УДК: 340.6:616-008.9:615.216.5-092.9.
© Кахановський Ф.М., Москаленко В.С., 2011

МОЖЛИВОСТІ ІДЕНТИФІКАЦІЇ, КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДЕЯКИХ МІОРЕЛАКСАНТІВ У БІОЛОГІЧНИХ МАТЕРІАЛАХ

Кахановський Ф.М., Москаленко В.С.

ДУ Головне бюро судово-медичної експертизи МОЗ України

Вступ. Актуальність теми діагностики смертельних отруєнь міорелаксантами в судовій медицині виникла порівняно недавно й обумовлена збільшенням частоти таких випадків у судово-медичній практиці [1, 5-9]. Міорелаксанты - речовини синтетичного походження, що вибірково блокують проведення ім-пульсів у нервово-м'язових синапсах, що приводить до зниження тонусу поперечно-смугастих м'язів аж до їхнього повного паралічу [2, 3]. Смерть при введенні курареподібних речовин обумовлена зупинкою подиху, пов'язаною із блокуванням синапсів дихальних м'язів [4]. На сьогоднішній день факт отруєння міорелаксантами в судово-медичній практиці встановлюється, тільки на підставі обставин пригод, які стають відомі через кілька років. В арсеналі судово-токсикологічних відділень відсутні методи визначення міорелаксантов у біологічних тканинах трупа. Не освітлені в літературі мікроскопічні ознаки, які виявляються у внутрішніх органах після введення в організм міорелаксантів. Незважаючи на те, що в науковій літературі представлена значна кількість досліджень, присвячених морфології тучних клітин у нормі й після дії різних фармакологічних речовин в умовах експерименту, у вивченій нами літературі відсутні відомості про реакцію тучних клітин на введення міорелаксантів, які викликають гістамінергічні реакції в організмі.

Метою нашого дослідження була розробка способів якісного й кількісного визначення міорелаксантов (ардуан, дитилін) у трупному матеріалі в ранньому постмортальному періоді в умовах експерименту.

Матеріал і методи дослідження. Матеріалом для дійсного дослідження послужили безпородні білі щури у віці 3 місяців, у кількості 16, які були розділені на 3 експериментальні групи. Першу групу склали тварини (n=6), яким внутрішньовенно вводили 2% розчин дитиліну, другу (n=6) - внутрішньовенно вводили ардуан, у третій групі тварин (n=4) (контрольна) вводили фізіологічний розчин у хвостову вену в обсязі 0,5 мл. Після загибелі у тварин у різний термін через 2,4 й 6 годин проводили забір внутрішніх органів для токсикологічного аналізу на предмет виявлення й кількісного визначення міорелаксантов. Токсикологічний аналіз проводили методом тонкошарової хроматографії (хроматографічні пластини «Сорбфіл» із закріпленим шаром силікагелю, розміром 10×9,7 см; пластинки забарвлювали реактивом Драгендорфа). Детектування міорелаксантів проводили шляхом порівняння досліджуваних зразків із хроматограмами стандартної суміші міорелаксантів, а визначення кількісного вмісту ардуана й дитиліну проводили за допомогою денситометра ДО-1М. З метою вивчення мікроскопічних змін у внутрішніх органах (головний мозок, легені, серце, печінка, нирки, селезінка, наднирники, статеві залози, діафрагма й міжреберна мускулатура) після введення міорелаксантів було проведене виготовлення гістологічних, напівтонких зрізів по загальноприйнятих методиках.

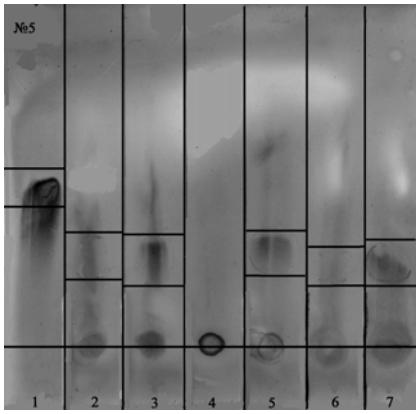

Рис.1. Хроматограма. 1 - стандарт ардуана; 2 - ардуан у нирках (рн 9,3); 3 - ардуан у нирках зі свідком (рн 9,3); 4,5 - ардуан у нирках (рн 7,8); 6 - ардуан у печінці (рн 9,3); 7- ардуан у печінці зі свідком (рн 9,3).

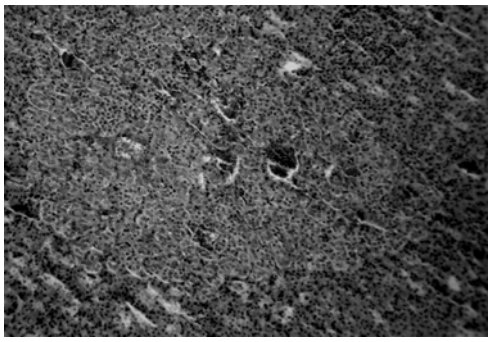

Рис.2. Гістологічний зріз наднирника щура після введення міорелаксантів. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. ×1000.

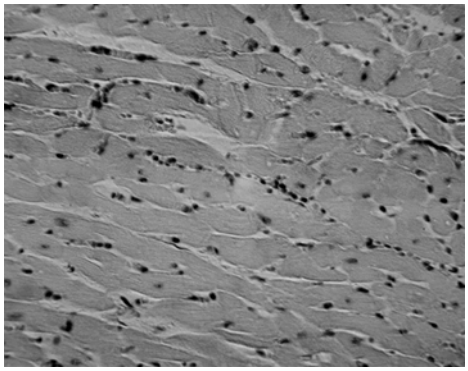

Рис.3. Напівтонкий зріз стінки серця щура після введення міорелаксантів. Забарвлення толуїдиновим синім. Зб. ×400.

Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином, напівтонкі - 2% розчином толуїдинового синього з наступним їхнім вивченням під бінокулярним мікроскопом Leica (окуляри ×40, об. ×100/1,25 імерсія) і фотографуванням цифровою камерою Olympus (№ моделі E-300).

Результати дослідження. Кожен міорелаксант у системі розчинників диметилформамід - 0,1 М

соляної кислоти (1:2) мав своє значення Rf у печінці (Rf дитилина 0,49; Rf ардуана 0,34) і нирках (Rf дитилина 0,42; Rf ардуана 0,32), що залишалося стабільним протягом вивченого постмортального періоду (рис.1). Для кількісного визначення міорелаксантів у печінці й нирках проводили вимір щільності фарбування плям на хроматограммах, а вміст речовини розраховували по різниці між щільністю плями й фоновим значенням. У результаті використання денситометра при аналізі хроматографічних пластинок було виявлено, що чутливість визначення в біологічному зразку вмісту дитиліну склала 31мкг, а для ардуана - 4 мкг.

Після введення міорелаксантов у всіх досліджуваних нами тварин при гістологічному дослідженні в мозковій речовині наднирників спостерігали множинні дрібновогнищеві крововиливи (рис.2).

Гістологічна картина інших внутрішніх органах була характерна для гострої асфіктичної смерті. У головному мозку відзначали венозне повнокров'я, дрібновогнищеві геморагії, у легенях була виражена бронхоконстрикція на рівні дрібних бронхів, набряк легень, у печінці, нирках, селезінці спостерігали гостре венозне повнокров'я.

Аналізуючи тучні клітини в стінці серця після введення міорелаксантів, було встановлено, що їхня кількість в умовах експерименту значно збільшувалась як уздовж судин, так і біля кардіомиоцитів (рис.3). Серед зрілих тучних клітин зустрічалися у великій кількості дегранульовані клітини.

Висновки. Використовуючи в комплексі гістологічні й хімічні методи дослідження, нам вдалося виявити й кількісно визначити міорелаксанти в печінці й нирках, а також виявити деякі зміни в тканинах наднирників і серці в порівнянні з контрольною групою тварин при отруєнні міорелаксантами. Результати зроблених досліджень дають можливість рекомендувати метод тонкошарової хроматографії для виявлення й кількісного визначення міорелаксантів у біологічному матеріалі.

Перспективи подальших досліджень. Питання метаболізму та розподілу міорелаксантів у біологічному матеріалі ще вимагають спеціальних досліджень.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Клевно В.А., Богомолов Д.В., Богомолова И.Н.** Состояние и перспективы научных исследований по проблемам судебно-медицинского исследования трупа // Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 75-летию РЦСМЭ. – 2006. – С.221-224.
2. **Чекман І.С.** Фармакологія // Міорелаксанти.- Київ: Вища школа, 2001.- С.92-95.
3. Jennifer M. Hunter M.B. New Neuromuscular Blocking Drugs // The New England Journal of Medicine. – 1995. – Vol. 332, № 25. – P.1691-1699.
4. **Kala M., Lechowicz W.** Instability of pancuronium in postmortem blood and liver taken after a fatal intramuscular Pavulon injection // Forensic Sci. Int. - 2004. – Vol.143, № 2-3. – P.191-198.
5. **Klys M., Bialka J., Bujak-Gizycka B.** A case of suicide by intravenous injection of pancuronium // Leg. Med. (Tokyo). – 2000. – Vol.2, № 2. – P.93-100.
6. **Martínez M. A., Ballesteros S., Almarza E.** Suicide with Atracurium // Journal of Analytical Toxicology. – 2006. – Vol. 30, № 2. - P. 120-124.
7. **Poklis A., Melanson E.G.** A suicide by pancuronium bromide injection: evaluation of the fluorometric determination of pancuronium in postmortem blood, serum and urine. // J. Anal. Toxicol.- 1980. – Vol.4, № 6. – P.275-280.
8. **Varga M., Somogyi G.** A suicide with neuromuscular blocker // International Journal of Legal Medicine.- 1988.- Vol. 100, № 2-3.- P.223-226.
9. **Yashiki M., Miyazaki T., Iwasaki Y., Taniguchi T., Kojima T.** A case of suicide by an intravenous injection of pancuronium// Nihon Hoigaku Zasshi.– 1992. – Vol.46, № 4.– P.282-285.

Кахановський Ф.М., Москаленко В.С. Можливості ідентифікації, кількісного визначення деяких міорелаксантів у біологічних матеріалах // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 104-105.

В умовах експеримента на білих щурах вивчені морфологічні зміни внутрішніх органів після введення міорелаксантів. Розроблений метод виявлення та кількісного визначення, шляхом тонкошарової хроматографії, ардуана та дитиліна в печінці та нирках протязі раннього постмортального періоду. Визначені подальші шляхи розробки проблеми судово-медичної діагностики курареподібними речовинами.

Ключові слова: отруєння, міорелаксанти, судова медицина, експеримент, тонкошарова хроматографія, мастоцити, щури.

Кахановский Ф.Н., Москаленко В.С. Возможности идентификации, количественного определения некоторых миорелаксантов в биологических матеріалах // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 104-105.

Изучены в условиях эксперимента на белых крысах морфологические изменения внутренних органов после введения миорелаксантов. Разработан способ обнаружения и количественного определения путем тонкослойной хроматографии ардуана и дитилина в печени и почках на протяжении раннего посмортального периода. Определены дальнейшие пути разработки проблемы судебно-медицинской диагностики отравлений курареподобными веществами.

Ключевые слова: отравления, миорелаксанты, судебная медицина, эксперимент, тонкослойная хроматография, тучные клетки, крысы.

Kashanovkyi F.N., Moskalenko V.S. Perspectivs of the identification quantative determination some myorelaxants in the biological material // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 104-105.

After introducing myorelaxants in white rats were studied morphological changes inside organs. Using thin-layer chromatography arduan and dithyllin in liver and kidneys in course earlier postmortal period was elaborated method discovering and quantative determination. Future ways of the elaboration problems forensic medical diagnostic poisoning substantial of curare were determinated in this investigation.

Key words: poisoning, myorelaxants, forensic medical, experiment, thin-layer chromatography, mast cells, rats.

Надійшла 23.11.2011 р.

Рецензент: проф. Л.В.Савченкова