.
 26. Richmond GS, Smith TK. Phospholipases A1. *Int J Mol Sci*. 2011; 12 (1): 588–612.
 27. Ferreira PG, Muñoz-Aguirre M, Reverter F, Sá Godinho CP, Sousa A, Amadoz A, et al. The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcriptomes. *Nat Commun*. 2018; 9 (1): 490.

References

1. Pekov SI, Bormotov DS, Bocharova SI, Sorokin AA, Derkach MM, Popov IA. Mass spectrometry for neurosurgery: Intraoperative support in decision-making. *Mass Spectrom Rev*. 2025; 44 (1): 62–73.
2. Cakmakci D, Karakaslar EO, Ruhland E, Chenard MP, Proust F, Piotto M, et al. Machine learning assisted intraoperative assessment of brain tumor margins using HRMAS NMR spectroscopy. *PLoS Comput Biol*. 2020; 16 (11): e1008184.
3. Muthu M, Nordström A. Current Status and Future Prospects of Clinically Exploiting Cancer-specific Metabolism — Why Is Tumor Metabolism Not More Extensively Translated into Clinical Targets and Biomarkers? *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (6): 1385.
4. McCullumsmith RE, Meador-Woodruff JH. Novel Approaches to the Study of Postmortem Brain in Psychiatric Illness: Old Limitations and New Challenges. *Biol Psychiatry*. 2011; 69 (2): 127–33.
5. Iacobuzio-Donahue CA, Michael C, Baez P, Kappagantula R, Hooper JE, Hollman TJ. Cancer biology as revealed by the research autopsy. *Nat Rev Cancer*. 2019; 19 (12): 686–97.
6. Olney KC, Gibson KA, Cadiz MP, Rahimzadeh N, Swarup V, Fryer JD. Postmortem Interval Leads to Loss of Disease-Specific Signatures in Brain Tissue. *eNeuro*. 2025; 12 (3): ENEURO.0505-24.2025.
7. Carithers LJ, Ardlie K, Barcus M, Branton PA, Britton A, Buia SA, et al. A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project. *Biopreserv Biobank*. 2015; 13 (5): 311–9.
8. Pozhitkov AE, Noble PA. Gene expression in the twilight of death. *BioEssays*. 2017; 39 (9): 1700066.
9. Zhu Y, Wang L, Yin Y, Yang E. Systematic analysis of gene expression patterns associated with postmortem interval in human tissues. *Sci Rep*. 2017; 7 (1): 5435.
10. Pozhitkov AE, Neme R, Domazet-Lošo T, Leroux BG, Soni S, Tautz D et al. Tracing the dynamics of gene transcripts after organismal death. *Open Biol*. 2017; 39 (9): e160267.
11. Buyko EE, Perina EA, Sobakin DS, Tsyganov MM, Vasilchenko DV, Vtorushin SV, et al. Dynamics of Postmortem Gene Expression in Normal and Neoplastic Murine Liver. *Life*. 2026; 16 (4): 683.
12. Parker GJ, McKiernan HE, Legg KM, Goecker ZC. Forensic proteomics. *Forensic Sci Int Genet*. 2021; 54: 102529.
13. Zelentsova EA, Yanshole LV, Melnikov AD, Kudryavtsev IS, Novoselov VP, Tsentalovich YP. Post-mortem changes in metabolomic profiles of human serum, aqueous humor and vitreous humor. *Metabolomics*. 2020; 16 (7): 80.
14. Wei J, Wong LC, Boland S. Lipids as Emerging Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2023; 25 (1): 131.
15. Paul B, Lewinska M, Andersen JB. Lipid alterations in chronic liver disease and liver cancer. *JHEP Rep*. 2022; 24 (6): e100479.
16. Pekov SI, Sorokin AA, Kuzin AA, Bocharov KV, Bormotov DS, Shivalin AS et al. Analysis of phosphatidylcholines alterations in human glioblastomas ex vivo. *Biochem Mosc Suppl B Biomed Chem*. 2021; 15 (3): 241–7.
17. Bonicelli A, Mickleburgh HL, Chighine A, Locci E, Wescott DJ, Procopio N. The 'ForensOMICS' approach for postmortem interval estimation from human bone by integrating metabolomics, lipidomics, and proteomics. *Elife*. 2022; 30 (11): e83658.
18. Nolan AN, Mead RJ, Maker G, Speers SJ. A review of the biochemical products produced during mammalian decomposition with the purpose of determining the post-mortem interval. *Aust J Forensic Sci*. 2019; 52 (4): 477–88.
19. Caballero-Moreno L, Luna A, Legaz I. Lipidomes in Cadaveric Decomposition and Determination of the Postmortem Interval: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2014; 25 (2): 984.
20. Zavolskova M, Senko D, Bukato O, Troshin S, Stekolshchikova E, Kachanovski M, et al. Postmortem Stability Analysis of Lipids and Polar Metabolites in Human, Rat, and Mouse Brains. *Biomolecules*. 2025; 15 (9): e1288.
21. Pekov SI, Zhvansky ES, Elifirov VA, Sorokin AA, Ivanov DG, Nikolaev EN, et al. Determination of Brain Tissue Samples Storage Conditions for Reproducible Intraoperative Lipid Profiling. *Molecules*. 2022; 27 (8): 2587.
22. Bormotov DS, Elifirov VA, Peregodova OV, Zavorotnyuk DS, Bocharov KV, Pekov SI et al. Incorporation of a Disposable ESI Emitter into Inline Cartridge Extraction Mass Spectrometry Improves Throughput and Spectra Stability. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2023; 34 (1): 119–22.
23. Surma MA, Gerl MJ, Herzog R, Helppi J, Simons K, Klose C. Mouse lipidomics reveals inherent flexibility of a mammalian lipidome. *Sci Rep*. 2021; 11 (1): 19364.
24. Buyko EE, Perina EA, Vasilchenko DV, Tsydenova IA, Khmelevskaya ES, Ufandeev AA, et al. Dynamic changes in RNA integrity, gene expression, and tissue pathomorphology of experimental mice in the postmortem period. *Bull Sib Med*. 2024; 23 (4): 5–14.
25. Khan SA, Ilies MA. The Phospholipase A2 Superfamily: Structure, Isozymes, Catalysis, Physiologic and Pathologic Roles. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (2): 1353.
26. Richmond GS, Smith TK. Phospholipases A1. *Int J Mol Sci*. 2011; 12 (1): 588–612.
27. Ferreira PG, Muñoz-Aguirre M, Reverter F, Sá Godinho CP, Sousa A, Amadoz A, et al. The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcriptomes. *Nat Commun*. 2018; 9 (1): 490.