

© Біляков А. М.

УДК 40.6:612.4.09:577.17.05:616-001.3

**Біляков А. М.**

## **АЛГОРИТМ ДІАГНОСТИКИ ТРАВМАТИЧНОГО ҐЕНЕЗУ СМЕРТІ ЗА ВМІСТОМ ГІСТАМІНУ ТА СЕРОТОНІНУ В РІДИНАХ ТІЛА В РАЗІ СМЕРТЕЛЬНОЇ ДІЇ ТРАВМАТИЧНОГО ФАКТОРУ**

**Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця (м. Київ)**

**venik316@mail.ru**

Робота є фрагментом НДР «Судово-медичне обґрунтування тривалості перебігу смертельної механічної травми за метаболічними змінами в організмі в ранній термін антемортального періоду», № державної реєстрації 0112U008603.

**Вступ.** В судово-медичній практиці встановлення ґенезу смерті людини в випадках смертельного травмування є основним завданням для судово-медичного експерта [4]. Особливу складність становлять випадки раптової ненасильницької смерті, що співпадають з послідуємим посмертним травмуванням. Наприклад, це може статися з водієм транспортного засобу, який перебуваючи за кермом раптово помер та потрапив в дорожньо-транспортну пригоду, спричинивши пошкодження не лише власного тіла, а й травмував інших учасників руху. В такому разі міра кримінальної відповідальності буде прямо залежати від діагностики ґенезу його смерті.

При визначенні травматичного ґенезу смерті експерт базується перш за все на морфологічних змінах в органах, особливо, в тих, що являються маркерами шоківих станів. Однак, достовірна діагностика шоку можлива лише в випадках, коли травмована особа прожила певний час після травмування. Якщо ж тривалість її життя була мінімальною, то морфологічні зміни в шоківих органах будуть відсутні. Відомо, що дослідники за результатами гістологічних досліджень у смертельно травмованих осіб, в тому числі померлих безпосередньо після травми, виявляли різний ступінь реакції ендокринних залоз на дію травматичного фактору [5]. Це дозволяє розглядати ендокринні залози та продукти їх синтезу як об'єкти для можливості встановлення травматичного ґенезу смерті.

Після дії травматичного фактору в людини задля збереження показників гемостазу активуються захисні механізми. Провідна роль в цьому належить гіпоталамус-гіпофіз-наднирниковій системі (ГГНС) [3]. Функціонування ГГНС тісно пов'язане з синтезом безлічі біологічно-активних речовин, серед

яких особливої уваги заслуговують гістамін та серотонін. Гістамін впливає на секрецію адренокортикотропного гормону, а за принципом зворотного зв'язку його синтез залежить від гормонів гіпофізу та наднирників [2]. Серотонін, як нейромедіатор центральної нервової системи, що приймає участь в регуляції гладкої мускулатури серцево-судинної та травної системи, також приймає участь в перебігу стрес-реакції [7], а його рівень в лікворі та перикардальній рідині змінюється в залежності від причини смерті [6].

Нами вже було встановлено, що кількісний вміст гістаміну та серотоніну в лікворі та перикардальній рідині змінюється в залежності від тривалості перебігу антемортального періоду [1]. Виявлена закономірність потребує вивчення відносно можливості встановлення травматичного ґенезу смерті з врахуванням тривалості вмирання людини після смертельного травмування.

**Метою даного дослідження** було визначити алгоритм діагностики травматичного ґенезу смерті за вмістом гістаміну та серотоніну в лікворі та перикардальній рідині в разі смертельної дії травматичного фактору.

### **Об'єкт і методи дослідження**

Об'єктом дослідження стали ліквор, який вилучали під час проведення судово-медичного розтину шляхом субокципітальної пункції та перикардальна рідина, яку відбирали на етапі вилучення органо-комплексу після розсічення перикардальної оболонки. Вилучені рідини комбінували на групи в залежності від тривалості перебігу травми: померлі безпосередньо після травми – 10 осіб, за короткий проміжок часу – 10 осіб, через 1-2 години – 10 осіб. Групою контролю були особи, смерть яких настала від ішемічної хвороби серця – 20 осіб (раптова смерть).

Оптимальним є спосіб паралельного визначення гістаміну та серотоніну в пробах. Для цього в центрифужні пробірки вносили по 2 мл безбілкового екстракту з наступним центрифугуванням 5 хвилин

при 3000 об/хв. Потім добавляли 0,2 мл 7% розчину аскорбінової кислоти та 5 N розчином гідроксиду натрію доводили до pH 7-9 під контролем pH-метру. Після цього в проби вносили 0,5 мл 0,5 М боратного буферу pH 10,0, 1,2 г сухого кристалічного хлористого натрію та 6 мл бутано-хлороформної суміші (3:2). Пробірки струшували та центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. 5 мл органічної фази переносили в окремі центрифужні пробірки, а залишок повторно екстрагували з додаванням 0,25 мл 5 N гідроксиду натрію та 5 мл бутанол-хлороформної суміші, струшували та центрифугували. Обидві органічні фази об'єднували, додавали 4,5 мл 0,1 М фосфатного буферу pH 7,0 з наступним струшуванням та центрифугуванням. В 4 хімічні пробірки переносили по 1 мл водної фази та проводили їх диференційоване визначення.

Для визначення гістаміну в одну із пробірок послідовно додавали 0,4 мл 1 N гідроксиду натрію (контроль pH: 12,4-12,7) 0,1 мл 0,1% ортофталевого альдегіду в метанолі та через 4 хв 0,2 мл 1,5 М ортофосфорної кислоти (контроль pH: 2,5). В контролі в другій пробірці розчини ортофталевого альдегіду та ортофосфорної кислоти вносили в зворотній послідовності.

Для визначення серотоніну в інші 2 хімічні пробірки вносили 0,1 мл 0,1 М розчину нінгідрину (контроль pH: 7,0), витримували 10 хв на киплячій водяній бані та 1 годину без неї. Об'єми всіх розчинів доводили водою до 5 мл.

В якості стандарту використовували по 0,5 мкг гістаміну та серотоніну в одній пробірці з 0,5 N розчином хлорної кислоти, а контролем реактивів слугував 2 мл 0,5 N розчин хлорної кислоти, що були проведені через всі етапи визначення.

Кількісний вміст гістаміну та серотоніну визначали у нмоль/мл відносно стандартів з використанням флуорометра при довжині хвилі збудження флюоресценції 365 нм і максимумі індукованої флюоресценції 470 нм для гістаміну та 490 для серотоніну. Перерахунок кількісного вмісту проводили за формулою:

$$A = (C \times \Phi \times P \times 1000 \times 1000) / (\Phi_{\text{ст}} \times M_{\text{в}} \times V \times 2),$$

де A – кількість біогенного аміну в нмоль/мл; C – концентрація стандарту;  $\Phi$  – флюоресценція зразку; P – розведення проби; 1000 – коефіцієнт пе-

рерахунку мкмоль в нмоль; 1000 – коефіцієнт перерахунку на 1 мл зразку;  $\Phi$  ст. – флюоресценція стандарту;  $M_{\text{в}}$  – молекулярна вага біогенного аміну (гістаміну – 111, серотоніну – 176); V – вага проби в мг; 2 – кількість мл безбілкового екстракту.

Результати досліджень обробляли статистично за Стьюдентом. Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез у даному дослідженні приймали рівним 0.05.

Таким чином, загалом було проведено 200 досліджень, з яких 120 для визначення вмісту гістаміну та серотоніну при насильницькій смерті та 80 у померлих від ішемічної хвороби серця.

## Результати дослідження та їх обговорення

Як було вивчено раніше, вміст гістаміну та серотоніну в лікворі та перикардіальній рідині при насильницькій смерті відрізняється не лише в залежності від ґенезу (травматичний, нетравматичний), а й від тривалості вмирання. А саме, вміст гістаміну в лікворі статистично достовірно вищий у тих, хто помер через десятки хвилин ( $p < 0,01$ ) та через 1-2 години після травмування ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою порівняння і не відрізняється у тих, хто помер відразу після травмування ( $p > 0,05$ ). Аналогічна тенденція характерна і для вмісту серотоніну в лікворі, кількісний вміст якого статистично достовірно вищий ( $p < 0,001$ ) у померлих через короткий проміжок часу та через 1-2 години після травмування.

Кількісний вміст гістаміну та серотоніну в перикардіальній рідині також статистично достовірно вищий у тих, хто помер через десятки хвилин та через 1-2 години після травмування ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою порівняння і не відрізняється у тих, хто помер відразу після травмування ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, наявність діагностично значущого підвищення рівня кількісного вмісту гістаміну та серотоніну в лікворі та перикардіальній рідині у померлих внаслідок смертельної дії травматичних факторів дозволяє розробити алгоритм встановлення травматичного ґенезу смерті на підставі визначення діагностично значущих меж. Дані меж визначалися шляхом встановлення двохсигмального відхилення від середнього значення кількісного вмісту ( $M \pm 2\sigma$ ) та їх співставлення в випадках ненасильницької та насильницької смерті з тривалістю вмирання десятки хвилин та 1-2 години після травмування, що представлено в таблиці 1.

Таблиця 1.

## Двохсигмальне відхилення від середнього значення кількісного вмісту гістаміну та серотоніну в лікворі та перикардіальній рідині

№	Тривалість вмирання	Гістамін ліквор $M \pm 2\sigma$ (мкг/мл)	Серотонін ліквор $M \pm 2\sigma$ (мкг/мл)	Гістамін перикардіальна рідина $M \pm 2\sigma$ (мкг/мл)	Серотонін перикардіальна рідина $M \pm 2\sigma$ (мкг/мл)
1	Раптова смерть	0,013 – 0,051	0,021 – 0,05	0,018 – 0,054	0,025 – 0,057
2	Короткий проміжок часу після травми	0,017 – 0,087	0,035 – 0,08	0,03 – 0,081	0,034 – 0,1
3	1-2 години після травми	0,026 – 0,09	0,04 – 0,084	0,04 – 0,093	0,043 – 0,1

Примітка: M – середнє значення кількісного вмісту речовини;  $\sigma$  – сігма.

Визначення діагностично значущих меж вмісту гістаміну та серотоніну в рідинах, що відповідають травматичному ґенезу смерті, представлено в **таблиці 2**.

#### Висновки

Аналіз результатів дослідження показав, що у осіб, які не померли відразу після травмування, в лікворі та перикардальній рідині змінюється кількісний вміст біогенних амінів, який при виявленні в межах 0,051 – 0,09 мкг/мл гістаміну в лікворі, 0,054 – 0,093 мкг/мл гістаміну в перикардальній рідині, 0,05 – 0,084 мкг/мл серотоніну в лікворі та 0,057 – 0,1 мкг/мл серотоніну в перикардальній рідині вказує на травматичний ґенез смерті.

Таким чином, алгоритм діагностики полягає в можливості визначати травматичний ґенез смерті в тому разі, коли смерть не настала відразу після травмування на підставі визначення кількісного вмісту як одного з біогенних амінів (гістаміну, серотоніну) в лікворі чи перикардальній рідині, так і декількох, які мають перебувати в діапазоні діагностично значущих меж.

#### Література

1. Біляков А. М. Особливості зміни балансу біогенних амінів в рідинах тіла людини під час перебігу смертельної механічної травми / А. М. Біляков. – Суд.-мед. експертиза, Київ. – 2013. – № 2. – С. 33-35.
2. Вайсфельд И. Л. Гистамин в биохимии и физиологии / И. Л. Вайсфельд, Г. Н. Кассиль. – Москва, 1981. – 277 с.
3. Виноградов В. В. Гормоны, адаптация и системные реакции организма / В. В. Виноградов. – Минск, 1989. – 224 с.
4. Соседко Ю. И. Судебно-медицинская диагностика давности повреждений при тяжелой тупой травме / Ю. И. Соседко. – Суд.-мед. эксп. – 1984. – № 2. – С. 15-18.
5. Яковцева А. Ф. Динамика участия гипофиза, эпифиза и надпочечников в организации стресс-реакции при смертельной травме / А. Ф. Яковцева, Г. И. Губина-Вакулик, В. Д. Марковский // Патология. – 2005. – Т. 2. – № 3. – С. 35.
6. Musshoff F. Postmortem serotonin (5-HT) concentrations in the cerebrospinal fluid of medicolegal cases / F. Musshoff, T. Menting, B. Madea // Forensic Sci Int. 2004 Jun 10; 142(2-3). – P. 211-219.
7. Quan L. Postmortem serotonin levels in cerebrospinal and pericardial fluids with regard to the cause of death in medicolegal autopsy / L. Quan, T. Ishikawa, J. Hara, T. Michiue, JH. Chen, Q. Wang, BL. Zhu, H. Maeda // Leg Med (Tokyo). – 2011. Mar; 13(2). – P. 75-78.

УДК 40.6:612.4.09:577.17.05:616-001.3

#### АЛГОРИТМ ДІАГНОСТИКИ ТРАВМАТИЧНОГО ҐЕНЕЗУ СМЕРТІ ЗА ВМІСТОМ ГІСТАМІНУ ТА СЕРОТОНІНУ В РІДИНАХ ТІЛА В РАЗІ СМЕРТЕЛЬНОЇ ДІЇ ТРАВМАТИЧНОГО ФАКТОРУ

Біляков А. М.

**Резюме.** Метою дослідження стало визначення алгоритму діагностики травматичного ґенезу смерті за вмістом гістаміну та серотоніну в лікворі та перикардальній рідині в разі смертельної дії травматичного фактору.

Результати дослідження показали, що у осіб, смерть яких настала через десятки хвилин та 1-2 години після травмування в лікворі та перикардальній рідині змінюється кількісний вміст біогенних амінів, який при виявленні в межах 0,051 – 0,09 мкг/мл гістаміну в лікворі, 0,054 – 0,093 мкг/мл гістаміну в перикардальній рідині, 0,05 – 0,084 мкг/мл серотоніну в лікворі та 0,057 – 0,1 мкг/мл серотоніну в перикардальній рідині вказує на травматичний ґенез смерті.

Таким чином, алгоритм діагностики полягає в можливості визначати травматичний ґенез смерті в тому разі, коли смерть не настала відразу після травмування на підставі визначення кількісного вмісту як одного з біогенних амінів в лікворі чи перикардальній рідині, так і декількох, які мають перебувати в діапазоні діагностично значущих меж.

**Ключові слова:** гістамін, серотонін, ліквор, перикардальна рідина, травматичний ґенез смерті.

УДК 340.6:616.839:577.175.522:616-001-036.08

#### АЛГОРИТМ ДІАГНОСТИКИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА СМЕРТИ НА ОСНОВАНИИ СОДЕРЖАНИЯ ГИСТАМИНА И СЕРОТОНИНА В ЖИДКОСТЯХ ТЕЛА В СЛУЧАЕ СМЕРТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ФАКТОРА

Біляков А. Н.

**Резюме.** Целью исследования стало определение алгоритма диагностики травматического генеза смерти по содержанию гистамина и серотонина в жидкостях тела в случае смертельного действия травматического фактора.

Таблиця 2.

#### Діагностично значущі межі кількісного вмісту гістаміну та серотоніну в лікворі та перикардальній рідині для встановлення травматичного ґенезу смерті

№	Речовина/рідина	Діагностично значуща межа (мкг/мл)
1	Гістамін ліквор	0,051 – 0,09
2	Гістамін перикардальна рідина	0,054 – 0,093
3	Серотонін ліквор	0,05 – 0,084
4	Серотонін перикардальна рідина	0,057 – 0,1

**Перспективи подальших досліджень.** Можливість визначати травматичний ґенез смерті у осіб, смерть яких настала через десятки хвилин та години після травмування потребує виявлення інших біологічно активних речовин, які б дозволяли встановлювати смерть у осіб, які померли відразу після травмування.

Результаты исследования показали, что у лиц, смерть которых наступила через десятки минут и 1-2 часа после травмирования в ликворе и перикардиальной жидкости изменяется количественное содержание биогенных аминов, которое при выявлении в пределах 0,051 – 0,09 мкг/мл гистамина в ликворе, 0,054 – 0,093 мкг/мл гистамина в перикардиальной жидкости, 0,05 – 0,084 мкг/мл серотонина в ликворе и 0,057 – 0,1 мкг/мл серотонина в перикардиальной жидкости указывает на травматический генез смерти.

Таким образом, алгоритм диагностики заключается в возможности устанавливать травматический генез смерти в том случае, когда смерть не наступила сразу после травмирования на основании определения количественного содержания как одного из биогенных аминов в ликворе или перикардиальной жидкости, так и нескольких, которые должны пребывать в диапазоне диагностически значимых значений.

**Ключевые слова:** гистамин, серотонин, ликвор, перикардиальная жидкость, травматический генез смерти.

**UDC:** 340.6:612.4.09:577.17.05:616-001.3

### **Algorithm diagnosis of Traumatic Death Genesis Based on the Content of Histamine and Serotonin in body fluids upon Lethal Effect of a Traumatic Factor**

**Biliakov A. M.**

**Abstract.** Establishment of death genesis of a person in the cases of fatal injury is main objective for forensic expert in forensic practice. Diagnosis of traumatic death genesis is based on the morphological changes in the organs that serve as the markers of the states of shock. It is possible on condition that the injured person lived for a significant period of time after the injury. We know that in fatally injured persons showed different degrees of reaction endocrine glands to the traumatic factor by the results of histological studies was found. This can be used to determine the traumatic genesis of death. Special attention should histamine and serotonin among them. We have found that their quantitative content in cerebrospinal fluid and pericardial fluid changes depending on the duration of ante mortem period. The regularity established requires further research concerning the possibility to determine the traumatic genesis of death taking into account the duration of dying after a lethal injury.

The objective of this research consisted in finding out the algorithm diagnosis of traumatic death genesis based on the content of histamine and serotonin in body fluids upon lethal effect of a traumatic factor.

The subject of the research was cerebrospinal fluid of corpses taken during forensic autopsy by means of a suboccipital puncture and pericardial fluid that selected during extraction organocomplexes after cutting of the pericardial membrane. The fluids was divided into several groups according to the duration of an injury: those who had died immediately after the injury – 10 persons, within a short period of time thereafter – 10 persons, 1 to 20 hours later – 10 persons. The control group included the persons whose death was caused by ischemic heart disease – 20 persons (sudden death).

Using fluorometric method and fixing the result with the help of a fluorimeter the quantitative content of histamine and serotonin as well as their relation to the standards were measured in the samples. In general, 200 tests were carried out, of which 120 were intended to measure the content of histamine and serotonin in case of violent death and 80 tests were in the persons who had died because of ischemic heart disease.

The research results showed that in comparison with the group of those who had died suddenly the quantitative content of histamine and serotonin in cerebrospinal fluid and pericardial fluid of the lethally injured persons differed statistically from those who died within tens of minutes ( $p < 0.01$ ) and 1-2 hours later ( $p < 0.001$ ) for histamine and similar for serotonin in the same intervals ( $p < 0.001$ ). In those who had died immediately after the injury the quantitative content of these substances was not different ( $p > 0.05$ ). This allows defining the diagnostic parameters to determine the traumatic genesis of death in the persons that lived for some time after being injured (tens of minutes) and for several hours. For this purpose it is possible to calculate diagnostically significant ranges using two-sigma deviation variant from their mean value ( $M \pm 2\sigma$ ). The calculations show that the quantitative content of histamine within the range 0.051 to 0.09  $\mu\text{g/ml}$  and that of serotonin within the range 0.05 to 0.084  $\mu\text{g/ml}$  in cerebrospinal fluid and the range 0.05 to 0.084  $\mu\text{g/ml}$  and the range 0.057 to 0.1  $\mu\text{g/ml}$  prove that the death was violent.

Thus, the diagnostic algorithm is the ability to identify the traumatic genesis of death in the case when death does not come immediately after the injury on the basis of determining the quantitative content as one of the biogenic amines (histamine, serotonin) in cerebrospinal fluid or pericardial fluid, and a few that have in the range diagnostically significant limits.

**Keywords:** histamine, serotonin, cerebrospinal fluid, pericardial fluid, traumatic genesis of death.

*Рецензент – проф. Старченко І. І.*

*Стаття надійшла 09.11.2015 року*