

**Результати та висновки.** Досліджено динаміку посмертних змін величини статистичних моментів 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень ІЛІФ зображень ППЛ та виявлено, що статистичні моменти 1-го і 4-го порядків є найбільш чутливими для короткохвильової ділянки спектру випромінювання.

Динамічні зміни лазерних характеристик ППЛ показали ефективність даного методу для діагностики ДНС.

**Ключові слова:** давність настання смерті, ликвор, лазерна поляриметрия, автофлуоресценція.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНО-ИНДУЦИРОВАННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПОЛИКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ПЛЕНОК ЛИКВОРА

Гараздук М. С.

**Аннотация.** Определение давности наступления смерти (ДНС) является одним из наиболее проблемных вопросов судебно-медицинской практики. Перспективными являются оптические методы диагностики ДНС с использованием комплекса фотометрических, поляризационных и корреляционных методик.

**Цель работы:** Разработать и апробировать метод двухмерного картографирования флуоресценции биологических слоев для более точного определения ДНС путем статистического анализа динамики посмертных изменений координатных распределений интенсивности лазерно-индуцированной флуоресценции (ИЛИФ) поликристаллических пленок ликвора (ППЛ).

**Материалы и методы.** Объектом исследования являются ППЛ от 72 трупов (основная группа) с предварительно известным временем наступления смерти (причина смерти - сердечно-сосудистая патология), и 20 здоровых добровольцев (группа контроля).

Для каждого образца ППЛ определялись координатные распределения значений ИЛИФ изображения с последующим вычислением величины статистических моментов 1 - 4-го порядков и статистической обработкой измеренной совокупности их значений. Строились временные зависимости изменения величины наиболее чувствительных статистических моментов до достижения стабилизации значений.

**Результаты и выводы.** Исследована динамика посмертных изменений величины статистических моментов 1 - 4-го порядков, характеризующих распределения значений ИЛИФ изображений ППЛ и обнаружено, что статистические моменты 1-го и 3-го порядков являются наиболее чувствительными для коротковолнового участка спектра излучения. Динамические изменения лазерных характеристик ППЛ показали эффективность данного метода для диагностики ДНС.

**Ключевые слова:** давность наступления смерти, ликвор, лазерная поляриметрия, автофлуоресценция.

УДК 340.624.6:616-073.65

## ДИНАМІКА МІКРОСКОПІЧНИХ ЗМІН АХІЛЛОВОГО СУХОЖИЛКУ УПРОДОВЖ ДВОХ ТИЖНІВ ПІСЛЯ НАСТАННЯ СМЕРТІ

©Повстяний В.А.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

**Резюме.** В статті наведені результати гістологічного дослідження Ахіллового сухожилка у різні терміни після настання смерті. Вказано на можливість об'єктивізації оцінки змін що виникають у сполучній тканині в пізньому постмортальному періоді. Запропоновано спосіб визначення давності смерті, по змінам міжклітинної речовини та клітин внаслідок розвитку автолізу.

**Ключові слова.** Термін настання смерті, постмортальний період, сполучна тканина, автоліз.

**Актуальність теми.** Завжди інформація про давність настання смерті (ДНС) має важливе значення для слідчих органів [5,11]. Щоб вирішити цю проблему протягом багатьох років дослідники пропонували багато різних методів [2,7-16]. Більшість з цих методів призначена для використання у ранній постмортальний період (1-3 доби) [5]. Однак, на сьогодні, не існує загальноприйнятого остаточного методу для встановлення ДНС у випадку виявлення трупу у більш пізній термін [9]. Це зумовлено великою мінливістю умов, в яких перебуває труп, і індивідуальними особливостями померлого (ступінь вгодованості, наявність прижиттєвих захворювань, особливості мікрофлори) . Ці фактори призводять до значних коливань часового інтервалу при визначенні ДНС і відносності висновків експертів, які часто значно залежать від досвіду та ретельності фіксації даних первинного

огляду трупа [4]. Слід зазначити, що експерт при встановленні ДНС в пізньому постмортальному періоді, завжди дає висновок у ймовірній формі.

У зв'язку з розвитком інструментальних методів дослідження вони мають все більшу вагу при проведенні експертиз та досліджень, бо дозволяють об'єктивно реєструвати зміни та процеси в тканинах тіла. Використання такого підходу є виправданим з наступних причин:

Загальновідомо, що у різних органах та тканинах автоліз протікає з різною швидкістю. Дослідженнями [2] відмічено, що у термін 15-24 год. після смерті, автоліз спочатку у різних органах розвивається швидко, потім інтенсивність його спадає, після чого знову зростає до максимальних величин. Автором підмічено, що в залежності від органа зменшення інтенсивності процесу автолізу зміщується в часі на більш ранній, або пізній термін. Також ним вказано, що ймовірно, процеси автолізу, що виникають в тканинах після смерті знаходяться в залежності від тривалості посмертного періоду.

Морфологічні і морфометричні методи є доволі об'єктивними і були неодноразово використані для вирішення питання визначення ДНС. В літературі доступні данні про посмертні процеси в паренхіматозних органах і інших тканинах [1-3,7-16]. Дослідниками [3] вказано на те, що аналіз гістоморфометричним методом тканин з різною швидкістю розвитку автолізу (тих, в яких процеси автолізу відбуваються дуже швидко (підшлункова залоза, слизові оболонки, наднирники) і таких, в яких ці процеси йдуть повільно (сухожилля, хрящова тканина та тканина кісток)) може підвищити точність встановлення давності смерті. В доступній нам літературі, відсутні відомості про дослідження великих сухожилків з метою встановлення критеріїв для визначення давності смерті.

Отже, пошук нових методів та об'єктів (у тому числі тканин тіла), для вирішення вищевказаної проблеми є актуальним для судових медиків.

**Мета дослідження:** встановити особливості постмортальних гістологічних змін Ахіллового сухожилка.

**Матеріал і методи:** Матеріалом для дослідження були фрагменти Ахіллового сухожилка в кількості 16 об'єктів, отриманих під час автопсій людей віком 45-65 років (жінки – 7, чоловіки-9), померлих внаслідок природних причин. Середній вік склав  $54,5 \pm 4,56$  років. Давність смерті людей, з трупів яких вилучалися шматочки сухожилка складала від 5 годин до 10-11 діб. Матеріал був розділений на групи в залежності від давності настання смерті (таблиця 1).

Таблиця 1

Розподіл матеріалу дослідження в залежності від ДНС

| Інтервал посмертного періоду   | До 1- доби | 1-3 доби | 4-7 доби | Більше 8 діб |
|--------------------------------|------------|----------|----------|--------------|
| Кількість досліджених об'єктів | 3          | 5        | 5        | 3            |

Вилучені фрагменти сухожилків розміром 2x2x1 см занурювали в 10 % розчин формаліну, в якому вони фіксувались впродовж 24 годин. Мікропрепарати виготовлялися шляхом стандартної проводки і забарвлення гематоксиліном та еозином. [13]

Виконувалися цифрові фотографії мікропрепаратів (об'єктів 10 і 40), з подальшою оцінкою гістологічної картини на них. Оцінювався як стан міжклітинної речовини (чіткість волокон і наявність набряку їх) так і характеристики клітинних елементів (форма, наявність перичелюлярного набряку, набряку ядер і клітин, наявність руйнування клітин та мембран і проявів руйнування міжклітинної речовини).

Визначення балів проводилося за таким зразком (таблиця 2).

- чіткість волокон - 0 балів;
- початкове набухання волокон -1 бал;
- набряк волокон з частковою втратою структурності - 2 бали;
- значна гомогенізація міжклітинної речовини – 3 бали.
- перичелюлярний набряк лише навколо окремих клітин – 0 балів;
- поява перичелюлярного набряку біля багатьох клітин – 1 бал;
- наявність більшості значно гідратованих клітин – 2 бали;
- руйнування мембран клітин -3 бали.

Напівкількісна оцінка морфологічних змін сухожилка в залежності від ДНС

| Ознака в балах  | До 1-ї доби | 1-3 доби. | 4-7 діб. | Більше 8 діб |
|---|-------------|-----------|----------|--------------|
| Чіткі межі волокон  | 0           |           |          |              |
| Наявність початкового набухання волокон                             |             | 1         |          |              |
| Набряк волокон з частковою втратою структурності                    |             |           | 2        |              |
| Значна гомогенізація міжклітинної речовини                          |             |           |          | 3            |
| Перицелюлярний набряк лише навколо поодиноких клітин                | 0           |           |          |              |
| Наявність перицелюлярного набряку не менше ніж біля половини клітин |             | 1         |          |              |
| Набухання ядра і самих клітин                                       |             |           | 2        |              |
| Руйнування мембран клітин   |             |           |          | 3            |

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** За нашою думкою, в великих масивах сполучної тканини не повинні відбуватися процеси гниття, переважно руйнування її виникає за рахунок автолітичних змін. Бажано також, щоб досліджуваний об'єкт сполучної тканини не знаходився поруч з іншими органами.

Для виготовлення мікропрепаратів був вибраний Ахілловий сухожилок, як об'єкт відносно легко доступний для вилучення, при цьому він є відносно ізольованим від інших органів і не має великих живлячих судин.

На 1-у добу в тканині сухожилку практично були відсутні які-небудь зміни. Після 1-ої доби спостерігалися ознаки набряку клітинних елементів та міжклітинної речовини, але гідратація клітин розвивалася повільно (рис.1). На мікрофотографії наявні клітини з перицелюлярним набряком. Окремі ядра також починають набрякати. Міжклітинна речовина зберігає структурність, але відмічається набухання волокон. Коли трупи вже знаходилися у стадії по різному виражених гнильних змін, гістологічна картина тканини сухожилка характеризувалася наявністю гідратації клітин, зі збереженням зовнішньої оболонки клітин (при відсутності тотальної гомогенізації міжклітинної речовини), такі зміни спостерігалися до 4-7 діб після смерті (рис.2).

На мікрофотографіях чітко візуалізуються значно гідратовані клітинні елементи з руйнуванням ядра (в окремих клітинах) і втратою структурності міжклітинної речовини.

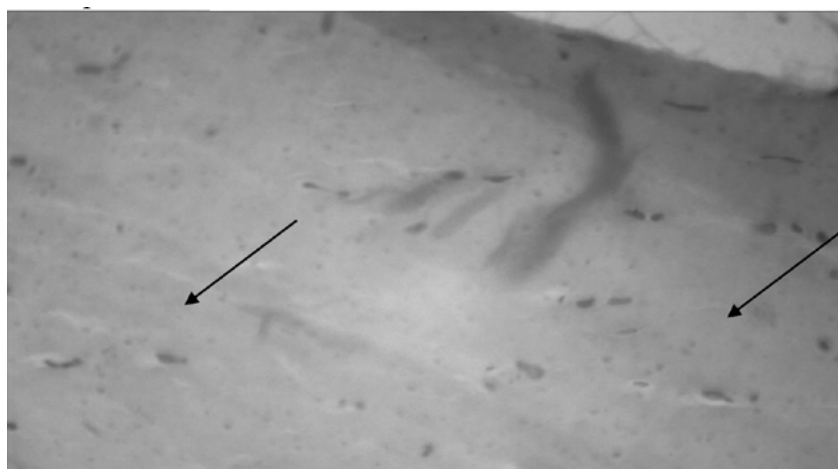


Рис. 1. Гістологічний препарат Ахіллового сухожилку від померлого чоловіка віком 55 років (3-тя доба після настання смерті). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x 200. Стрілками вказані клітини з перицелюлярним набряком.

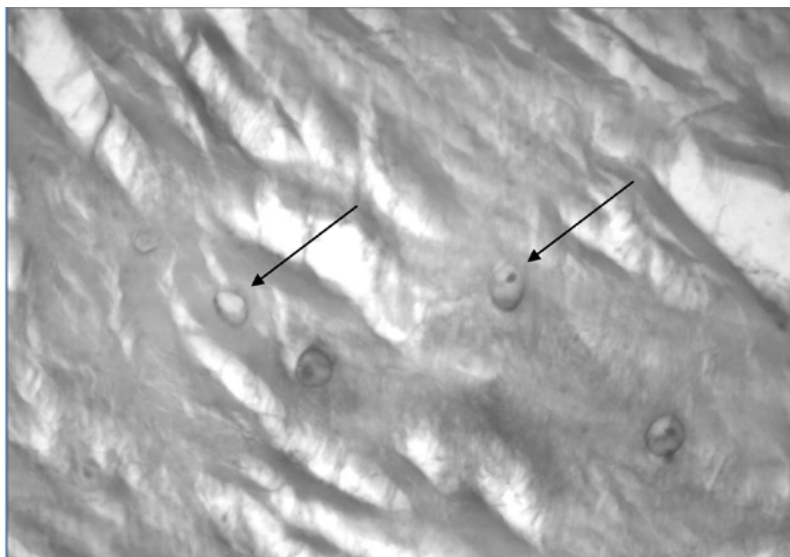


Рис 2. Гістологічний препарат Ахіллового сухожилку від померлого чоловіка віком 59 років (5-а доба після смерті). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x 200. Стрілками вказані набряклі клітини з цілим та зруйнованим ядром і цілою зовнішньою клітинною мембраною. Є виражене набрякання міжклітинної речовини.

Мікроскопічна картина змін міжклітинної речовини у вигляді вираженої гомогенізації та зникнення чіткості волокон її, разом з повним руйнуванням зовнішньої оболонки клітин виникали в пізні терміни постмортального періоду (рис.3). Частина вмісту ядер не піддавалася руйнуванню навіть після повного розпаду мембран, і залишалася у міжклітинному просторі (у нашому випадку така картина була відмічена не раніше ніж після 10-ї доби)

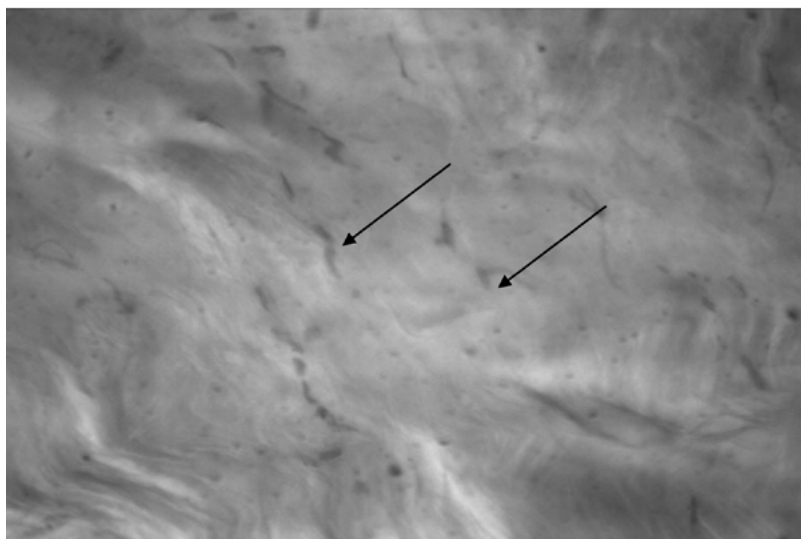


Рис 3. Гістологічний препарат Ахіллового сухожилку від померлого чоловіка віком 54 роки (10-11 діб після смерті). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x 200. Стрілками вказані залишки значно деформованих ядер серед гомогенізованої міжклітинної речовини.

У тканині сухожилку навіть в пізньому постмортальному періоді був відсутній розвиток гнильних процесів. Процеси автолізу клітин та гомогенізації міжклітинної речовини, пов'язані з дією ферментів клітин, розвиваються повільно і не пов'язані з розвитком гнильних процесів в інших органах і тканинах.

З урахуванням морфологічних змін у сухожилку після настання смерті та результатами напівкількісної оцінки, були встановлені цифрові інтервали в різні терміни після настання смерті. Так, до кінця 1-ої доби мікроскопічних змін в сухожилку не виявлено. На 1-3 добу виникав перичелюлярний набряк лише біля невеликої кількості клітин, а міжклітинна речовина залишалася без змін (0-1 бал). Для 4-5 доби був характерний виражений набряк клітин та значний набряк волокон міжклітинної речовини, іноді з помірною втратою структурності їх (3-4 бали). Після 8-11 діб постмортального періоду виникає повне руйнування клітинних мембран та гомогенізація міжклітинної речовини (5-6 балів).

**ВИСНОВКИ**

1. У продовж двох тижні після настання смерті в Ахіллового сухожилку спостерігаються характерні мікроскопічні зміни, які мають певну закономірність, та тенденцію з часом. Достовірні відмінні зміни, які візуалізуються на мікропрепаратах нами виявлялися в кінці 1 доби після настання смерті. Упродовж 1-3 днів зберігається в основному структура клітин і міжклітинної речовини. Переважають процеси набряку навколо клітин та у міжклітинній речовині. В період 4-7 днів зростає набряк усієї клітини і спостерігається зникнення перичелюлярного набряку, в той же час починає втрачатися чіткість волокон міжклітинної речовини внаслідок її руйнування (3-4 бали). Після 8 днів в основній масі сухожилля спостерігається зникнення мембранних структур клітин і значна гомогенізація міжклітинної речовини, без чіткої візуалізації клітинних і сполучно-тканинних елементів (5-6 балів).

2. Внаслідок особливостей будови сполучної тканини (велика її щільність, слабка гідрофільність) процес автолізу в ній є значно розтягнутим в часі. Ці особливості протікання процесів автолізу в сполучній тканині дають можливість використання результатів дослідження Ахіллового сухожилку з метою визначення ДНС.

**Література**

1. **Лушников Е.Ф.** Аутолиз (морфология и механизмы развития) / Лушников Е.Ф., Шапиро Н.А.- Москва: 1974. – 97 с.
2. **Шорохов А.Е.** О динамике аутолиза в эксперименте / Гистохимия в нормальной и патологической морфологии под ред Субботина М.Я. // Новосибирск. – 1967.- С 385-386.
3. **Пиголкин Ю. И.** Возможности гистоморфометрии в судебно-медицинской теории и практике / Морфометрические подходы к диагностике давности наступления смерти / Пиголкин Ю. И., Богомолова И. Н., Богомолов Д. В., Аманмурадов А. Х. // Проблемы экспертизы в медицине - 2001.- № 4. - том 1. - С. 31-35.
4. **Долгова О. Б.** К проблеме обоснованности вывода о давности наступления смерти / Долгова О. Б. Соколова С. Л., Вишневский Г. А., Кондрашов Д. Л., Александров А. А. // Российский юридический журнал - 2012. - N 1. – С. 164-170.
5. **Крюков В.Н.** Методологические аспекты давности установления смерти / Крюков В.Н. Новиков П.И., Попов В.Г., Власов А.Ю., Швед Е.Ф. // Судебно-медицинская экспертиза - 1991. - №3.- С. 5-9.
6. **Семченко В.В.** Гистологическая техника / Учебное пособие. под редакцией, В.В.Семченко С.А.Барашкова, В.Н. Ноздрина, В.Н.Артемьева - Омск-Орёл: Омская областная типография : 2006. - 290 с.
7. **Yadav A.B.** Histological assessment of cellular changes in postmortem gingival specimens for estimation of time since death / Yadav A.B., Angadi P.V., Kale A.D., Yadav S.K. // J Forensic Odontostomatol. -2015 Jul 1; -p.19-26. Mode of access: World Wide Web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26851446>
8. **Slobodan B.** Chemometric estimation of post-mortem interval based on Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> concentrations from human vitreous humour by linear least squares and artificial neural networks modeling / Slobodan B. Gadzurica, Sanja O. Podunavac Kuzmanovicb, Aleksandar I. Jokicc, Milan B. Vranesa, Niksa Ajdukovicd & Strahinja Z. Kovacevicb // Australian Journal of Forensic Sciences, Volume 46, Issue 2, 2014. –p.166-179. Mode of access: World Wide Web: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00450618.2013.825812?journalCode=tajf20>
9. **Fernanda Sampaio-Silva.** Profiling of RNA Degradation for Estimation of Post Mortem Interval / Fernanda Sampaio-Silva Teresa Magalhães, Félix Carvalho // PLoS One. 2013; 8(2). Mode of access: World Wide Web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23437149>
10. **Nilesh Keshav Tumram.** Postmortem analysis of synovial fluid and vitreous humour for determination of death interval: A comparative study / Nilesh Keshav Tumram Rajesh Vajjnathrao Bardale, Anand Paikuiji Dongre // Forensic Science International, Volume 204, Issues 1–3, 30 January. – 2011. -p. 186–190. Mode of access: World Wide Web: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073810002896>
11. **Stephanie T.** Estimating postmortem interval using RNA degradation and morphological changes in tooth pulp / Stephanie T. Young Jeffrey D. Wells Gerald R. Hobbs Clifton P. Bishop. // Forensic Science International Volume 229, Issues 1–3, 10 June 2013, Pages 163. Mode of access: World Wide: Web : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073813001916>
12. **Tingyi Sun Tiantong.** Interpolation function estimates post mortem interval under ambient temperature correlating with blood ATP level / Tingyi Sun Tiantong, YangYang Haidong, Zhang Luo Zhuo // Alexandria Journal of Medicine Volume 48, Issue 4, December 2012, Pages 335–344. Mode of access: World Wide: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090506812000498>
13. **Saskia Reibe-Pal.** Calculating time since death in a mock crime case comparing a new computational method (ExLAC) with the ADH method / Saskia Reibe-Pal, Burkhard Madea // Forensic Science International, Volume 248, March 2015, Pages 78–81. Mode of access: World Wide: [http://www.fsijournal.org/article/S0379-0738\(14\)00541-6/abstract](http://www.fsijournal.org/article/S0379-0738(14)00541-6/abstract)

14. **Abo El-Noor MM.** Estimation of Early Postmortem Interval Through Biochemical and Pathological Changes in Rat Heart and Kidney / Abo El-Noor MM, Elhosary NM, Khedr NF, El-Desouky KI // *Am J Forensic Med Pathol.* 2016 Mar;37(1):40-6. Mode of access: World Wide: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26730800>
15. **Cantürk İ.** An experimental evaluation of electrical skin conductivity changes in postmortem interval and its assessment for time of death estimation / Cantürk İ, Karabiber F, Çelik S, Şahin MF, Yağmur F, Kara S // *Am J Forensic Med Pathol.* 2016 Mar;37(1):40-6. Mode of access: World Wide: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26751404>
16. **Vacchiano G.** The cholesterol levels in median nerve and post-mortem interval evaluation / Vacchiano GMaldonado AL, Ros MM, Di Lorenzo P, Pieri M // *Forensic Sci Int.* 2016 Jan 18;265:29-33. Mode of access: World Wide: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26826850>

## ДИНАМИКА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ АХИЛЛОВОГО СУХОЖИЛИЯ НА ПРОТЯЖЕНИИ ДВУХ НЕДЕЛЬ ПОСЛЕ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ

**Повстяный В. А.**

**Актуальность.** В данной статье рассматривается вопрос определения времени смерти, особенно через 2-3 суток после наступления смерти. **Цель исследования.** Оценка изменений, которые возникают в ткани Ахиллового сухожилия в разные временные интервалы посмертного периода. **Материалы и методы.** Исследовались гистологические срезы ткани Ахиллового сухожилия. Материал отбирался из трупов людей возрастом 45-65 лет, с давностью смерти 5 часов - 11 суток. Установлены особенности микроскопической картины соединительной ткани в разные сроки наступления смерти. Эти изменения характеризовались нарастанием процессов деструкции межклеточного вещества и отеком клеток, вплоть до полного их разрушения. **Выводы:** В ткани Ахиллового сухожилия в посмертном периоде, процессы аутолиза развиваются постепенно. Постепенное разрушение клеток соединительной ткани, позволяет использовать это явление для установления давности наступления смерти.

**Ключевые слова:** давность смерти, аутолиз, соединительная ткань, посмертный период.

## DYNAMICS OF MICROSCOPIC CHANGES OF THE ACHILLES TENDON FOR TWO WEEKS AFTER THE DEATH

**Povstyaniy V.**

**Actuality.** This article discusses the question of determining the time of death. To date, there is no common method of establishing prescription of death, especially after 2-3 days after the onset of death.

**Aim research.** Evaluation of changes that occur in the tissue of the Achilles tendon at various time of post-mortem period. **Materials and Methods.** The histological microscopic sections of the Achilles tendon were investigated. The material was collected from the people corpses at the age of 45-65 years, with the death prescription from 5 hours to 11 days. The peculiarities of microscopic picture in the connective tissue have been ascertained on different stages after death on the basis of the histological preparations' investigation. These changes were characterized by the increasing of processes destruction of intercellular matrix and by cells' edema until their complete decay.

**Conclusions** 1. In the post-mortem period process of autolysis in the tissue of the Achilles tendon develops slowly. 2. The gradual destruction of the connective tissue cells, allow using this phenomenon for determining the time of death.

**Keywords:** time of death, autolysis, connective tissue, post-mortem period.