

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

DOI: <https://doi.org/10.24061/2707-8728.1.2022.6>

УДК: 340.66:616.831-001.31-005.1/.4-005.8

### ДИФЕРЕНЦІЙНІ МОЖЛИВОСТІ МЕТОДУ ЗАБАРВЛЕННЯ ГІСТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ЗА ПЕРЛСОМ ДЛЯ ВСТАНОВЛЕННЯ ДАВНОСТІ УТВОРЕННЯ КРОВОВИЛИВУ ТРАВМАТИЧНОГО ТА НЕТРАВМАТИЧНОГО ГЕНЕЗІВ У РЕЧОВИНУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Гараздюк М.С.

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Резюме.** Верифікація точного часу утворення крововиливів у речовину головного мозку людини (РГМЛ) травматичного (КТГ) та нетравматичного (КНГ) генезів дає можливість значно звузити коло підозрюваних у разі скоєння злочину проти життя людини.

**Мета роботи.** Розробка судово-медичних критеріїв діагностики давності утворення крововиливів травматичного та нетравматичного генезів методом світлової мікроскопії гістологічних зрізів речовини головного мозку людини.

**Матеріали та методи.** Для дослідження використовувалися забарвлені за методом Перлса гістологічні препарати головного мозку 80 трупів з відомим часом утворення крововиливу від 2 до 15 діб, згідно з даними медичних документів: у випадку смерті від КНГ – 30 гістологічних зразків (I група), смерті від КТГ – 30 гістологічних зразків (II група), для контролю були обрані препарати мозку у випадку смерті від ішемічної хвороби серця – 20 зразків (III група).

**Результати.** Проаналізувавши наявні гістопрепарати, виявили, що відповідні часові залежності давності утворення крововиливів не лінійні, а, навпаки, мають коливання власних значень – нерівномірну появу пігменту в РГМЛ з поступовим збільшенням часу з моменту утворення крововиливів різного генезу.

**Висновок.** Гістологічне дослідження мікропрепаратів речовини головного мозку, забарвлених за методом Перлса, не є ефективним для встановлення давності утворення крововиливів.

**Ключові слова:** геморагічний інфаркт головного мозку, травматичний крововилив, судова медицина, гістологія.

**Вступ.** Давність утворення тілесних ушкоджень завжди була одним з ключових питань, поставлених на вирішення судово-медичному експерту органами слідства. [1] Практично в кожній постанові запитується про те, чи є на трупі тілесні ушкодження, їхню давність і в якому причинному зв'язку з фактом настання смерті вони знаходяться.

Колектив науковців на чолі з проф. В. Бачинським досягнув значних успіхів у розв'язанні проблеми встановлення зажиттевості та часу утворення тілесних ушкоджень на шкірі та гематом паренхіматозних органів, використавши у своїх дослідженнях новітні лазерно-оптичні методи. [2,3] V. Mahalakshmi та співавт. [4] запропонували застосовувати гістологічний метод для оцінки давності перебігу процесів у перші години після настання смерті, оскільки у своїх дослідженнях вони помітили, що аутолітичні зміни, які відбуваються в зажиттєво відібраній і надалі не зафіксованій тканині ясен, гістологічно відбивають аналогічні зміни в цій тканині в ранньому посмертному періоді. [4]

Загалом слід зазначити, що гістологічний метод є «золотим стандартом» діагностики причини настання смерті, встановлення зажиттевості та давності процесів у біологічних тканинах у судово-медичній практиці. [5-7] Досягнення поставлених завдань базується на основі мікроскопічного

аналізу репрезентативних зразків біологічних тканин, вилучених у трупа під час розтину, також враховуються дані макроскопічного дослідження, отримані в ході здійснення розтину. Передумовою ефективної діагностики є дотримання стандартів якості проведення гістологічних досліджень.

**Мета роботи.** Розробка судово-медичних критеріїв діагностики давності утворення крововиливів травматичного та нетравматичного генезів методом світлової мікроскопії гістологічних зрізів речовини головного мозку людини.

**Матеріали та методи.** Для дослідження використовувалися забарвлені за методом Перлса гістологічні препарати головного мозку 80 трупів з відомим часом утворення крововиливу від 2 до 15 діб, згідно з даними медичних документів: у випадку смерті від КНГ – 30 гістологічних зразків (І група), смерті від КТГ – 30 гістологічних зразків (ІІ група), для контролю були обрані препарати мозку у випадку смерті від ішемічної хвороби серця – 20 зразків (ІІІ група).

Як метод дослідження застосовувалася світлова мікроскопія гістологічних препаратів мозку при збільшенні в 400 разів (для виявлення наявних у РГМЛ морфологічних змін), забарвлених за методом Перлса (реакція на берлінську лазур). Для проведення дослідження були необхідні наступні реактиви: 1 % розчин соляної кислоти та 2 % розчин жовтої кров'яної солі  $[K_4Fe(CN)_6]$ .

Методика дослідження полягала в наступному:

- 1) гістологічні зрізи РГМЛ збирали в чашку з дистильованою водою та переносили (скляними голками) в свіжу суміш двох вищевказаних розчинів з розрахунку 1-2 краплі 2 % розчину жовтої кров'яної солі на 1 мл 1 % соляної кислоти. У цій суміші зрізи залишали до набуття ними синього кольору;
- 2) надалі зразки промивали в дистильованій воді 5-10 хв;
- 3) наступним кроком було дофарбування зрізів у галуновому карміні Гренахера (10-20 хв);
- 4) на завершення зрізи промивали, зневоднювали, просвітлювали та заключали в канадський бальзам.

Статистична оцінка отриманих даних проводилася шляхом використання непараметричного критерію Крускала-Уолліса.

**Результат фарбування.** Метод забарвлення за Перлсом поширений у гістологічній практиці для виявлення в тканинах сполук феруму. [8,9] Така реакція можлива за наявності гемохроматозів, при розсмоктуванні крововиливів, використовується для діагностики гемосидерозу – станів, при яких у тканинах наявний надлишок сполук феруму. Що характерно, в реакції використовується не готовий реагент для фарбування, а візуалізується пігмент, утворений безпосередньо в тканині, що пов'язано з присутністю сполук феруму та розцінюється як позитивна реакція. При мікроскопічному дослідженні гістопрепарату, забарвленого за Перлсом, солі феруму внаслідок взаємодії з кров'яною сіллю зафарбовуються в синій колір. Інтенсивний яскраво-синій колір берлінської лазури зумовлений, ймовірно, одночасною наявністю феруму в різних ступенях окиснення (2- та 3-валентний ферум), оскільки наявність у сполуках атомів одного елемента в різних ступенях окиснення часто призводить до появи або посилення яскравості кольору.

**Результати дослідження.** Утворення крововиливу в РГМЛ з наступним масивним розпадом червоних кров'яних тілець призводить до накопичення в ній залізовмісних продуктів розпаду. [10] Унаслідок таких процесів ферум з'являється там, де його в нормі не мало б бути.

Провівши дослідження зразків речовини головного мозку з крововиливами різного генезу та різного часу утворення методом світлової мікроскопії гістологічних препаратів РГМЛ, забарвлених за методом Перлса, виявили:

- 1) КНГ (зразки 3-15 діб): реакція на гемосидерин була позитивною – в ділянках крововиливу та некрозу; скупчення гемосидерину й окремі його грудки (рис. 1). Гемосидерин був наявним у 24 з 30 зразків з різним ступенем яскравості берлінської лазури. У мікропрепаратах 6- та 15-денного крововиливу пігмент був яскраво-блакитного кольору, в 10- та 13-денних з моменту утворення крововиливу зразках він мав блідо-блакитний колір. У зразках РГМЛ з КНГ давністю 3 доби гемосидерин взагалі не візуалізувався, так само як і в 7-денному зразку;

- 2) КТГ (зразки 2-12 діб): у ділянці РГМЛ реакція на гемосидерин була слабо позитивною – у вогнищах крововиливів місцями зустрічалися дрібні грудки гемосидерину (рис. 2) інтенсивного блакитного кольору, зокрема в 10-денному препараті. У 2-, 3-, 6- й 11-денних зразках пігмент був відсутнім. Можливо, цей факт зумовлений порівняно малим об'ємом крововиливу;
- 3) ІХС (зразки 2-14 діб): у зразках РГМЛ сліди гемосидерину виявлені не були.

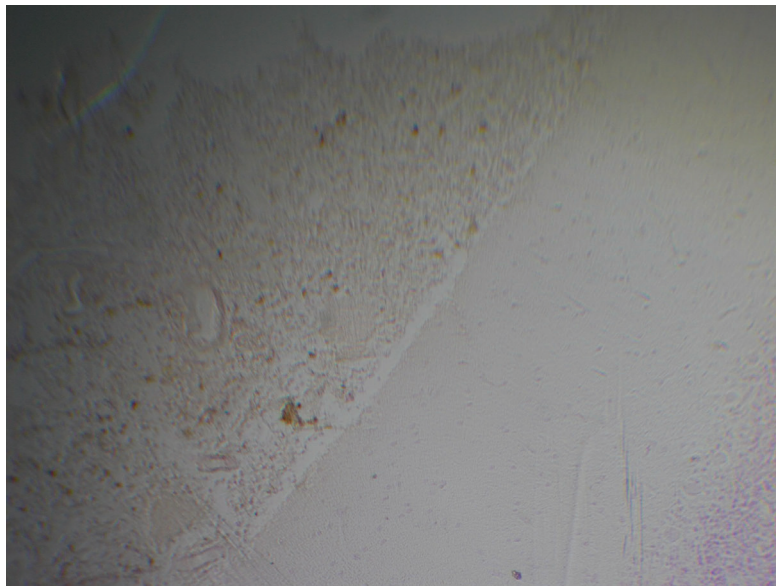


Рис. 1. Крововилив нетравматичного генезу (13 діб), збільшення мікроскопа  $\times 400$ : 1 – реакція на гемосидерин слабо позитивна – в ділянках крововиливу та некрозу. Скупчення гемосидерину й окремі його грудки.

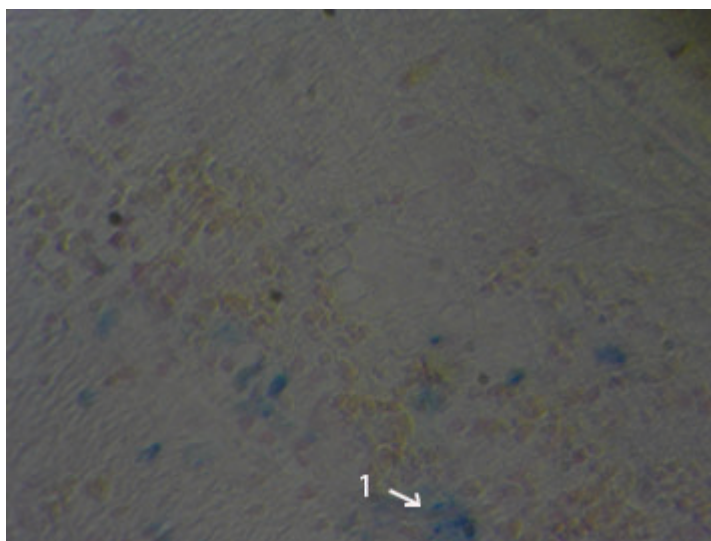


Рис. 2. Крововилив травматичного генезу (10 діб), збільшення мікроскопа  $\times 400$ : 1 – у вогнищах крововиливів місцями зустрічаються дрібні грудки гемосидерину.

Був проведений статистичний аналіз наявності гемосидерину в зразках РГМЛ залежно від давності настання крововиливу. При порівнянні не було виявлено статистично вірогідної різниці ( $\chi^2=6,04$ ;  $df=5$ ;  $P=0,112$ ) між групами КНГ та КТГ, що підтверджувало дані, отримані при попередньому аналізі зразків.

Проаналізувавши наявні гістопрепарати, встановили, що відповідні часові залежності давності утворення крововиливів не лінійні, а, навпаки, мають коливання власних значень – нерівномірну появу пігменту в РГМЛ з поступовим збільшенням часу з моменту утворення крововиливів різного генезу.

**Висновок.** Враховуючи той факт, що не завжди можна виявити пігмент у зразку, та відсутність прямої залежності появи гемосидерину від давності утворення крововиливу, можна зробити висновок, що гістологічний метод дослідження препаратів мозку не дає точної й об'єктивної інформації щодо давності утворення крововиливів, тобто не є ефективним для використання з цією метою в рутинній судово-медичній практиці. Проаналізувавши наявні гістопрепарати, встановили, що відповідні часові залежності давності утворення крововиливів не лінійні, а, навпаки, мають коливання власних значень – нерівномірну появу пігменту в речовині головного мозку людини з поступовим збільшенням часу з моменту утворення крововиливів різного генезу. Проте проведені дослідження свідчать про наявність змін у структурі речовини головного мозку людини. Тому актуальним є продовження пошуку інших об'єктивних методів діагностики давності утворення крововиливу в речовину головного мозку людини залежно від його генезу.

### Література

1. Хохлов ВВ. Судебная медицина: Руководство. Смоленск; 2010. 992 с.
2. Bachinskyi V, Boychuk T, Ushenko A. Laser polarimetry of biological tissues and fluids. Lap Lambert Academic Publishing; 2017. 204 p.
3. Беженар ІЛ. Встановлення часового характеру ушкоджень шкіри на основі аналізу спектрів потужності кутів нахилу мікронерівностей її шорсткої поверхні. Буковинський медичний вісник. 2008;12(2):127-9.
4. Mahalakshmi V, Gururaj N, Sathya R, Sabarinath TR, Sivapathasundharam B, Kalaiselvan S. Assessment of histological changes in antemortem gingival tissues fixed at various time intervals: A method of estimation of postmortem interval. J Forensic Dent Sci. 2016;8(2):114. doi: 10.4103/0975-1475.186373
5. Kostadinova-Petrova I, Mitevska E, Janeska B. Histological Characteristics of Bruises with Different Age. Open Access Maced J Med Sci. 2017;5(7):813-7. doi: 10.3889/oamjms.2017.207
6. Dettmeyer RB. The role of histopathology in forensic practice: an overview. Forensic Sci Med Pathol. 2014;10(3):401-12. doi: 10.1007/s12024-014-9536-9
7. Fronczek J, Hollingbury F, Biggs M, Rutty G. The role of histology in forensic autopsies: is histological examination always necessary to determine a cause of death? Forensic Sci Med Pathol. 2014;10(1):39-43. doi: 10.1007/s12024-013-9496-5
8. Коржевский ДЭ, Гиляров АВ. Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: СпецЛит; 2010. 95 с.
9. Луцик ОД, Чайковський ЮБ, редактори. Гістологія. Цитологія. Ембріологія: підручник. Вінниця: Нова Книга; 2018. 592 с.
10. Radakovich LB, Olver Ch S. Pigments: Iron and Friends. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2017;47(1):17-29. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.07.002

### References

1. Khokhlov VV. Sudebnaya meditsina: Rukovodstvo [Forensic Medicine]. Smolensk; 2010. 992 s. (in Russian)
2. Bachinskyi V, Boychuk T, Ushenko A. Laser polarimetry of biological tissues and fluids. Lap Lambert Academic Publishing; 2017. 204 p.
3. Bezhenar IL. Vstanovlennia chasovoho kharakteru ushkodzen' shkiry na osnovi analizu spektriv potuzhnosti kutiv nakhylyu mikronerivnostei yii shorstkoi poverkhni [Establishing the temporal character of skin injuries based on an analysis of slope capacity spectra of microirregularities of its rough surface]. Bukovyns'kyi medychnyi visnyk. 2008;12(2):127-9. (in Ukrainian)
4. Mahalakshmi V, Gururaj N, Sathya R, Sabarinath TR, Sivapathasundharam B, Kalaiselvan S. Assessment of histological changes in antemortem gingival tissues fixed at various time intervals: A method of estimation of postmortem interval. J Forensic Dent Sci. 2016;8(2):114. doi: 10.4103/0975-1475.186373



5. Kostadinova-Petrova I, Mitevska E, Janeska B. Histological Characteristics of Bruises with Different Age. Open Access Maced J Med Sci. 2017;5(7):813-7. doi: 10.3889/oamjms.2017.207
6. Dettmeyer RB. The role of histopathology in forensic practice: an overview. Forensic Sci Med Pathol. 2014;10(3):401-12. doi: 10.1007/s12024-014-9536-9
7. Fronczek J, Hollingbury F, Biggs M, Ruttly G. The role of histology in forensic autopsies: is histological examination always necessary to determine a cause of death? Forensic Sci Med Pathol. 2014;10(1):39-43. doi: 10.1007/s12024-013-9496-5
8. Korzhevskiy DE, Gilyarov AV. Osnovy gistologicheskoy tekhniki [Fundamentals of histological technique]. Sankt-Peterburg: SpetsLit; 2010. 95 s. (in Russian)
9. Lutsyk OD, Chaikovs'kyi YuB, redaktory. Histolohiia. Tsytolohiia. Embriolohiia: pidruchnyk [Histology. Cytology. Embryology]. Vinnytsia: Nova Knyha; 2018. 592 s. (in Ukrainian)
10. Radakovich LB, Olver Ch S. Pigments: Iron and Friends. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2017;47(1):17-29. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.07.002

## DIFFERENTIAL POSSIBILITIES OF THE METHOD OF STAINING HISTOLOGICAL SPECIMENTS BY PERLS FOR ESTABLISHING THE TIME OF FORMATION OF TRAUMATIC AND NONTRAUMATIC GENESIS HEMORRHAGES

**Garazdiuk M.S.**

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

**Summary.** Verification of the exact time of formation of hemorrhages in the human brain (HB) of traumatic (HTG) and non-traumatic (HNG) genesis makes it possible to significantly narrow the circle of suspects in the case of a crime against human life.

**Aim of the work.** Developing of forensic criteria for the diagnosis of the age of formation of hemorrhages of traumatic and non-traumatic genesis by light microscopy of histological sections of human brain.

**Materials and methods.** For the study used stained histological specimens of the brain from 80 corpses with a known time of hemorrhage from 2 to 15 days, according to medical documents: in case of death from HNG – 30 histological specimens (1 group), death from HTG – 30 histological samples (group 2), brain preparations in case of death from coronary heart disease were selected for control – 20 samples (group 3).

**Results.** Analyzing the available histopreparations, it was found that the corresponding time dependences of the age of hemorrhage are not linear, but on the contrary have fluctuations in their values – uneven appearance of pigment in HB with a gradual increase in time since the formation of hemorrhages of different genesis.

**Conclusion.** Histological examination of micropreparations of the substance of the brain, stained by the method of Pearls, is not effective for determining the age of hemorrhage.

**Keywords:** hemorrhagic cerebral infarction, traumatic hemorrhage, forensic medicine, histology.

### **Відомості про автора:**

Гараздюк М. С. – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри судової медицини та медичного правознавства Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, Україна, e-mail: m.garazdiuk@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-1536-4440

### **Information about author:**

Garazdiuk M. S. – PhD, Associate Professor of Forensic Medicine and Medical Law Department, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine, e-mail: m.garazdiuk@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-1536-4440