

- никнення механічних ушкоджень за оптичними характеристиками травмованої шкіри: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.24 – судова медицина / О. І. Моканюк; Київський державний інститут удосконалення лікарів. – К., 1994. – 19 с.
6. **Науменко В.Г.** Судебно-медицинское определение прижизненного или посмертного происхождения повреждения /В.Г. Науменко, О.А. Палимпсестова // Судебно-медицинская экспертиза. – 1992. – Т. 35, № 1. – С. 38 – 40.
 7. **Перспективи** використання методів лазерної поляриметрії зображень м'яких біотканин у судовій медицині / В.Т. Бачинський, І.Г. Савка, О.Я. Ванчуляк, І.Л. Беженар //Матеріали першої міжнародної науково-практичної конференції судових медиків і криміналістів, присвяченої 75-річчю з дня смерті заслуженого проф. М.С. Бокаріуса. Харків, 8-9 грудня 2006 року. – Х., 2006. – С. 114 – 115.
 8. **Прижизненность**, давность и последовательность повреждений твердыми тупыми предметами /В.Н. Крюков, Б.А. Саркисян, В.Э. Янковский и др. // Макроскопические и микроскопические аспекты при установлении прижизненности и оценки давности телесных поврежде-
 - ний: (сб. публикаций). – Тверь, 2005. – С. 2 – 3.
 9. **Установление** давности травмы мягких тканей морфологическими методами /М.И. Лаптева, Л.Н. Исхизова, М.Я. Баранова и др. //Судебно-медицинская экспертиза. – 2005. – Т. 48, № 5. – С. 43 – 46.
 10. **Хижнякова К.И.** Прижизненность механических повреждений /К.И. Хижнякова // Макроскопические и микроскопические аспекты при установлении прижизненности и оценки давности телесных повреждений: (сб. публикаций). – Тверь, 2005. – С. 1–2.
 11. **Betz P.** Immunohistochemical parameters for the age estimation of human skin wounds. A review /P. Betz // Am. J. Forensic Med. Pathol. – 1995. – Vol. 16, № 3. – P. 203–209.
 12. **Biochemical** diagnosis of the intravital origin of skin wounds /P. Fernández, A.M. Bermejo, M. López-Rivadulla, L. Concheiro // Forensic Sci. Int. – 1994. – Vol. 68, № 2. – P. 83–89.
 13. **Kondo T.** Timing of skin wounds / T. Kondo // Leg. Med. – 2007. – Vol. 9, № 2. – P. 109–114.
 14. **Raekallio J.** Estimation of time in forensic biology and pathology. / J. Raekallio // Amer. J. Forens. Med. and Pathol. – 1980. – Vol. 1, №. 3. – P. 213 – 218.

КОМПЛЕКСНАЯ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКАЯ ДИАГНОСТИКА ДАВНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОЖИ И МЫШЦ ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ ИХ ТРАВМИРОВАНИИ

**В.А. Ольховский, П.А. Каплуновский, В.В. Хижняк, Н.В. Губин,
В.В. Бондаренко, В.К. Сокол, П.О. Леонтьев, А.Н. Пешенко**

Резюме. Предложены судебно-медицинские критерии давности образования механических повреждений кожи и мышц, которые базируются на цитофотометрическом определении изменения содержания белков в саркоплазме мышечных волокон (ШИК-Реакция) и коллагена I-го типа в дерме

поврежденной кожи на протяжении первых суток после травмирования. В прижизненных механических повреждениях кожи выделено 4 временных периода на протяжении первых суток после травмы.

Ключевые слова: механическая травма кожи и мышц, давность повреждения, иммуногистохимия.

COMPLEX FORENSIC-MEDICAL DIAGNOSTICS OF TIME FORMATION MECHANICAL DAMAGES OF THE SKIN AND MUSCLES AT THEIR SIMULTANEOUS TRAUMATIZING

**V.O. Olhovsky, P.A. Kaplunovsky, V.V. Hizhnjak, N.V. Gubin,
V.V. Bondarenko, V.K. Sokol, P.A. Leontev, A.N. Peshenko**

The summary. Medico-legal criteria which are based on cytophotometric definition of change of the maintenance of proteins in the sarcoplasm of muscular fibres and collagen I-th type in the derma of the damaged skin during the first days after injuring are as a result offered. On a basis immunogistochemical definitions

of the maintenance of collagen of 1st phylum in a derma at damage with luminescent visualisation dynamics of changes of collagenic fibres within 24 hour is tracked

Keywords: mechanical trauma of skin and muscles, remoteness of damage, immunogistochemistry.

ЗАСТОСУВАННЯ ІНДИКАТОРНОГО МЕТОДУ В ЯКОСТІ СУДОВО-МЕДИЧНОЇ ЕКСПЕРС- ДІАГНОСТИКИ ІШЕМІЧНИХ ПРИЖИТТЄВИХ І ПОСТМОРТАЛЬНИХ УРАЖЕНЬ М'ЯЗІВ

Кісь А.В.

Харківське обласне бюро судово-медичної експертизи

Резюме. Показано можливості макроскопічної судово-медичної діагностики прижиттєвості ішемічних ушкоджень при експертизі трупів, із застосуванням п-НСТ (нітротеразолій синій) та його

реакційної суміші. Проведене дослідження зміни оптичної щільності гомогенату тканин у експерименті на щурах об'єктивно підтверджує макроскопічну картину у різниці прижиттєвих та по-

смертних ушкоджень (збільшення показників оптичної щільності при прижиттєвому ішемічному ушкодженні), яка обумовлена відновленням n-НСТ під дією дегідрогеназ із виділенням солей формазану. Відсутність необхідності використання складної лабораторної техніки обумовлює доступність індикаторного експрес-методу з використанням реакційної суміші n-НСТ при встановленні зажиттєвості та давності виникнення ішемічних ушкоджень м'яких тканин на рівні відділень бюро судово-медичної експертизи.

Ключові слова: судово-медична експертиза, труп, тетразолій, ушкодження.

ВСТУП. Проблема судово-медичної діагностики прижиттєвості й давності травмування м'яких тканин в даний час є об'єктом численних досліджень, що пояснюється частотою пошкоджень [1]. Найбільш частою причиною механічного пошкодження м'яких тканин є тупа травма. При встановленні прижиттєвості і давності заподіяння механічних ушкоджень, труднощі виникають у випадках, коли травма виникла безпосередньо після смерті, коли тканини ще зберігають свою життєздатність, або за невеликого терміну до її настання.

Зміни у зоні травм, які виникли у ранньому ante- та постмортальному періодах досить добре вивчені біохімічним методом, але в повсякденній експертній роботі біохімічний метод не знайшов широкого застосування, залишаючись суто науковим [2, 3]. Нетривалість періоду від травматизації до настання смерті (або наявність ранніх посмертних ушкоджень) обумовлює складність і суб'єктивність експертного трактування давності й прижиттєвості ушкоджень [4].

Незважаючи на численні дослідження з даної проблеми, із використанням при цьому найсучасніших методів, поки дуже мало запро-

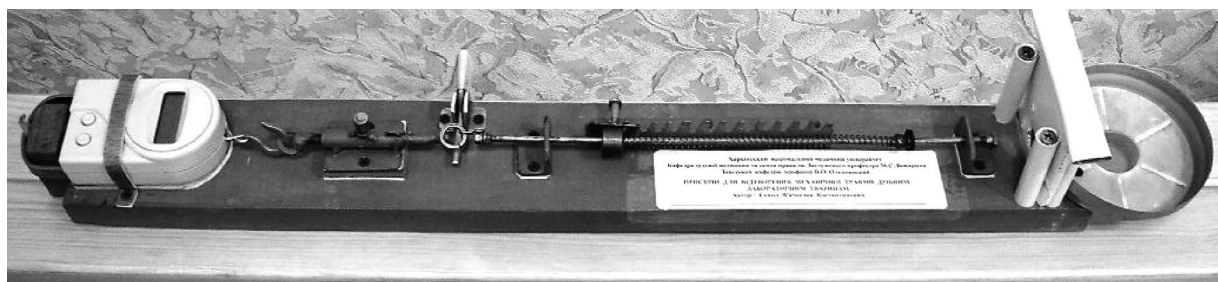
поновано рекомендацій, придатних для широкого впровадження в повсякденну практику [5, 6, 7].

Таким чином, питання про час утворення ушкоджень зберігає актуальність, є до кінця не вивченим і безсумнівно, вимагає подальшого глибокого вивчення і виявлення нових експертних критеріїв.

Мета дослідження: визначення ознак прижиттєвості й давності ушкоджень м'яких тканин внаслідок тупої механічної травми індикаторним методом залежно від зовнішнього температурного фактору із застосуванням тетразолію нітросинього (n-НСТ).

Матеріали та методи. Експериментальна частина досліджень проведена на щурах лінії Wistar – савцях масою 250 - 300 г. Піддослідних тварин витримували на звичайному харчовому раціоні з вільним доступом до води по 8 тварин у стандартних клітках. Досліди здійснювали відповідно до національних «Загальних етичних принципів дослідів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних для експериментальних і інших наукових цілей» [8]. Виведення тварин з експерименту проводилися шляхом миттєвої дислокації після ін'єкції кетаміну 5 мг/кг в/в (у хвостову вену) для анестезії. У роботі використано мінімально допустиму для статистичної обробки і отримання достовірних результатів загальноприйнятну кількість тварин – 8 тварин у групі, а також мінімально достатню для досягнення мети й рішення задач дослідження кількість експериментальних груп - 72 групи та 1 контрольна група (інтактні тварини).

Механічну травму задніх кінцівок відтворювали за допомогою пристрою (мал.1) для експериментального моделювання політравми у дрібних лабораторних тварин механічного удару заданої сили в експерименті [9].



Мал. 1. Пристрій для експериментального моделювання механічної травми у лабораторних тварин

Зразки тканини для дослідження забирали після нанесення тупої травми (прижиттєво й відразу після миттєвої транслокації): у тварин 1 групи - відразу після травмування; 2 групи – 0,5 годин; 3 групи – 1 година; 4 групи – 2 години; 5 група – 4 години; 6 група – 6 годин після травмування; 7 група – інтактні тварини. Усі зразки після вилучення були розділені на групи залежно від температурного режиму: А група – зразки м'язів витримували при $t=+18^{\circ}\text{C}$ протягом 1 години; Б група – зразки м'язів витримували при $t=-10^{\circ}\text{C}$ протягом 1 години;

В група – зразки м'язів витримували при $t=+37^{\circ}\text{C}$ протягом 1 години.

Макроскопічна проба (якісна реакція) на ішемічно-некротичні зміни у зоні травматичних ушкоджень проведена із застосуванням індикатора – 1 – 2% n-НСТ та за допомогою реакційної суміші, що містить 0,1% n-НСТ та β -НАД: смужку тканини поміщено в чашку Петрі, й залито розчином реактиву та залишено на 10 хвилин в термостаті при температурі 37°C . Життєздатні тканини забарвлюються в синьо-фіолетовий колір, а зона

травматизації у вигляді ішемії-некрозу (надалі - некрозу) не дає позитивної реакції і не містить барвника.

Кількісна оцінка ступеня uszkodження м'яких тканин проводилася спектрофотометрично: м'язи гомогенізували у розчині сахарози з фосфатним буфером – 1 мл гомогенату додавали до 1 мл 0,1% п-НСТ (та реакційної суміші), перемішували і поміщали на водяну баню при температурі 40°C протягом 20 хв. До кожного зразка додавали 400 мкл ацетону, потім перемішували і поміщали при 20°C протягом 15 хв. для вилучення пофарбованого формазаном гомогенату. Потім зразки центрифугували при 3000 об/хв. при температурі +4°C, протягом 30 хв. Прозорий блакитний супернатант зливали і вимірювали абсорбцію при довжині хвилі 540 нм на спектрофотометрі «Multiskan EX 355» (Labsystems, Фінляндія).

При обробці результатів використані методи параметричної статистики із застосуванням програми «Biostat» за допомогою персонального комп'ютера [10].

Результати дослідження та їх обговорення.

В результаті експериментального дослідження після інкубації дослідного локусу м'язу при температурі 37°C протягом 10 хвилин індикаторним методом із застосуванням п-НСТ та β-НАД було встановлено, що зона некротичного ураження не забарвлюється, а непошкоджені тканини інтенсивно забарвлюються у фіолетовий колір за рахунок поглинання п-НСТ життєздатними клітинами й під впливом їх дегідрогеназної системи відновлюється у темно-фіолетові гранули диформазану. Інтенсивність реакції забарвлення оцінювалась за принципом Астальді, який заснований на виявленні ступеню інтенсивності специфічного забарвлення uszkodжених тканин і є якісною реакцією.

Так, виявлені ділянки травматичного uszkodження світліші за інтактний м'яз, причому ступінь забарвлення залежить від часу після проведення експерименту й температурного режиму. Демаркаційна лінія при прижиттєвому травматичному uszkodженні й лінія розмежування при постмортальному травматичному uszkodженні, для об'єкта, що зберігається у низькій температурі (-10°C) чітко виявляється вже через 1 годину після тупої травми й спостерігається на протязі 2 годин після травми у всіх випадках незалежно від часу зберігання об'єкта.

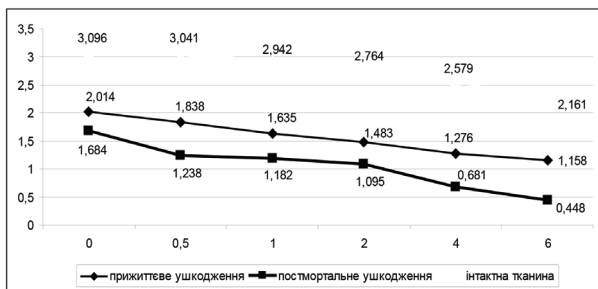
При зіставленні досліджених зразків можна відмітити, що при температурі 18°C з часом зона некротичного ураження має збільшені розміри й інтенсивність забарвлення зменшується, й є можливість диференціювати прижиттєво uszkodжену ділянку тканини та постмортальне травматичне uszkodження залежно від часу після нанесення травми. Подібна індикаторна реакція із зонами розмежування пошкодженої та інтактною ділянок була зафіксована при визначенні прижиттєвого й постмортального травматичного uszkodження м'язів

при витримуванні зразків при температурі 37°C, але інтенсивність забарвлення була досить низькою, особливо вже через 2 години.

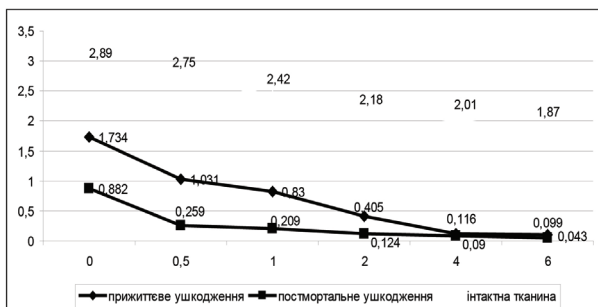
У зв'язку із вищевказаним, було проведено спектрофотометричне дослідження гомогенату м'язів експериментальних тварин з реакційною сумішшю для кількісної оцінки динаміки показників прижиттєвого й постмортального механічного пошкодження. Візуалізація індикаторної реакції показала інтенсивне забарвлення у пробірках із зразками гомогенату ділянок м'яких тканин при прижиттєвому тупому механічному пошкодженні (зберігання при $t=+18^{\circ}\text{C}$ через 30 хв та гомогенату зразку м'яких тканин при прижиттєвому тупому механічному пошкодженні (при $t=-10^{\circ}\text{C}$ через 30 хв). У досліджувальних зразках гомогенату ділянок м'яких тканин при постмортальному тупому механічному пошкодженні (зберігання при $t=-10^{\circ}\text{C}$ через 30 хв та гомогенату ділянок м'яких тканин при постмортальному тупому механічному пошкодженні (зберігання при $t=+18^{\circ}\text{C}$ через 30 хв) забарвлення п-НСТ зовсім не спостерігалось.

При спектрофотометричному дослідженні гомогенізованих тканин встановлено зниження оптичної щільності, як для прижиттєвих, так і постмортальних травматичних uszkodжень у порівнянні із інтактними тканинами незалежно від температурного режиму та часу після пошкодження. Але при зіставленні результатів, здобутих при різних температурних режимах, встановлено підвищення показників оптичної щільності при $t=-10^{\circ}\text{C}$ (мал. 2) й зниження показників оптичної щільності гомогенату м'язів при прижиттєвому та постмортальному механічному uszkodженні при $t=+37^{\circ}\text{C}$. Результати дослідження щодо визначення оптичної щільності зразків гомогенату при травматичному прижиттєвому та постмортальному uszkodженні після термостатування тканин при температурі 37°C протягом години показали, що показники оптичної щільності нижчі за такі, що були здобуті у досліді при заморожуванні зразків та при кімнатній температурі ($t=+18^{\circ}\text{C}$ (мал. 3), що свідчить про тотальне некротичне ураження м'язів під впливом підвищеної температури, як при постмортальному, так й при прижиттєвому пошкодженні порівняно із інтактними тканинами. При дослідженні оптичної щільності гомогенату м'язів залежно від проміжку часу було встановлено, що при прижиттєвому механічному пошкодженні показники оптичної щільності гомогенату підвищені порівняно з показниками оптичної щільності гомогенату зразків м'язів при постмортальному механічному uszkodженні.

Така ж тенденція спостерігається при дослідженні гомогенату uszkodжених тканин під впливом підвищеної температури: 37°C, де оптична щільність гомогенату при прижиттєвому механічному uszkodженні у 2 рази вище, ніж при постмортальному й у 3,6 разів нижче, ніж інтактних тканин у часовому проміжку 30 хвилин (мал. 4).



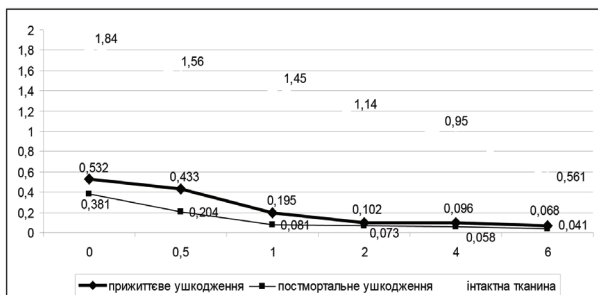
Мал. 2. Динаміка показників в одиницях оптичної щільності (од.ощ.) гомогенату м'язів при прижиттєвому та постмортальному механічному ушкодженні залежно від часу та температурного режиму ($t=-10^{\circ}\text{C}$) при застосуванні індикаторної суміші з 0,1% n-НСТ + β -НАД.



Мал. 3. Динаміка показників в одиницях оптичної щільності (од.ощ.) гомогенату м'язів при прижиттєвому та постмортальному механічному ушкодженні залежно від часу та температурного режиму ($t=+18^{\circ}\text{C}$) при застосуванні індикаторної суміші з 0,1% n-НСТ + β -НАД.

Подібна картина спостерігається при дослідженні оптичної щільності гомогенату м'язів при механічному прижиттєвому та постмортальному ушкодженні після заморожування дослідної ділянки: відмічається збільшення показників оптичної щільності при прижиттєвому механічному ушкодженні порівняно з постмортальними показниками у 1,5 рази й зниження цих параметрів у 1,7 рази порівняно з інтактними тканинами.

Таким чином, проведено дослідження показало, що застосування індикаторного методу з n-НСТ є доцільним у судово-медичній експрес-діагностиці й розробка комплексних алгоритмів із застосуванням індикаторних методів потребує подальшого вивчення.



Мал. 4. Динаміка показників в одиницях оптичної щільності (од.ощ.) гомогенату м'язів при прижиттєвому та постмортальному механічному ушкодженні залежно від часу та температурного режиму ($t=+37^{\circ}\text{C}$) при застосуванні індикаторної суміші з 0,1% n-НСТ + β -НАД.

ВИСНОВКИ

Отримані результати розширюють арсенал засобів судово-медичної діагностики визначення прижиттєвості і давності травми, показують можливості використання сучасних індикаторних методів у судово-медичній практиці. Застосування експрес-методу із використанням тетразолію нітросинього (n-НСТ) при проведенні судово-медичної експертизи трупа дозволяє об'єктивно і достовірно розрізнити прижиттєві та посмертні ушкодження і давність заподіяння механічної травми в антемортальному періоді у часовому проміжку до 6 годин від настання смерті.

Література

1. **Богомолов Д.В.** Проблемы, нуждающиеся в ускоренной разработке /Д.В. Богомолов //Вестник судебно-медицинской службы. 2006. - № 3. С. 12-14.
2. **Лаптева М.И.** Судебно-медицинское установление давности тупой механической травмы мягких тканей (морфометрическое исследование): дис. ... канд. мед.наук: 14.00.24 / Лаптева М.И. – М., 2007. – 283 с.
3. **Султанов Р.М.** Судебно-медицинская диагностика прижизненности поврежденных мышечной ткани на гнилостно измененных трупах. Судебно-медицинская экспертиза механических повреждений. Республиканский сборник научных трудов. М., 1988. С. 110-111.
4. **Эделев Н.С., Воробьев В.Г., Логвинова Е.Б.** К вопросу о прижизненности механических повреждений. Материалы VI Всероссийского съезда судебных медиков, посвященного 30-летию Всероссийского общества судебных медиков. Москва — Тюмень, 2005. С. 310.
5. **Пикулева М.В.** Особенности диагностики прижизненности и давности причинения механических повреждений /М.В. Пикулева, О.Ю. Берг, Ю.С. Исаев //Publication in electronic media: 24.05.2009 under <http://journal.forens-lit.ru/node/42> Publication in print media: Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики, Барнаул-Новосибирск 2008, Вып. 14.
6. **Пат. № 14411 U, UA, МПК А61В 5/05, G01N 33/483.** /Мішалов В.Д., Бурчинський В.Г., Хохолєва Т.В., Войченко В.В., Сулоєв К.М.– 3. № u200510902; Заявл. 17.11.2005; Опубл. 15.05.2006. Спосіб визначення давності настання смерті шляхом дослідження біофізичних властивостей тканини трупа.
7. **Халиков А.А.** Состояние и перспективы проблемы определения прижизненности и давности механических повреждений /А.А. Халиков, А.Ю. Вавилов, С.В. Хасанянова // Проблемы экспертизы в медицине. - 2005. - Т. 05, № 17-1. - С. 36-40.
8. **European Convention for the protection of vertebratae animals used for experemental and other scientific purposes** // Strasbourg. Council Treaty Series.

- 1986. - №123. - 52 р.

9. Пат.6548 Україна, МПК 7 G09B23/28, А61В17/00. Пристрій для відтворювання політравми /П.М Замятін, Г.І. Каплін, О.Л. Чернов. – Заявл.27.09.04; Опубл. 16.05.05; Бюл.№5.

10. Лапач С.Н. Статистические методы в медико – биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. - К.: МОРИОН, 2000. - 320 с.

ПРИМЕНЕНИЕ ИНДИКАТОРНОГО МЕТОДА ДЛЯ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ИШЕМИЧЕСКИХ ПРИЖИЗНЕННЫХ И ПОСТМОРТАЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ МЫШЦ

Кись А.В.

Резюме. Показана возможность макроскопической судебно-медицинской диагностики прижизненности ишемических повреждений при экспертизе трупов, с применением n-НСТ (нитро-тетразолий синий) и его реакционной смеси. Проведенное исследование в эксперименте на крысах объективно подтверждает макроскопическую картину в различии прижизненных и посмертных повреждений (увеличение показателей оптической плотности при прижизненном ишемическом повреждении), которая обусловлена восстановлением n-НСТ под действием

дегидрогеназ с выпадением солей формазана. Отсутствие необходимости использования сложной лабораторной техники обуславливает доступность применения индикаторного экспресс-метода с использованием n-НСТ, при установлении прижизненности и давности возникновения ишемических повреждений мягких тканей на уровне отделений бюро судебно-медицинской экспертизы.

Ключевые слова: судебно-медицинская экспертиза, труп, тетразолий нитросиний, прижизненность, посмертный, повреждение.

APPLICATION OF THE EXPRESS-METHOD FOR MEDICOLEGAL EXPRESS DIAGNOSTICS OF ISCHEMIC INTRAVITALITY AND POSTMORTEM DAMAGES OF MUSCLES

Kiss A.V.

Resume. It is shown the possibility of a macroscopic medicolegal intravital diagnostics of ischemic damage in the examination of the corpses, with the use of n-NBT (nitroblue tetrazolium) and its reactionary mix. The conducted research of changes in optical density of tissue homogenates in experiment on Rats objectively confirms a macroscopic picture of the difference of ante-mortem and postmortem damage (increased performance optical density at intravital ischemic damage), which caused by the reduction of n-NBT under action the dehy-

drogenases with the precipitation of salts formazan. Absence of necessity of use of difficult laboratory technics causes availability of the express-method using reactionary mix containing n- NBT, in establishing intravitality and limitation of ischemic damage to the soft tissues at the office level forensic medical examination.

Key words: forensic medical examination, corpse, nitroblue tetrazolium, intravitality, postmortem, damage.