
СУДОВА МЕДИЦИНА

© Біляков А. М.

УДК 340. 6:612. 4. 09:577. 17. 05:616-001. 3

Біляков А. М.

ДІАГНОСТИКА ТРАВМАТИЧНОГО ҐЕНЕЗУ СМЕРТІ ЗА ВМІСТОМ ГІСТАМІНУ ТА СЕРОТОНІНУ В ЛІКВОРІ В РАЗІ СМЕРТЕЛЬНОЇ ДІЇ ТРАВМАТИЧНОГО ФАКТОРУ

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

venik316@mail.ru

Дана робота є фрагментом НДР «Судово-медичне обґрунтування тривалості перебігу смертельної механічної травми за метаболічними змінами в організмі в ранній термін антемортального періоду», № держ. 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 послідуєчим 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.

Відомо, що за результатами гістологічних досліджень у смертельно травмованих осіб, в тому числі померлих безпосередньо після травми, було виявлено 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 за для збереження показників гемостазу активуються захисні механізми. Провідна роль в цьому належить гіпоталамус-гіпофіз-наднирникової системі (ГГНС) [3]. Функціонування ГГНС тісно пов'язане з синтезом різних біологічно-активних речовин, серед

яких особливої уваги заслуговують гістамін та серотонін. Гістамін впливає на секрецію адренкортикотропного 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 перикардіальній рідині змінюється в залежності від причини смерті [6].

Нами вже було встановлено, що кількісний вміст гістаміну та серотоніну в лікворі та перикардіальній 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 діагностичні критерії для діагностики травматичного ґенезу смерті за кількісним вмістом гістаміну та серотоніну в лікворі в разі смертельної дії травматичного фактору.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження став ліквор, який вилучали під час проведення судово-медичного розтину шляхом субоципітальної пункції. Вилучену рідину 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 порівняння 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

СУДОВА МЕДИЦИНА

при 3000 об/хв. Потім добавляли 0,2 мл 7% розчину аскорбінової кислоти та 5 N розчином гідроксиду натрію доводили до рН 7-9 під контролем рН-метру. Після цього в проби вносили 0,5 мл 0,5 М боратного буферу рН 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 рН 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 рН: 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 рН: 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 рН: 7,0), витримували 10 хв на киплячій водній бані та 1 годину без неї. Об'єми всіх розчинів додали 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 флюориметра 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: $A = (C \times Fz \times P \times 1000 \times 1000) / (Fst \times M. v. \times B \times 2)$, де А – кількість біогенного аміну в нмоль/мл; С – концентрація стандарту; Fз – флюоресценція зразку; Р- розведення проби; 1000 – коефіцієнт перерахунку мкмоль в нмоль; 1000 – коефіцієнт перерахунку на 1 мл зразку; F ст. – флюоресценція стандарту; М. в. – молекулярна вага біогенного аміну (гістаміну – 111, серотоніну – 176); В – 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. Діагностично значимі межі розраховували шляхом визначення діапазонів двох-сигмального відхилення варіант від їх середнього значення ($M \pm 2\sigma$).

Таким чином, загалом було проведено 100 досліджень, з яких 60 для визначення вмісту гістаміну та серотоніну при насильницькій смерті та 40 у померлих від ішемічної хвороби серця.

Таблиця 1

Кількісний вміст гістаміну в лікворі

Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Гістамін $X \pm x$ (мкг/мл)	P	Коливання варіант (мкг/мл)	$M \pm 2\sigma$ мкг/мл
Ішемічна хвороба серця	Раптова смерть (контроль)	20	0,032±0,002	P1-P2 > 0.05	0,017-0,052	0,013 – 0,051
Травма	Безпосередньо після травми	10	0,035±0,002		0,027-0,05	0,02 – 0,05
Травма	Короткий проміжок часу після травми	10	0,052±0,006	P1-P3 < 0.01	0,025-0,089	0,017 – 0,087
Травма	1-2 години після травми	10	0,058±0,005	P1-P4 < 0.001	0,031-0,083	0,026 -0,09

Таблиця 2

Кількісний вміст серотоніну в лікворі

Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Серотонін $X \pm x$ (мкг/мл)	P	Коливання варіант (мкг/мл)	$M \pm 2\sigma$ мкг/мл
Ішемічна хвороба серця	Раптова смерть (контроль)	20	0,035±0,002	P1-P2 > 0.05	0,01-0,042	0,021 – 0,05
Травма	Безпосередньо після травми	10	0,039±0,002		0,024-0,046	0,026 -0,052
Травма	Короткий проміжок часу після травми	10	0,058±0,0035	P1-P3 < 0.001	0,036-0,082	0,035 – 0,08
Травма	1-2 години після травми	10	0,062±0,0033	P1-P4 < 0.001	0,05-0,088	0,04 -0,084

Примітка: P1, P2, P3, P4 – досягнутий рівень значущості в випадках: раптової смерті, смерті безпосередньо після травми, смерті за короткий проміжок часу після травми, смерті через 1-2 години після травми.

Таблиця 3

Діагностично значущі межі для встановлення травматичного ґенезу смерті за вмістом гістаміну та серотоніну в лікворі

Причина смерті	Гістамін X±x (мкг/мл)	Серотонін X±x (мкг/мл)
Раптова смерть	до 0,051	до 0,05
Травматична смерть	від 0,051 до 0,09	від 0,05 до 0,084

Результати дослідження та їх обговорення.

Результати вивчення показали, що вміст гістаміну та серотоніну в лікворі при насильницькій смерті відрізняється від випадків ненасильницької смерті в залежності від тривалості вмирання, що представлено в **табл. 1 та 2.**

Зважаючи на те, що в порівнянні з групою раптово померлих кількісний вміст гістаміну та серотоніну в лікворі у смертельно травмованих статистично відрізнявся у тих, хто помер через десятки хвилин ($p < 0.01$) та через 1-2 години ($p < 0.001$) для гістаміну та аналогічно в даних періодах для серотоніну ($p < 0.001$), а у померлих відразу після травмування не відрізнявся ($p > 0.05$), ми можемо визначити

діагностичні показники, що дозволяють встановлювати травматичний ґенез смерті.

Для встановлення травматичного ґенезу смерті в ранньому терміні антемортального періоду нами проведено визначення діагностично значущих меж для кожної речовини шляхом порівняльного аналізу цифрового матеріалу, враховуючи їх середнє значення та двохсигмальне відхилення від нього при травмі та раптовій смерті, що наведено в **табл. 3.**

Тобто, кількісний вміст гістаміну від 0,051 до 0,09 мкг/мл та серотоніну від 0,05 до 0,084 мкг/мл вказує, що смерть є насильницькою.

Висновки. Аналіз результатів дослідження показав, що при травмі в лікворі змінюється кількісний вміст гістаміну та серотоніну з умови, що особа після травмування прожила незначний проміжок часу (десятьки хвилин) та години.

Таким чином, кількісний вміст гістаміну та серотоніну в лікворі може бути використаний для визначення травматичного ґенезу смерті при динамічному розвитку смертельної механічної травми.

Перспективи подальших досліджень. Можливість встановлення травматичного ґенезу смерті за кількісним вмістом гістаміну та серотоніну в лікворі потребує більш ретельного вивчення щодо можливості ідентифікації травмуючого фактору.

Література

- Біляков А. М. Особливості зміни балансу біогенних амінів в рідинах тіла людини під час перебігу смертельної механічної травми / А. М. Біляков // Суд. -мед. експертиза. – 2013. – № 2. – С. 33-35.
- Вайсфельд И. Л. Гистамин в биохимии и физиологии / И. Л. Вайсфельд, Г. Н. Кассиль. – Москва, 1981. – 277 с.
- Виноградов В. В. Гормоны, адаптация и системные реакции организма / В. В. Виноградов. – Минск, 1989. – 224 с.
- Соседко Ю. И. Судебно-медицинская диагностика давности поврежденных при тяжелой тупой травме / Ю. И. Соседко // Суд. -мед. эксп. – 1984. – № 2. – С. 15-18.
- 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.
- Musshoff F. Postmortem serotonin (5-HT) concentrations in the cerebrospinal fluid of medicolegal cases / F. Musshoff, T. Menting, B. Madea // Forensic. Sci. Int. – 2004. Vol. 10, № 142 (2-3). – P. 211-219.
- 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 [et al.] // Leg. Med. (Tokyo). – 2011. – Vol. 13 (2). – P. 75-78. doi: 10.1016/j.legalmed.2010.11.003. Epub 2010 Dec 24.

УДК 340. 6:612. 4. 09:577. 17. 05:616-001. 3

ДІАГНОСТИКА ТРАВМАТИЧНОГО ҐЕНЕЗУ СМЕРТІ ЗА ВМІСТОМ ГІСТАМІНУ ТА СЕРОТОНІНУ В ЛІКВОРИ В РАЗІ СМЕРТЕЛЬНОЇ ДІЇ ТРАВМАТИЧНОГО ФАКТОРУ

Біляков А. М.

Резюме. Метою дослідження стало визначення діагностичних критеріїв для діагностики травматичного ґенезу смерті за кількісним вмістом гістаміну та серотоніну в лікворі в разі смертельної дії травматичного фактору.

Результати вивчення показали, що при травмі в лікворі змінюється кількісний вміст гістаміну та серотоніну з умови, що особа після травмування прожила незначний проміжок часу (десятьки хвилин) та години, що дозволяє встановлювати травматичний ґенез смерті. Визначення діагностично значущих меж та їх співставлення при різних причинах смерті показало, що кількісний вміст гістаміну від 0,051 до 0,09 мкг/мл та серотоніну від 0,05 до 0,084 мкг/мл вказує, що смерть є насильницькою.

Таким чином, травматичний ґенез смерті може бути встановлений за кількісним вмістом гістаміну та серотоніну в лікворі.

Ключові слова: гістамін, серотонін, смертельна травма.

УДК 340. 6:612. 4. 09:577. 17. 05:616-001. 3

ДИАГНОСТИКА ТРАВМАТИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА СМЕРТИ ПО СОДЕРЖАНИЮ ГИСТАМИНА И СЕРОТОНИНА В ЛИКВОРЕ В СЛУЧАЕ СМЕРТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ФАКТОРА

Биляков А. Н.

Резюме. Целью исследования стало определение диагностических критериев для диагностики травматического генеза смерти по количественному содержанию гистамина и серотонина в ликворе в случае смертельного действия травматического фактора.

Исследования показали, что при травме в ликворе изменяется количественное содержание гистамина и серотонина при условии, что человек после травмирования прожил незначительный промежуток времени (десятки минут) и часы, что позволяет устанавливать травматический генез смерти. Определение диагностически значимых границ и их сопоставление при различных причинах смерти показала, что количественное содержание гистамина от 0,051 до 0,09 мкг/мл и серотонина от 0,05 до 0,084 мкг/мл указывает, что смерть является насильственной.

Таким образом, травматический генез смерти может быть установлен по количественному содержанию гистамина и серотонина в ликворе.

Ключевые слова: гистамин, серотонин, смертельная травма.

UDC 340. 6:612. 4. 09:577. 17. 05:616-001. 3

Diagnosis of Traumatic Death Genesis Based on the Content of Histamine and Serotonin in Cerebrospinal Fluid Upon Lethal Effect of a Traumatic Factor

Bilyakov A. M.

Abstract. Establishment of death genesis of a person is the main objective for a forensic expert, especially in the cases when non-violent death coincides with a posthumous injury that follows, in particular during traffic accidents. 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. In case of shorter intervals the reaction of endocrine glands can be used to determine the traumatic genesis of death. Endocrine gland secretion is connected with synthesis of various biologically active substances, among which histamine and serotonin deserve special attention. It is determined that their quantitative content in cerebrospinal and pericardial fluids 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 diagnostic criteria to diagnose the traumatic genesis of death based on the quantitative content of histamine and serotonin in cerebrospinal fluid upon lethal effect of a traumatic injury.

The subject of the research was cerebrospinal fluid of corpses taken during forensic autopsy by means of a suboccipital puncture. The cerebrospinal fluid 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, 100 tests were carried out, of which 60 were intended to measure the content of cortisol and cortisone in case of violent death and 40 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 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 $\mu\text{g/ml}$ prove that the death was violent.

Thus the quantitative content of histamine and serotonin in cerebrospinal fluid can be used to determine the traumatic genesis of death in case of the dynamic development of a lethal mechanical injury.

Keywords: histamine, serotonin, lethal injury.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 25. 02. 2015 р.