

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ИДЕНТИФИКАЦИИ ОСНОВНЫХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Костенко С. Б., Радько В. И.

Резюме. В статье представлено теоретическое обоснование спектрофотометрических методов которые можно использовать в судебно медицинской стоматологии при идентификации основных стоматологических материалов, в частности пломбирочных материалов, которые классифицируют на макронаполненные, микронаполненные, гибридные и наноккомпозиты.

Ключевые слова: спектрофотометрия, поглощение, отбивание, прохождение, судебная стоматология, судебная медицина.

THE THEORETICAL ARGUMENTATION FOR SPECTROPHOTOMETRIC IDENTIFICATION METHOD OF COMMON DENTAL MATERIALS

Kostenko S., Radko V.

Summary. Article represents a theoretical argumentation for photospectroscopy measuring methods that can be used in forensic dentistry during identification of major dental materials, including filling materials which classified into the specific structure groups, such as macrofilling, microfilling, and hybrid nanocomposites.

Key words: spectrometry, absorption, reflection, transmission, forensic dentistry, forensic medicine.

УДК 340.624.6:616-073.65

ЗМІНИ ПРОДУКТІВ РОЗПАДУ БІЛКА ТА ОКРЕМИХ ФЕРМЕНТІВ ТКАНИНИ АХІЛЛОВОГО СУХОЖИЛЛЯ У РІЗНІ ТЕРМІНИ ПОСТМОРТАЛЬНОГО ПЕРІОДУ

В. А. Повстяний

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,
кафедра патологічної анатомії і судової медицини

Резюме: В статті розглянута можливість встановлення давності настання смерті шляхом оцінки ступеня автолізу у сполучній тканині, яка не використовувалася раніше. Біохімічним методом було досліджено окремі складові сполучної тканини у різні терміни настання смерті. Виявлено, що процеси гниття в сполучній тканині розвиваються дуже повільно, а процеси автолізу розтягнуті в часі і можуть бути простежені та оцінені. Автором також запропонована нескладна методика отримання матеріалу для дослідження (а саме рідини з сухожилля), який може одразу досліджуватися, або зберігатися і транспортуватися.

Ключові слова: судово-медична експертиза, сполучна тканина, давність настання смерті.

ВСТУП. Діагностика давності настання смерті (ДНС), особливо в пізньому постмортальному періоді, залишається актуальною проблемою судової медицини. Не можна не відзначити, що спроби вирішити дану проблему робилися і раніше, але недоліком попередніх досліджень, є те, що дослідження проводилися на вилученому трупному матеріалі з витримкою його в стандартних умовах, або дослідження проводилися на тваринах. Найбільш цікаві в цьому плані роботи, де автори намагалися вивчати тіло померлого «в цілому» на різних етапах гниття і використовували комплексні підходи до оцінки ДНС.

Так Шевченко І.М [1] досліджуючи трупи людей в різні терміни після смерті (з встановленою датою смерті) виділив 7 стадій зміни тканин трупа в пізньому постмортальному періоді. Автор використав у своїй роботі всім відомі ознаки гниття (зміна кольору шкіри, явища гнильної емфіземи, особливості відшарування епідермісу, та ін.), протестував їх і визначив для кожної стадії перелік як першорядних, так і другорядних ознак. Так само, ним відзначені можливі коливання цих ознак залежно від температури середовища. Ним запропонована формула розрахунку ДНС з використанням величини вологопоглинаючих властивостей тканини печінки, яка змінюва-

лося упродовж постмортального періоду. Цікавим моментом роботи є те, що автор вказує на невідповідність експериментальних даних і даних отриманих на практичному матеріалі.

Аналогічне дослідження проведено Коршуновим М.В. [2], який встановив, що гниття трупа характеризується чіткою стадійністю морфологічних проявів процесу. Автором запропонована оригінальна методика діагностики давності смерті трупа з гнильними явищами, заснована на об'єктивних даних якісної і кількісної реєстрації морфологічних проявів гнильного процесу. Запропоновані шкала кольорів і формули розрахунку ДНС з використанням температурних даних.

Вельми цікавим були дослідження Тенькова О.О. [3], де ним застосовано комплексне морфологічне і біофізичне дослідження (визначення діелектричних показників і магнітної сприйнятливості інтактних та травмованих м'яких тканин на протязі гнильної трансформації і висихання) для встановлення ДНС. Проведеними дослідженнями встановлено зміни біофізичних показників у випадках знаходження об'єктів на повітрі, а також у воді, при тривалості посмертного періоду від 1 до 30 діб при різних температурах.

Таким чином, останнім часом все більшого значення для встановлення ДНС (як до речі і для вирішення багатьох інших питань судово-медичної експертизи) набувають комплексні методики і дослідження саме конкретного трупа і трупного матеріалу з нього, з визначенням інструментальними методами самих різних параметрів і речовин.

Ми звернули увагу на відсутність робіт, присвячених дослідженню особливостей автолізу у сполучній тканині і коливань вмісту ферментів, продуктів деградації білка та змін мікроелементного складу, що виникають при цьому. Саме сполучна тканина була обрана для досліджень, оскільки процеси обміну в ній, відсутність гарного кровопостачання, а також відносна «бідність» водою, повинні затримувати розвиток гнильних процесів в тканинах.

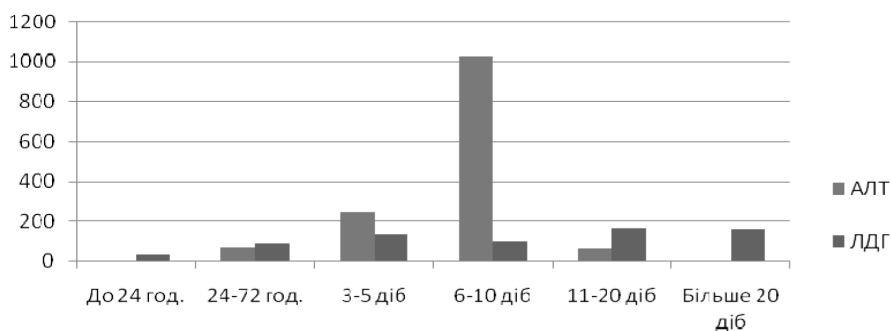
Мета дослідження: вивчити зміни складу продуктів руйнування білків і зміни окремих ферментів Ахіллового сухожилля в різні терміни постмортального періоду.

Матеріали і методи дослідження. Було зібрано матеріал від померлих з відомими термінами настання смерті, які умовно розбиті на інтервали (12-24 год., 24-72 год., 3-5 діб, 6-10 діб, 11-20 діб, більше 20 діб). Забір матеріалу для дослідження проводився наступним чином: Після (або під час) проведення судово-медичного дослідження трупа проводиться перевертання його спиною догори і в нижній третині гомілок з переходом на задню поверхню п'ят проводиться вертикальний розріз. Краї розрізу розводяться в сторони і, обережно проводиться виділення сухожилля з фасціального мішка. Після чого відсікається нижня (найщільніша) частина сухожилля в місці прикріплення його до п'яткової кістки. Пінцетом утримуючи сухожилок за нижній кінець, проводиться відхилення його догори. Одночасно, скальпелем, при цьому відсікаються м'язові волокна в місці вплетення їх у тканину сухожилля. Відсепаровка проводиться приблизно до рівня злиття камбалоподібного і литкового м'язів. Після чого поперечним розрізом сухожилок відсікається і укладається в стерильну чашку Петрі. При виділенні сухожилля необхідно прагнути до того, щоб на ньому не залишалася залишків м'язової тканини і фасцій. Від тканини сухожилля відсікається невеликий фрагмент нижнього (дуже щільного) кінця для гістологічного дослідження, а частина що залишилася вміщувалася в прес. Стискання тканини сухожилля з метою отримання рідини, проводилося шляхом закручування штока з різьбою, з максимально досяжним зусиллям. Рідина, що виділилася, збиралася в стерильну чашку Петрі, а потім в шприц. Зберігання шприца з рідиною здійснювалася в морозильній камері побутового холодильника з температурою близько -8 °С. Для біохімічного дослідження застосовувалися стандартні методики, що застосовуються при проведенні клінічних досліджень. Біохімічне дослідження отриманої рідини з визначення сечової кислоти, сечовини, АЛТ, ЛДГ, натрію, заліза, калію, після розморожування, проводилося згідно ТУ У 24.4-24607793-019-2003 узгоджених з Державною службою України з лікарських засобів 09.11.2012 року, а також існуючих інструкцій до наборів реактивів, для визначення відповідних речовин. Згідно цієї нормативної документації досліджувана рідина для визначення окремих речовин розводилася. Окрім цього проводилося гістологічне дослідження фрагментів Ахіллового сухожилля з фарбуванням матеріалу гематоксилін-еозином, для визначення ступеню автолітичних змін в сполучній тканині. Всі отримані результати, щодо кількісних змін біохімічних показників аналізували за допомогою статистичних методів обробки інформаційних даних, а саме з використанням комп'ютерної програми Excel.

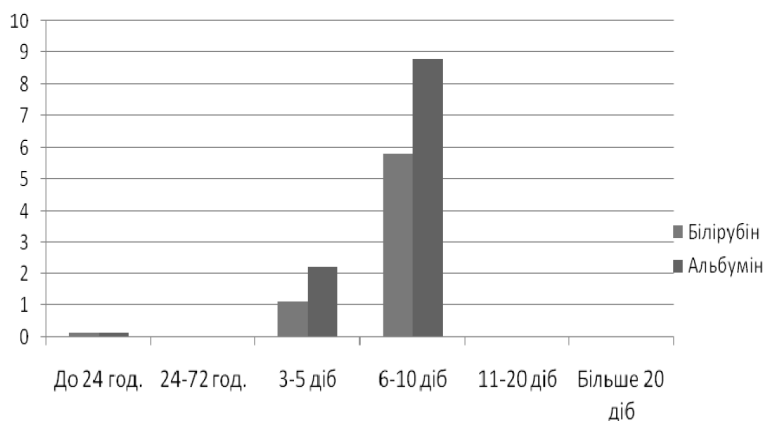
Результати дослідження та їх обговорення.

При проведенні гістологічного дослідження тканини Ахіллового сухожилля в різні терміни постмортального періоду було встановлено, що автолітичні зміни з руйнуванням мембран клітин протікають відносно плавно. Частина клітин досить довго зберігає свою форму, а повний автоліз з руйнуванням мембран і зникненням клітинних елементів спостерігався після 2-3 тижнів посмертного періоду.

Кількісний аналіз на етапах постмортального періоду виявив в сухожиллі стрибкоподібне зростання після третьої доби постмортального періоду (мал. 1). Так зростання АЛТ склало на 2-3 добу до 12 разів, а в період 6-10 діб відзначалося зростання ферменту в 40-50 разів, у порівнянні з першими годинами після смерті. Аналогічні зміни, але менш виражені, відзначені у відношенні ЛДГ (мал. 2).

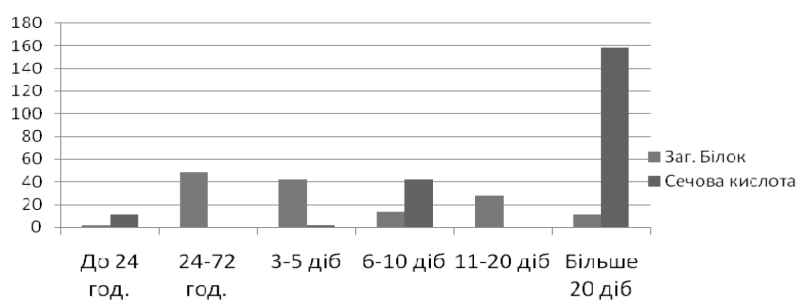


Мал. 1. Динаміка зміни концентрації АЛТ і ЛДГ в тканині Ахіллового сухожилля

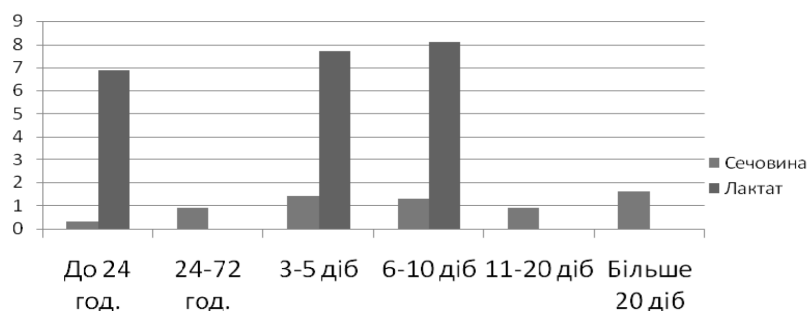


Мал. 2. Динаміка зміни концентрації білірубіну та альбуміну в тканині Ахіллового сухожилля

У період 3-5 діб після настання смерті зазначалося наростання продуктів розпаду білків (особливо сечової кислоти більш ніж до 10 разів). Зміни кількості загального білка, альбумінів, холестерину також присутні, але менш виражені (мал. 2,3,4). Разом з тим кількість лактату та сечовини практично не змінювалося. Слід зазначити, що через малу кількість отриманого матеріалу, не вдалося провести визначення даних речовин в деяких об'єктах, хоча тенденція до збільшення продуктів деградації білка не викликала сумніву і може бути простежена надалі.

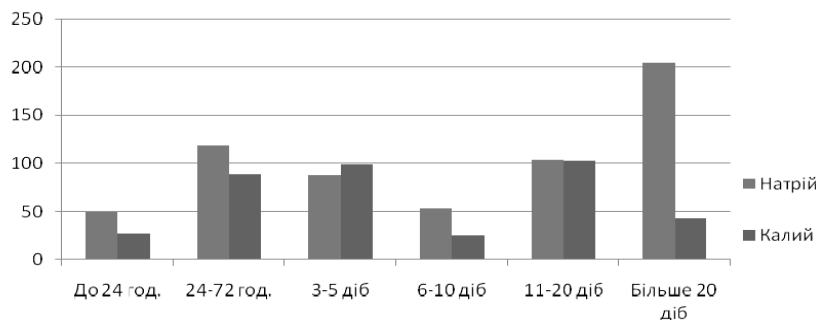


Мал. 3. Динаміка зміни концентрації загального білка і сечової кислоти в тканині Ахіллового сухожилля

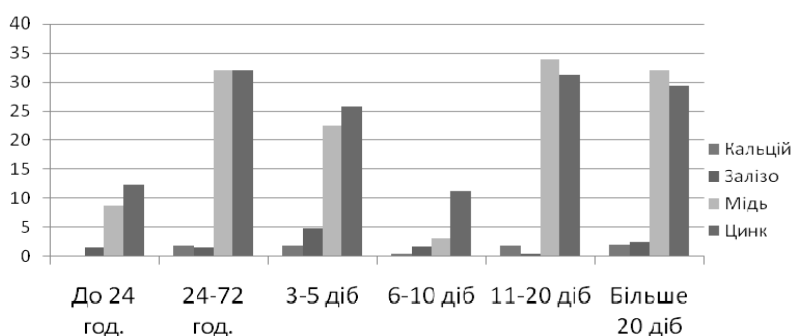


Мал. 4. Динаміка зміни концентрації сечовини і лактату в тканині Ахіллового сухожилля

Дослідження мікроелементного складу Ахілового сухожилля виявило зростання кількості всіх мікроелементів (особливо натрію, міді та цинку, що, на наш погляд, швидше за все, пов'язане з розвитком гемолітичних явищ в тканині сухожилля) (мал. 5, 6).



Мал. 5. Динаміка зміни концентрації Na та K в тканині Ахілового сухожилля



Мал. 6. Динаміка зміни концентрації Ca, Fe, Cu, Zn в тканині Ахілового сухожилля

При проведенні досліджень ми зіткнулися з труднощами у вигляді малої кількості вихідного матеріалу (рідини) з окремих трупів, тому в таких випадках робилися спроби розведення до максимально можливих величин. Можливість розведення отриманого первинного трупного матеріалу (рідини з Ахіллового сухожилля) дає можливість збільшити кількість речовин, і проводити аналіз більшої кількості даних. Разом з тим, отримані результати вимагають подальшого набору матеріалу і аналізу його. В результаті досліджень, виявлені «стрибки» концентрації багатьох речовин в тканині сухожилля, які залежать від ступеня і стадії розвитку процесу автолізу, і «зламу біологічних мембран» в клітинах сухожилку, що орієнтовно повинно співвідноситися з морфологічними ознаками автолізу та гнильної трансформації тканин трупа, а в часовому аспекті вони можуть бути придатні для орієнтовного встановлення давності настання смерті.

ВИСНОВКИ

1. У 1-у добу постмортального періоду в Ахілловому сухожиллі не виражені автолітичні процеси. Концентрації білкових речовин і ферментів знаходяться на мінімальному рівні.

2. На 3-5 добу в результаті розвитку автолізу виникає різке зростання кількості продуктів розпаду білків і ферментів з перевищення первинних величин в кілька разів.

3. На 6-10 добу в результаті затихання і уповільнення процесу автолізу відзначається тенденція до зниження кількості більшості визначених компонентів (крім продуктів розпаду білка, які продовжують наростати).

Література

1. **Шевченко І.Н.** Стадії процесу біологічного розкладу трупа в різні терміни після смерті / І.Н. Шевченко // *Вопросы теории и практики судебно-медицинской экспертизы.* – Україна, Запоріжжя, 1995. – С. 69-72.
2. **Коршунов Н.В.** Использование «гнилостного потенциала» в практических экспертизах / Н.В. Коршунов, В.И. Витер, А.Ю. Вавилов // *Проблемы экспертизы в медицине.* – 2007. – № 2. – Ижевск. «Экспертиза». – С. 17-20.
3. **Теньков А.А.** Трупная зелень как критерий для определения давности наступления смерти / А.А. Теньков // *Актуальные вопросы медицинской науки. Сборник научных трудов, посвященный 60-летию КГМУ.* Курск, 1997. – С.579 – 580.

ИЗМЕНЕНИЯ ПРОДУКТОВ РАСПАДА БЕЛКОВ И ОТДЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНИ АХИЛЛОВА СУХОЖИЛИЯ В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ПОСТМОРТАЛЬНОГО ПЕРИОДА

В. А. Повстяный

Резюме. Ахилловы сухожилия были изъяты из трупов людей с известным временем смерти, которые были условно разделены на интервалы (12-24 часов, 24-72 часов, 3-5 дней, 6-10 дней, 11-20 дней, более 20 дней). Для биохимического исследования были использованы стандартные методики используемые в процессе проведения клинических исследований. Кроме него было проведено гистологическое исследование фрагментов ахиллова сухожилия. При биохимическом исследовании скачкообразное увеличение ферментов определялось после 3-х суток смертного периода. Наблюдалось увеличение АЛТ на 2-3 день до 12 раз, а в период 6-10 дней в 40-50 раз, по сравнению с первыми часами после смерти. Аналогичные изменения, но менее выраженные, отмечается в отношении ЛДГ. В период 3-5 дней после смерти был отмечен рост количества продуктов распада белков, особенно мочевой кислоты (более чем в 10 раз). Изменения количества общих белков, альбуминов, холестерина также присутствуют, но менее выражены. В то же время количество лактата и мочевины практически не изменяется. Исследование микроэлементного состава ахиллова сухожилия выявило увеличение количества всех микроэлементов (особенно в натрия, меди и цинка), что возможно связано с развитием гемолитических явлений в ткани сухожилий. Возможность разведения жидкости из сухожилия дает возможность увеличить количество определяемых компонентов, увеличивает объем данных. В результате исследований, выявлены «скачки» концентрации многих веществ в ткани сухожилий, которые зависят от степени аутолиза и «повреждения биологических мембран». Во временном аспекте они могут быть пригодны для определения времени смерти.

Ключевые слова: время смерти, аутолиз, разложение, ахиллово сухожилие, белок, ферменты

CHANGES OF PROTEINS AND SEPARATE ENZYMES OF TISSUE OF THE ACHILLES TENDON IN THE DIFFERENT TERMS OF POSTMORTEM PERIOD

V. A. Povstyaniy

Summary. Diagnostics the time of death, in a late postmortem period, remains the judicial medicine's issue of the day. Attempts to decide this problem were done before too, most interesting works are works, where authors tried to study a body the dead "on the whole" on the different stages of rotting and used complex approaches to this problem.

Aim research: to learn the changes of decomposition products of proteins and change of separate enzymes of the Achilles tendon in the different terms of postmortem period.

Materials and methods research. Material was collected from the dead with the known terms of death, that were conditionally parted on intervals (12-24 hours, 24-72 hours, 3-5 days, 6-10 days, 11-20 days, more than 20 days). There was the worked out method of getting fluid from a tissue. This liquid was gathered and kept at a low temperature. For biochemical research were used standard methodologies, that are often used during realization of clinical researches. Except it histological research of fragments of the Achilles tendon was conducted.

Results of research. During realization of histological research a tendon was set that autolytic changes goes fluently. A saltatory increase is educed after the third time of postmortem period of enzymes. So the increase of ALT on a 2-3 a day to 12 times and in the period of a 6-10 days the increase of enzyme was marked in 40-50 times, in comparing to the first hours post mortem. Analogical changes, but less expressed, marked in the relation of LDH. In a period a 3-5 days after the death, was marked the growth of decomposition products of proteins, especially urinary acid (more than 10 times). Changes of amount general proteins, albumins, cholesterol also present, but less expressed. At the same time amount of lactat and urea does not change practically. Tendency to the increase of decomposition products of proteins wasn't noticed. Research of microelement composition of Achilles tendon educed the increase of amount of all microelements (especially to the natrium, copper and zinc, that, in our view, probably, related to development of the hemolitic phenomena in the tissue of tendon. Possibility of breeding the liquid from a tendon gives an opportunity to increase the amount of substances, and conduct the analysis of more data. As a result of researches, educed "jumps" of concentration of many substances in a tissue tendons, that depend on a degree and stage of development of process of autolysis and "damage of biological membranes" in mews of tendon, that approximately must be correlated with the morphological signs of autolysis and putrid transformation of tissues of dead body, and in a temporal aspect they can be suitable for reference establishment time of death.

Conclusions.

1. In the first day of postmortem period autolytic processes aren't noticeable in the Achilles tendon. Concentrations of proteins and enzymes are at minimum level.

2. On a 3-5 days as a result of development of autolysis there is a sharp increase of amount decomposition products of proteins and enzymes from exceeding of primary sizes in several times.

3. On a 6-10 days as a result of calming down and deceleration of process of autolysis there is tendency to the decline of amount of most certain components (except decomposition products, that continue to grow).

Keywords: time of death, autolysis, decomposition, Achilles tendon, protein, enzymes