

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

КОНОВАЛ НАТАЛІЯ СТАНІСЛАВІВНА

УДК 340.6:616.74-091.8(043.3)

**РАННІ ПОСТМОРТАЛЬНІ СТРУКТУРНО-БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ У М'ЯЗАХ
ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ДАВНОСТІ НАСТАННЯ СМЕРТІ**

14.01.25 – судова медицина

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Харківському національному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Ольховський Василь Олексійович,
Харківський національний медичний університет,
МОЗ України,
професор кафедри судової медицини,
медичного правознавства ім. засл. проф. М.С. Бокаріуса

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Гуров Олександр Михайлович,**
Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України,
завідувач кафедри судово-медичної експертизи;
- доктор медичних наук, професор **Біляков Андрій Миколайович,**
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України,
професор кафедри судової медицини.

Захист відбудеться «14» травня 2021 р. о 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті (61022, м. Харків, пр. Науки, 4).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Харківського національного медичного університету (61022, м. Харків, пр. Науки, 4).

Автореферат розісланий «12» квітня 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
канд. мед. наук, доцент

О.М. Плітень

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В умовах всесвітньої глобалізації, коли в більшості країн особливо стрімко настає перебудова систем охорони здоров'я, надзвичайно важливо оцінювати ефективність системи за об'єктивними критеріями. В даному випадку, це стосується і судово-медичної галузі (Михайличенко Б.В., 2016; Бачинський В.Т., 2018; Martíneza P.N., 2019; Zou Y., 2020). Судова медицина, будучи прикладною наукою, спирається на фундаментальні, інтеграція з якими сприяє її вдосконаленню в цілому і відповіді на питання про давність настання смерті в тому числі (Мішалов В.Д., 2018).

Сучасні тенденції вітчизняних та іноземних фахівців з судової медицини щодо розробки новітніх критеріїв визначення давності настання смерті (ДНС) зводяться до впровадження у судово-медичну практику нових високотехнологічних методик, комплексу сучасних технік, розробки нових, глобальних підходів до визначеної проблеми (Ванчуляк О.Я., 2015; Гараздюк М.С., 2018). Та поряд з розробками новітніх методик, інші науковці йдуть шляхом удосконалення вже відомих методик (Гладких Д.Б., 2015; Борщ С.С., 2018; Гуров О.М., 2018).

Проте, не зважаючи на велику кількість досліджень, проблема і досі не має однозначного вирішення, оскільки більшість проведених наукових досліджень мають суперечливий характер, а отримані результати мають велику похибку. Часто новітні оригінальні методи не знаходять широкого практичного використання через високу вартість, складність технології, а також вплив людського фактору на отримання результатів, оскільки для їхньої правильної інтерпретації експерт повинен володіти спеціальними знаннями та мати достатній для цього практичний досвід (Ольховський В.О., 2019).

У результаті чого, практика проведення судово-медичних експертиз в аспекті встановлення ДНС показує, що традиційно застосовуються методики на основі визначення ступеню розвитку трупних явищ. Подібне догматичне застосування, частіше за все, ступеню розвитку трупних плям як критерію визначення ДНС, являється гарантією неточності через велику кількість ендогенних та екзогенних факторів, що впливають на динаміку їх розвитку (Моргун А.О., Хижняк В.В., 2018).

Наведене вище показує, що діагностика ДНС, залишається одним з пріоритетних завдань сучасної судової медицини як в практичному так і науково-теоретичному відношенні, до якої постійно прикута увага судових медиків та правоохоронних органів (Повстяний В.А., 2018; Cordeiro C., 2019). Адже, від встановлення ДНС значною мірою залежить ефективність розслідування тяжких злочинів, що стосуються протиправних дій проти життя людини.

На сьогоднішній день різними авторами, з використанням великого арсеналу методів досліджувались практично всі органи та тканини і тому часто науковці зіштовхуються з суттєвими розбіжностями. Тому, все більшої актуальності набувають комплексні методи діагностики ДНС, основані на одночасному поєднанні кількох методик або паралельному дослідженню кількох діагностичних зон у певні терміни після настання смерті (Mazzotti M.C., 2019, Focardi M., 2020).

Таким чином, тільки комплексний підхід до вирішення актуальної задачі, у

поєднанні з пошуком сучасних та водночас дешевих і простих у застосуванні методів діагностики ДНС, забезпечить необхідні результати. Тому концепція дисертаційного дослідження побудована на комплексному підході до вивчення різних типів м'язової тканини (МТ) у певному часовому інтервалі, за рахунок інформативних показників структурно-біохімічного стану.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри судової медицини, медичного правознавства імені заслуженого професора М.С. Бокаріуса Харківського національного медичного університету МОЗ України (ХНМУ) «Судово-медичні діагностичні ознаки при експертному обґрунтуванні визначення ступеня тяжкості тілесних ушкоджень, давності та причини смерті» (№ державної реєстрації 0118U000951, 2018–2020 рр.). Здобувачка є безпосередньою виконавицею фрагменту науково-дослідної роботи стосовно визначення судово-медичних критеріїв встановлення ДНС. Тема затверджена на засіданні вченої ради ХНМУ 15.06.2017 р. (протокол № 6), зміни в назві теми, яка є дійсною, затверджені на засіданні вченої ради ХНМУ 14.06.2018 р. (протокол № 6).

Мета дослідження: удосконалення судово-медичної діагностики давності настання смерті у ранній постмортальний період за рахунок інформативних показників структурно-біохімічного стану м'язової тканини у часовому інтервалі 3–13 годин після настання смерті.

Завдання дослідження:

1. Дослідити динаміку кількісного вмісту глікогену в міокарді, діафрагмальних, міжреберних м'язах та м'язах стравоходу у часових інтервалах 3–13 годин після настання смерті.

2. Дослідити динаміку рівня активності кислої фосфатази в міокарді, діафрагмальних, міжреберних м'язах та м'язах стравоходу у часових інтервалах 3–13 годин після настання смерті.

3. Дослідити динаміку кількісного вмісту лактату в міокарді, діафрагмальних, міжреберних м'язах та м'язах стравоходу у часових інтервалах 3–13 годин після настання смерті.

4. Дослідити динаміку рівня активності лактатдегідрогенази в міокарді, діафрагмальних, міжреберних м'язах та м'язах стравоходу у часових інтервалах 3–13 годин після настання смерті.

5. Дослідити динаміку кількісного вмісту ліпофусфину в міокарді, діафрагмальних, міжреберних м'язах та м'язах стравоходу у часових інтервалах 3–13 годин після настання смерті.

6. Дослідити динаміку рівня активності холінестерази в міокарді, діафрагмальних, міжреберних м'язах та м'язах стравоходу у часових інтервалах 3–13 годин після настання смерті.

7. Визначити морфологічні зміни в міокарді, діафрагмальних, міжреберних м'язах та м'язах стравоходу у часових інтервалах 3–13 годин після настання смерті.

8. Розробити алгоритм судово-медичної діагностики давності настання смерті за структурно-біохімічними змінами в міокарді, діафрагмальних, міжреберних м'язах та м'язах стравоходу у часових інтервалах 3–13 годин після настання смерті.

Об'єкт дослідження: зміни структурно-біохімічного стану м'язової тканини в ранньому постмортальному періоді.

Предмет дослідження: ранні постмортальні структурно-біохімічні зміни у м'язах для діагностики давності настання смерті.

Методи дослідження: гістологічні (фарбування гематоксилін-еозином, за Малорі), постановка гістохімічної реакції на сумарні нуклеїнові кислоти галоціанінхромовими галунами за Ейнарсеном; цитофотометричний; кінетичні методи визначення активності ферментів; ензиматичний фотометричний метод; методи Кемпа та Волчегорського; математико-статистичного аналізу: кількісний аналіз, варіаційна статистика, метод інформаційного аналізу факторних комплексів, елементи дисперсійного аналізу для якісних ознак нерівномірних комплексів і кореляційний аналіз.

Наукова новизна одержаних результатів. На основі проведених комплексних досліджень вперше здійснено систематизоване порівняльне вивчення діагностичної цінності морфологічних та біохімічних змін різних видів МТ в ранній постмортальний період (РПП), зокрема:

- дістала подальшого розвитку та практичного наповнення концепція системності постмортальних змін, зокрема вперше визначена діагностична цінність постмортальних змін цитофотометричних (відносної оптичної щільності (ВОЩ) ядер та саркоплазми міоцитів) та біохімічних (концентрація у м'язах глікогену (Гл), лактату (Лт), ліпофусцину (Лф) та рівень активності кислої фосфатази (КФ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), холінестерази (ХЕ)) критеріїв оцінки стану різних типів м'язів у часовому інтервалі 3–13 годин після настання смерті;

- вперше досліджено динаміку морфологічних змін (гістологічних та цитофотометричних, зокрема – відносної оптичної щільності ядер та саркоплазми) міокарду, міжреберної МТ, діафрагмальної МТ, МТ стравоходу, в різні часові інтервали після настання смерті (3–13 годин), а саме: показники зміни ВОЩ ядер міокарду коливалась від 108,0 од ($\pm 1,3$) до 93,4 од ($\pm 0,8$); стравоходу – від 126,3 од ($\pm 0,6$) до 93,6 од ($\pm 1,5$); діафрагмальних м'язів від 124,9 од ($\pm 1,0$) до 108,2 од ($\pm 0,8$); міжреберних м'язів від 140,6 од ($\pm 0,9$) до 83,5 од ($\pm 0,6$). Значення зміни ВОЩ саркоплазми міокарда коливалась від 134,9 од ($\pm 1,5$) до 121,4 од ($\pm 3,0$); стравоходу від 158,1 од ($\pm 0,8$) до 132,2 од ($\pm 0,6$); діафрагмальних м'язів від 162,8 од ($\pm 0,9$) до 123,9 од ($\pm 1,0$); міжреберних м'язів від 164,1 од ($\pm 1,1$) до 102,7 од ($\pm 0,6$);

- доповнено наукові дані щодо комплексних особливостей зміни у метаболізмі (Гл, Лт, Лф, ХЕ, КФ, ЛДГ) в динаміці в різні часові інтервали після настання смерті (3–13 годин), що проявляються у збільшенні рівня вмісту: Лф у міокарді до 5,026 од/г ($\pm 0,038$) від початкового рівня, у міжреберних м'язах до 5,589 од/г ($\pm 0,035$), у діафрагмальних м'язах до 5,982 од/г ($\pm 0,050$), у м'язах стравоходу до 6,140 од/г ($\pm 0,042$); Лт у міжреберних м'язах до 9,088 ммоль/г ($\pm 0,081$), у діафрагмальних м'язах до 5,783 ммоль/г ($\pm 0,036$) та активності: КФ у міжреберних м'язах до 2,601 од/г ($\pm 0,029$), у діафрагмальних м'язах до 4,449 од/г ($\pm 0,032$), у м'язах стравоходу до 3,338 од/г ($\pm 0,023$), при асинхронному зменшенні показників вмісту Гл у міокарді до 0,759 мг/г ($\pm 0,010$) від початкового рівня, у міжреберних м'язах до 3,204 мг/г ($\pm 0,031$), у діафрагмальних м'язах до 1,883 мг/г ($\pm 0,027$), у

м'язах стравоходу до 2,178 мг/г ($\pm 0,016$), Лт у міокарді до 4,850 ммоль/г ($\pm 0,054$), м'язах стравоходу до 2,633 ммоль/г ($\pm 0,039$) та активності: ЛДГ у міокарді до 254,7 од/г ($\pm 1,8$), у міжреберних м'язах до 235,0 од/г ($\pm 3,4$), у діафрагмальних м'язах до 428,1 од/г ($\pm 3,0$) у м'язах стравоходу до 308,0 од/г ($\pm 3,4$), ХЕ у міокарді до 834,4 од/г ($\pm 5,4$), у міжреберних м'язах до 525,3 од/г ($\pm 5,3$), у діафрагмальних м'язах до 900,8 од/г ($\pm 5,8$), у м'язах стравоходу до 1281,4 од/г ($\pm 10,1$); КФ у міокарді до 2,757 од/г ($\pm 0,025$);

- доповнено наукові дані щодо визначення ДНС в різні часові інтервали після настання смерті (3–13 годин). Зокрема, визначена лінійна залежність ДНС за кількісним вмістом Лф та Гл, а також рівнем активності ЛДГ в усіх типах м'язів, активності ХЕ у м'язах стравоходу, діафрагми та міжреберних м'язах, а також ВОЩ ядер міоцитів міжреберних м'язів та ВОЩ саркоплазми міоцитів діафрагмальних м'язів. Крім того, визначена нелінійна залежність ДНС в різні часові інтервали після настання смерті (3–13 годин), де однакові показники можуть вказувати на різну ДНС, а саме: КФ у міокарді інтервал 210–420 відповідає 420–570 хв; КФ у м'язах стравоходу інтервал 330–510 відповідає 510–720 хв; КФ у міжреберних м'язах інтервал 390–540 відповідає 540–720 хв; КФ у м'язах діафрагми інтервал 510–630 відповідає 630–780 хв; ЛТ у міокарді інтервал 270–450 відповідає 450–570 хв; ЛТ у м'язах стравоходу інтервал 210–450 відповідає 450–600 хв; ЛТ у міжреберних м'язах інтервал 210–540 відповідає 540–780 хв; ЛТ у м'язах діафрагми інтервал 390–570 відповідає 570–780 хв; ХЕ у міокарді інтервал 180–270 відповідає 270–330 хв, а також 330–420 відповідає 420–570 хв, 570–720 відповідає 720–780 хв; ВОЩ ядер у міокарді інтервал 690–720 відповідає 720–780 хв; ВОЩ ядер у діафрагмі інтервал 270–420 відповідає 420–570 хв; ВОЩ ядер у стравоході інтервал 270–390 відповідає 390–480 хв; ВОЩ саркоплазми у міокарді інтервал 180–270 відповідає 270–360, а також 360–540 відповідає 540–720 хв; ВОЩ саркоплазми у стравоході інтервал 210–240 відповідає 240–330, 330–420 відповідає 420–540 та 540–600, а також 630–720 відповідає 720–780 хв; ВОЩ саркоплазми у міжреберних м'язах інтервал 180–480 відповідає 480–720 хв;

- вперше на підставі дослідження динаміки структурно-біохімічних змін (біохімічних та цитофотометричних) розроблено критеріальний алгоритм, що полягає у використанні не лише конкретного об'єкту дослідження, а й певного показника в залежності від його діагностичної цінності;

- вперше обґрунтовано серію номограм для визначення ДНС за інформативними показниками структурно-біохімічного стану МТ.

Практичне значення одержаних результатів. Авторкою вперше розроблено номограмний метод визначення ДНС за показниками структурно-біохімічних змін різних типів МТ та створено тактичний алгоритм судово-медичної діагностики ДНС у РПП.

Результати дослідження можуть бути використані як основні або додаткові діагностичні критерії визначення ДНС, та підвищити ефективність проведення судово-медичних досліджень, зокрема стосовно ДНС.

Отримані результати дисертаційного дослідження доповнюють існуючі теоретичні відомості про критерії визначення ДНС та повинні бути враховані для

підготовки фахівців на морфологічних кафедрах закладів вищої освіти, особливо на кафедрах судової медицини.

Авторкою розроблено «Пристрій для виділення однакових за розміром та товщиною фрагментів органів та тканин під час судово-медичних (патологоанатомічних) досліджень для подальших гістологічних досліджень» (пат. №132402U). Практичне використання даного пристрою полегшує та прискорює процес виділення трупних тканин та забезпечує однаковий розмір вилучених об'єктів, що сприяє об'єктивності дослідження, високому ступеню повторюваності та доказовості.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес, лекційні курси та практичні заняття на профільних кафедрах ХНМУ, Тернопільського національного медичного університету, Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (м. Київ), Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава), Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці), а також в практичну діяльність Харківського, Полтавського та Чернівецького обласних бюро судово-медичних експертиз.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота виконувалась під час навчання в очній аспірантурі на кафедрі судової медицини, медичного правознавства імені заслуженого професора М.С. Бокаріуса ХНМУ. Здобувачкою за консультативною допомогою наукового керівника, професора, доктора медичних наук, професора кафедри судової медицини, медичного правознавства імені заслуженого професора М.С. Бокаріуса ХНМУ Ольховського В.О. розроблено календарно-тематичний план роботи, її науково-ідеологічну концепцію, стратегію і тактику виконання.

Авторці особисто належить ідея дослідження структурно-біохімічного стану МТ в аспекті визначення ДНС. Вона самостійно проаналізувала та узагальнила відомості вітчизняної та зарубіжної літератури із проблеми судово-медичної діагностики ДНС, виконала патентно-ліцензійний пошук, сформулювала мету роботи, її основні завдання, окреслила предмет та об'єкт розробки, визначила наукову новизну отриманих результатів та їхнє практичне значення.

За темою дисертаційного дослідження авторка самостійно провела ретроспективний аналіз даних «Висновків експертів» архіву Харківського обласного бюро судово-медичної експертизи (ХОБСМЕ) за 2017 рік. Здобувачці також належить розробка форм первинної документації та набір матеріалу для біохімічних та морфологічних досліджень. Вона самостійно обґрунтувала репрезентативну кількість об'єктів для дослідження, здійснила статистичну обробку отриманих результатів, підготувала тексти наукових статей, дисертаційної роботи та автореферату. Разом із науковим керівником узгодила основні наукові положення та висновки. Здобувачкою було підготовлено і подано рукопис до друку.

Проведення морфологічних досліджень виконано при консультативній допомозі академіка інтернаціональної академії патології, д.мед.н., професорки Г.І. Губіної-Вакулік (патоморфологічний сектор Центральної науково-дослідної лабораторії (ЦНДЛ) ХНМУ). Проведення біохімічних досліджень виконано при консультативній допомозі Л.П. Абрамової, В.О. Векшина (біохімічний сектор

ЦНДЛ ХНМУ).

Апробація результатів дослідження. Основні наукові положення і результати дисертації оприлюднені на науково-медичних форумах різного рівня: «Медицина III тисячоліття» (Харків, 2016 р.), «Актуальні питання судової експертизи та криміналістики» (Харків, 2017 р.), «Ist International Scientific Interdisciplinary Congress» (Kharkiv, 2018), «Медицина III тисячоліття» (Харків, 2018 р.), «Актуальні питання судової експертизи та криміналістики» (Харків, 2018 р.), «Science progress in European countries: new concepts and modern solutions» (Stuttgart, (Germany), 2019), «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 2019 р.), «Актуальні питання судової експертизи і криміналістики» (Харків, 2019 р.).

Попередня експертиза дисертації відбулася на розширеному засіданні апробаційної ради з морфологічних дисциплін Харківського національного медичного університету МОЗ України 09.10.2020 р. (протокол № 3).

Публікації. Результати дисертаційного дослідження викладено в 24 наукових працях, серед яких 14 статей у спеціалізованих наукових виданнях (12 статей у наукових фахових виданнях України та 2 статті у журналах, включених у міжнародні науково-метричні бази Scopus; 8 публікацій (6 одноосібних і 2 у співавторстві) – у матеріалах і тезах наукових конгресів, з'їздів і конференцій, а також 2 видання, що додатково відображають наукові результати дисертації (деклараційний патент України на корисну модель та 2 розділи у колективній монографії).

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 230 сторінках комп'ютерного набору. Складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 2 розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел та додатків. Перелік використаних літературних джерел містить 243 найменування вітчизняних і зарубіжних авторів (обсягом 29 сторінок), з яких кирилицею – 122, латиницею – 121. Ілюстрована частина включає 36 таблиць, 34 рисунки, додатки – на 19 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для досягнення поставленої мети було досліджено 1728 зразків м'язів, вилучених від 36 померлих осіб різного віку і статі, які померли ненасильницькою смертю. Дату і час настання смерті в кожному випадку було достовірно відомо із супровідних документів (смерть в стаціонарі, в присутності бригади швидкої медичної допомоги, матеріалів справ і т.п.). Вказана інформація була ключовою при виконанні даної роботи. Таким чином, розтин трупа проводився через 3 год (± 15 хв) після настання смерті. Через складнощі із відбором померлих осіб з достовірно відомим часом настання смерті, які підлягали розтину у найближчі години після смерті, розподіл трупів за характером патології не проводився.

Розтин трупів виконано в умовах секційної зали, методом повної евісцерації

органокomплексу по Шору, який полягає у вилученні органів шиї, грудної, черевної порожнин і малого тазу у вигляді єдиного суцільного комплексу.

У процесі вилучення матеріалу дотримувались однакової топографії: нижня частина стравоходу, міокард міжшлуночкової перетинки, реберна частина діафрагми та зовнішні міжреберні м'язи. Під час розтину померлого було вилучено по два зразки кожної із вказаних МТ, один з якого – для подальших біохімічних досліджень, другий – для морфологічних досліджень. Для стандартизації набору та зручності виділення однакових за об'ємом зразків було використано «Пристрій для виділення фрагментів органів та тканин» (пат. № 132402). Для біохімічних досліджень виділені зразки занурювали в рідкий азот – для миттєвої заморозки і подальшого транспортування до біохімічної лабораторії. Оскільки цілісний труп є більш інерційною теплообмінною системою, в порівнянні з відокремленим органом, процеси охолодження в ньому відбуваються повільніше, саме тому після розтину тіло зашивали і залишали в умовах секційної зали. Температура повітря у секційній залі під час проведення розтинів коливалась в різних спостереженнях у межах 18–20°C (реєстрація згідно температурного журналу зали). Подальше вилучення матеріалу в різних часових інтервалах здійснювалось через рівні проміжки часу, а саме через кожні 2 год після розтину, шляхом повторних вилучень органокomплексу з тіла померлого та щоразовим його зашиванням після відбору необхідного матеріалу. Таким чином всього по кожному трупу було виконано 6 вилучень морфологічного матеріалу впродовж 13 годин після настання смерті (під час розтину, а це через 3 год після настання смерті і далі через кожні 2 години, тобто через 5, 7, 9, 11 та 13 годин після настання смерті). Таким чином, з 36 трупів було вилучено 1728 зразків у рівній кількості для морфологічних та біохімічних досліджень.

Вилучений морфологічний матеріал фіксували в 10,0% розчині нейтрального забуференого формаліну протягом 24 год. Зневоднення морфологічних зразків здійснювали в батареї спиртів висхідної концентрації, з подальшою заливкою в парафін при температурі 56,0°C і приготуванням на мікротомі серійних зрізів завтовшки 5–7 мкм. Після депарафінізації зрізи фарбували за наступними методиками: а) гематоксилін-еозином; б) за Малорі; в) галоціанінхромовими галунами за Ейнарсонем.

Відомо, що нуклеїнові кислоти характеризуються відносною стабільністю початкового вмісту в органах – так ДНК є одним з компонентів клітин, кількість якого в клітинах певного виду досить постійна. Важливим також вважається той факт, що зміни ДНК і РНК починаються відразу після настання смерті, а повний розпад їх закінчується лише через кілька діб. Таким чином, зміна величини відносної оптичної щільності ядра і саркоплазми міоцитів при постановці гістохімічної реакції на сумарні нуклеїнові кислоти, об'єктивно, у вигляді порівнюваних кількісних характеристик, вказує на ступінь розпаду ДНК и РНК в клітинах.

Вивчення та фотографування мікропрепаратів проведено на мікроскопі «AxioStar» (Zeiss, ФРН). Вимірювання оптичної щільності в умовних одиницях виконували з використанням програми «ВидеоТест» (РФ). Прямі виміри щільності

ядер, саркоплазми міоцитів та фону виконували за допомогою обведення необхідної ділянки мікропрепарату інструментом «ласо» у програмі «Photoshop», попередньо встановивши деякі параметри на панелі інструментів («Зображення» - «Гістограма» - «Яскравість» - «Зелене світіння»). Слід відзначити, що великі поліплоїдні ядра, вимірюванню не підлягали. Після отримання результатів прямих вимірів, розраховували індекси співвідношення показників ВОЩ «ядро / фон» та «саркоплазма / фон», що дозволило стандартизувати діагностичні ознаки та уникнути можливого впливу різної якості зображень на точність кількісної оцінки. Визначали діагностичну цінність морфологічних ознак «ВОЩ ядра» та «ВОЩ саркоплазми». Використано широковідому методику Гублера Е.В. (1990) по оцінці інформативності ознак патологічного процесу.

Фрагменти м'язів для біохімічних досліджень, після їх вилучення з рідкого азоту, гомогенізували за стандартною методикою. Подальше дослідження гомогенатів МТ (ГМТ) виконане за наступними методиками: 1. Визначення активності ХЕ в ГМТ проводили кінетичним методом з використанням бутирилтіохоліну з допомогою комерційної тест-системи фірми «СпайнЛаб» (Україна) на біохімічному аналізаторі «Labline-80» (Австрія) згідно інструкції, що додається в наборі. 2. Визначення активності ЛДГ в ГМТ проводили кінетичним методом з використанням комерційної тест-системи фірми «DAC-SpectroMed» (Молдова) на біохімічному аналізаторі «Labline-80» (Австрія) згідно інструкції, що додається в наборі. 3. Визначення активності КФ в ГМТ проводили кінетичним методом з використанням комерційної тест-системи фірми «DAC-SpectroMed» (Молдова) на біохімічному аналізаторі «Labline-80» (Австрія) згідно інструкції, що додається в наборі. 4. Визначення вмісту Лт в ГМТ виконували ензиматичним фотометричним методом за допомогою комерційної тест-системи фірми «Vital Development Corporation» (РФ) на біохімічному аналізаторі «Labline-80» (Австрія) згідно інструкції, що додається в наборі. 5. Визначення вмісту Гл в ГМТ проводили методом Кемпа, в основі якого лежить використання реакції Подобедова-Моліша по взаємодії полі- та олігосахаридів з концентрованими кислотами, що приводить до їх гідролізу з утворенням глюкози. 6. Визначення вмісту Лф виконано в ГМТ за методом І. А. Волчегорського (1989).

При виконанні дослідження застосовано відомі статистико-інформаційні методи: кількісний аналіз, статистичні, зокрема: варіаційна статистика, імовірний розподіл морфологічних та біохімічних ознак з оцінкою достовірності одержаних результатів. Застосовано метод інформаційного аналізу факторних комплексів та елементи дисперсійного аналізу для якісних ознак нерівномірних комплексів і кореляційний (метод рангів та метод лінійної кореляції) аналіз. З метою відображення динамічних змін структурно-біохімічних показників МТ у РПП обґрунтовано використані основні (загальна інформативність – І, біт) показники інформаційного (ентропійного) аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення

Для досягнення мети та виконання задач дослідження була обґрунтована програма виконання комплексу досліджень послідовно, на різних етапах, з використанням морфологічного матеріалу від 36 померлих осіб обох статей, які

померли ненасильницькою смертю з достовірно відомим часом її настання та архівного матеріалу, а саме 3413 «Висновків експерта», які були виконані за 2017 р. у відділі судово-медичної експертизи трупів ХОБСМЕ.

На першому рівні складності: виконано комплексне морфологічне дослідження різних видів МТ, а саме міокарда, міжребер'я, діафрагми та стравоходу. Загальна кількість вилучених об'єктів для морфологічних досліджень від 36 померлих осіб становила 864 зразки тканин, з яких у подальшому виготовляли гістологічні зрізи та фарбували згідно запланованих методик. На другому рівні складності: проведено комплекс біохімічних досліджень на предмет оцінки динаміки постмортальних змін, а саме: рівня концентрації Гл, Лт, Лф та ферментативної активності ЛДГ, ХЕ та КФ у м'язах в різних часових інтервалах РПП (3–13 год. після настання смерті). Загальна кількість вилучених об'єктів для біохімічних досліджень від 36 померлих осіб становила 864 зразки тканин. На третьому рівні складності: виконано систематизований аналіз закономірностей постмортальних морфологічних та біохімічних змін залежно від ДНС, визначена діагностична цінність кожного з них та обґрунтовано методики номограмної діагностики ДНС за показниками змін ВОЩ ядер і саркоплазми міоцитів, а також за змінами рівнів концентрації та ферментативної активності деяких біохімічних маркері (БХМ).

Комплекс морфологічних досліджень складався з гістологічних та цитофотоморфометричних методів. Включаючи у дослідження гістологічні методи ми мали на меті доповнити загальну картину постмортальних змін МТ у комплексному розумінні. З метою ж об'єктивізації зміни міоцитів, було проведено виконання кількісної оцінки ядер та саркоплазми, шляхом виміру їх ВОЩ, визначення кількісних закономірностей, а також діагностичної інформативності цих показників залежно від ДНС.

У результаті дослідження проведено комплексне порівняльне вивчення та оцінка закономірностей і діагностичної інформативності окремих морфологічних та біохімічних маркерів стану МТ у різних часових інтервалах РПП. Основним методичним підходом було обрано морфо-функціональну типологію МТ задля формування передумов реалізації практично-орієнтованої тактики судово-медичної діагностики ДНС. По кожному параметру змін МТ було розраховано показники діагностичної інформативності, що дало можливість порівнювати критеріальну значимість показників у розрізі часових інтервалів та в цілому по окремим морфотипам МТ. Окремо, за фактично отриманими даними щодо маркерів змін МТ у РПП, визначено кількісні закономірності динаміки зміни біохімічних та морфометричних маркерів, що з точністю відображають виявлені закономірності постмортальних змін.

За результатами дослідження постмортальних змін вмісту Гл в різних типах МТ було встановлено загальну закономірність, що характеризувалась зменшенням концентрації зі зростанням термінів ДНС; до того ж отримані нами динамічні ряди змін вмісту Гл стали основою при обґрунтуванні кількісних часових залежностей та побудови відповідної графічної номограми для судово-медичної діагностики ДНС за вмістом Гл у МТ (рис. 1).

Зважаючи на те, що існує пряма лінійна залежність між ДНС і вмістом Гл у всіх

типах МТ дана номограма може бути використана у якості базової ($p \leq 0,05$) у всіх часових інтервалах.

Коливання абсолютного показника активності КФ у всіх досліджуваних типах МТ характеризувалось достовірним ($p < 0,01$) зростанням у часових інтервалах від 3–9 годин. Сягнувши максимуму через 9 год, в наступні часові інтервали активність її зменшувалась. Тобто рівень активності КФ у ГМР нелінійно залежав від термінів ДНС. Отже, загальна закономірність активності КФ у МТ різних видів і локалізації характеризувалась зростанням активності (у перші 9 год) зі зростанням термінів ДНС.

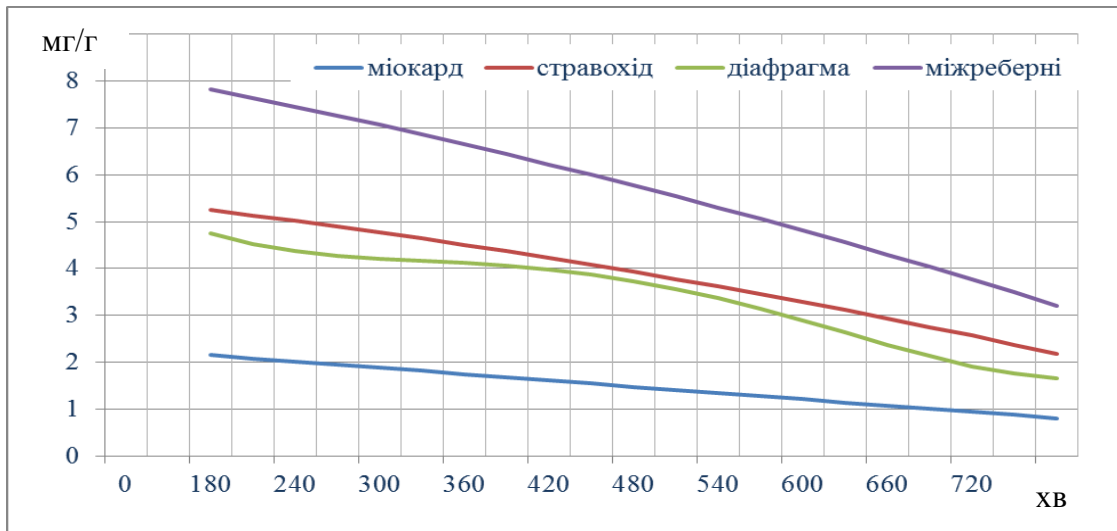


Рис. 1. Номограма визначення ДНС за показниками вмісту глікогену у різних типах м'язової тканини.

Щодо рівня активності КФ у міокарді маємо динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 210–420 та 420–570 хв. Активність КФ у м'язах стравоходу має динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 330–510 та 510–720 хв. Рівень активності КФ у міжреберних м'язах має динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 390–540 та 540–720 хв. Рівень активності КФ у м'язах діафрагми має динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 510–630 та 630–780 хв.

На основі отриманих нами динамічних рядів змін активності КФ, що стали базовими при обґрунтуванні кількісних часових залежностей, нами було побудовано номограму для судово-медичної діагностики ДНС за рівнем активності КФ. Але, у зв'язку з відсутністю прямої лінійної залежності між ДНС та рівнем активності КФ та зважаючи на те, що деякі часові інтервали мають динамічно відзеркалені показники, в такому випадку є потреба одночасного дослідження вмісту чи активності інших речовин, а дана номограма може бути використана у якості додаткової.

Динаміка концентрації Лт у гомогенаті м'язів діафрагми (ГМД) та гомогенаті міжреберних м'язів (ГМР) також характеризувалась прогресивним ($p < 0,01$) зростанням в період до 9 год з моменту настання після чого поступово знижувалась. Також, нелінійною закономірністю характеризується динаміка зміни рівню концентрації лактату у гомогенаті міокарда (ГМ) та гомогенаті тканини м'язів стравоходу (ГМС) впродовж 13 год з моменту настання смерті, що проявлялось його

зростанням у часових інтервалах 3–5–7 год після настання смерті, після чого (починаючи з 9 год) рівень концентрації лактату достовірно зменшувався. Отримані нами динамічні ряди змін його вмісту були покладені в основу при побудові номограми для судово-медичної діагностики ДНС за вмістом Лт у МТ. Щодо рівня активності Лт у міокарді маємо динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 270–450 та 450–570 хв. Активність Лт у м'язах стравоходу має динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 210–450 та 450–600 хв. Рівень активності Лт у міжреберних м'язах має динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 210–540 та 540–780 хв. Рівень активності Лт у м'язах діафрагми має динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 390–570 та 570–780 хв. Таким чином, у зв'язку з відсутністю прямої лінійної залежності між ДНС і вмістом Лт та зважаючи на те, що деякі часові інтервали мають однакові значення, в такому випадку є потреба одночасного дослідження вмісту чи активності інших речовин і дана номограма може бути використана у якості додаткової.

Загальна закономірність рівня активності ЛДГ у всіх типах МТ характеризувалась зниженням зі зростанням термінів ДНС, тобто спостерігалася лінійна залежність від ДНС. Побудовані динамічні ряди змін рівня активності ЛДГ стали основою при обґрунтуванні кількісних часових залежностей та побудови відповідної номограми для судово-медичної діагностики ДНС за вмістом ЛДГ у МТ різного типу (рис. 2). З урахуванням наявності лінійної прямої залежності показників змін рівня активності ЛДГ від часових інтервалів, дана номограма може бути використана у якості базової для всіх типів м'язів під час судово-медичної діагностики ДНС.

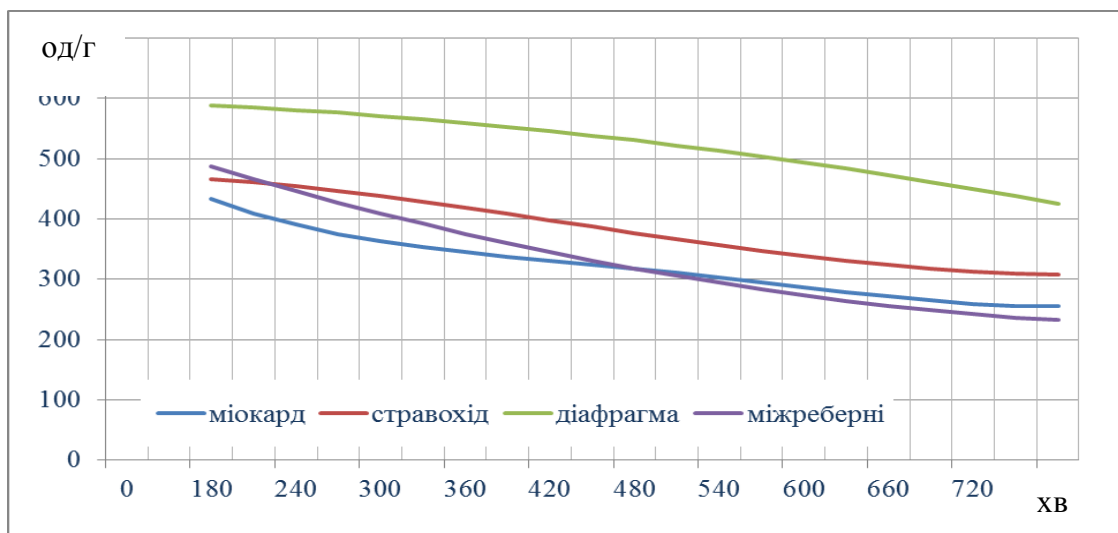


Рис. 2. Номограма визначення ДНС за показниками активності лактатдегідрогенази у різних типах м'язів.

Загальна закономірність вмісту Лф у різних типах м'язів лінійно залежала від термінів ДНС і характеризувалась його збільшенням зі зростанням; до того ж отримані нами динамічні ряди його змін стали базовими при обґрунтуванні кількісних часових залежностей та побудови відповідної номограми для судово-медичної діагностики ДНС за даним параметром (рис. 3). З урахуванням наявності

лінійної прямої залежності показників вмісту Лф від часових інтервалів, дана номограма може бути використана у якості базової під час судово-медичної діагностики ДНС для всіх типів м'язів.

Динаміка концентрації ХЕ у ГМР, ГМД та ГМС характеризувалась прогресивним ($p < 0,01$) зниженням впродовж всього досліджуваного постмортального періоду. Нелінійною закономірністю характеризується динаміка зміни рівня активності ХЕ у ГМ. Через 5 год після настання смерті відбувається її зниження від 1213,8 ($\pm 8,8$) ммоль/г до 766,3 ($\pm 79,8$) ммоль/г відповідно. Після чого знову відбувається її збільшення до 947,2 ($\pm 7,0$) ммоль/г. А вже після 7 год після настання відбувається її зниження. Отримані нами динамічні ряди змін активності ХЕ стали базовими при обґрунтуванні кількісних часових залежностей та побудови відповідної номограми для судово-медичної діагностики ДНС за вмістом ХЕ у м'язах різних типів (рис. 4).

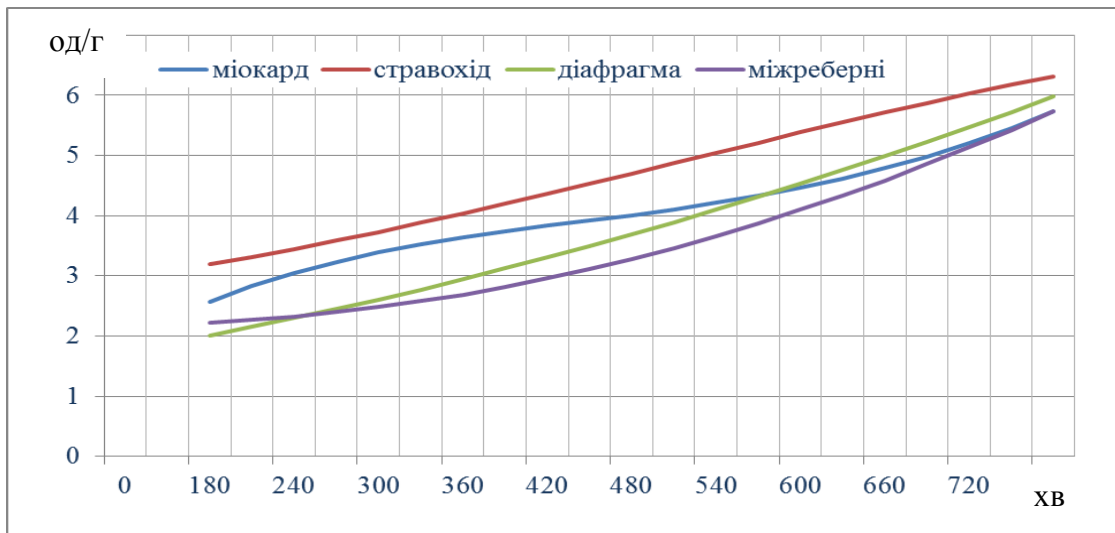


Рис. 3. Номограма визначення ДНС за рівнем вмісту ліпофусцину у різних типах м'язової тканини.

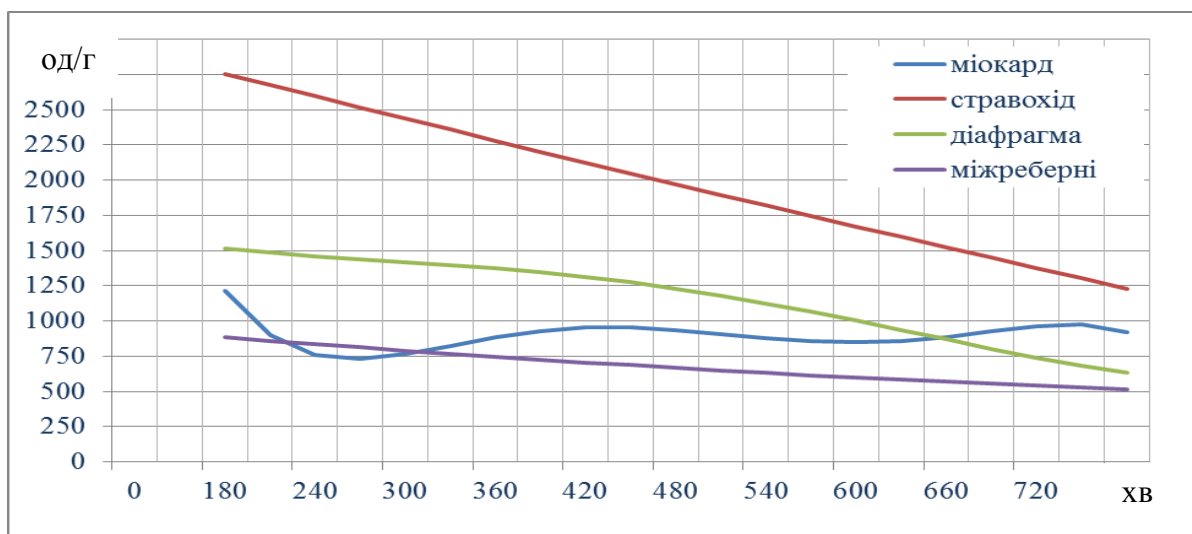


Рис. 4. Номограма визначення ДНС за показниками рівня активності холінестерази у різних типах м'язової тканини.

Щодо рівня активності ХЕ у міокарді маємо динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 180–270 та 270–330 хв, 330–420 та 420–570, а також 570–720 та 720–780 хв. Таким чином, зважаючи на пряму лінійну залежності між ДНС та рівнем активності ХЕ в ГМР, ГМД та ГМС, цей показник може бути використаний як основний для визначення ДНС. Що ж стосується рівня ХЕ в ГМ, необхідне одночасне дослідження вмісту чи активності інших речовин, а дана номограма може бути використана тільки у якості додаткової.

Порівняльний морфометричний аналіз ВОЩ ядер міоцитів виявив, що в цілому спостерігається загальне зниження показників по всім типам МТ впродовж 3–13 год після настання смерті. Початкові рівні ВОЩ ядер міоцитів та ступінь її змін також відрізняються залежно від типу МТ. Так, найбільш високі рівні ВОЩ ядер міоцитів через 3 год після настання смерті зареєстровані у міжреберних м'язах, найнижчі – у міокарді (відповідно 140,6 ($\pm 0,9$) од та 107,1 ($\pm 1,7$) од, $p < 0,001$). Водночас, найбільш виразні постмортальні зміни ядер міоцитів виявлені у міжреберних м'язах – зменшення ВОЩ на 40,7% впродовж 13 год з моменту настання смерті, аналогічний показник для міокарду – 12,5%, для м'язів стравоходу – 14,4%, діафрагми – на 4,4%.

За результатами морфометричного аналізу ВОЩ ядер міоцитів та з використанням отриманих числових значень було створено графічну номограму для визначення ДНС за цими показниками. ВОЩ ядер міоцитів у міжреберних м'язах має лінійну залежність і даний показник може бути використаний як основний для визначення ДНС. Щодо ВОЩ ядер міоцитів у міокарді маємо динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 690–720 та 720–780 хв. ВОЩ ядер міоцитів у діафрагмі має динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 270–420 та 420–570 хв. ВОЩ ядер міоцитів у стравоході має динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 270–390 та 390–480 хв. Таким чином у зв'язку з відсутністю прямої лінійної залежності між ДНС та зміною ВОЩ ядер міоцитів та зважаючи на те, що деякі часові інтервали мають однакові значення, в такому випадку є потреба одночасного дослідження вмісту чи активності інших речовин, а дана номограма може бути використана у якості базової тільки для – міжреберних м'язів (де є пряма лінійна залежність, без повторювань значень), для інших типів (діафрагми, стравоходу та міокарду) у якості додаткової.

Порівняльний морфометричний аналіз ВОЩ саркоплазми міоцитів також виявив, загальне зниження показників по всім типам МТ впродовж 3–13 год після настання смерті. Початкові рівні ВОЩ саркоплазми міоцитів та ступінь її змін також відрізняються залежно від типу МТ. Найбільш високі рівні ВОЩ саркоплазми через 3 год після настання смерті виявились у міжреберних м'язах, найнижчі – у міокарді (відповідно 164,1 ($\pm 1,1$) од та 129,7 ($\pm 2,2$) од, $p < 0,001$). Найбільш виразні постмортальні зміни саркоплазми міоцитів виявлені так само у міжреберних м'язах.

За результатами морфометричного аналізу ВОЩ саркоплазми міоцитів та з використанням отриманих числових значень було створено графічну номограму для визначення ДНС за цими показниками. ВОЩ саркоплазми міоцитів у діафрагмальних м'язах має лінійну залежність і даний показник може бути використаний як основний для визначення ДНС. Щодо ВОЩ саркоплазми міоцитів у міокарді маємо

динамічно відзеркалені показники в часові інтервали 180–270 та 270–360 хв, а також 360–540 та 540–720 хв. ВОЩ саркоплазми міоцитів у стравоході має динамічно віддзеркалені показники в часові інтервали 210–240 та 240–330 хв, 330–420 та 420–540, 540–600 хв, а також 630–720 та 720–780 хв. ВОЩ саркоплазми міоцитів у міжреберних м'язах має динамічно віддзеркалені показники в часові інтервали 180–480 та 480–720 хв. Отже, у зв'язку з відсутністю прямої лінійної залежності між ДНС та зміною ВОЩ ядер міоцитів у всіх м'язах окрім діафрагми, є потреба одночасного дослідження вмісту чи активності інших речовин, а дана номограма може бути використана у якості базової тільки для м'язів діафрагми.

Таким чином, на основі отриманих фактичних даних розроблено серію номограм для визначення ДНС. При практичному їх використанні для визначення ДНС за певним параметром необхідно розмістити отримані показники на графіку та спустивши перпендикуляр до вісі абсцис встановити ДНС.

За результатами оцінки інформативності БХМ обґрунтована інформаційно-діагностична модель постмортальних змін МТ, яка може бути доповнена при подальших дослідженнях з даної проблематики. Досліджено загальну інформативність морфологічних та біохімічних критеріїв діагностики ДНС залежно від типу МТ (табл. 1).

Таблиця 1

Інформативність (біт) морфологічних та біохімічних критеріїв для діагностики давності настання смерті залежно від типу м'язової тканини

Критерії судово-медичної діагностики давності настання смерті	Вид м'язової тканини				Інфор- матив- ність по критері- ям
	Міокард	Страво- хід	Між- ребер- ні м'язи	Діа- фраг- мальні м'язи	
Біохімічні критерії					
БХМ ₁ : вміст глікогену	2,005	1,020	1,781	1,727	6,533
БХМ ₂ : активність кислій фосфатази	0,999	0,717	0,544	0,758	3,018
БХМ ₃ : вміст лактату	1,238	0,997	1,088	0,772	4,095
БХМ ₄ : активність ЛДГ	1,756	0,539	2,032	0,845	5,172
БХМ ₅ : вміст ліпофусцину	5,688	1,081	1,040	1,877	9,686
БХМ ₆ : активність холінестерази	1,782	0,914	1,607	1,363	5,666
Цитофотоморфометричні критерії стану міоцитів					
ММ ₇ : ВОЩ ядер міоцитів	2,386	2,022	2,088	2,279	8,775
ММ ₈ : ВОЩ саркоплазми	1,349	0,664	1,274	1,325	4,612
Інформативність по МТ	17,203	7,954	11,454	10,946	47,557

З'ясовано, що критеріально значимими та, відповідно, найбільш інформативними є постмортальні зміни МТ міокарду (Ізаг=17,203 біт, перше рангове місце), на другому ранговому місці – критеріальна значимість

постмортальних змін МТ міжреберних м'язів (Ізаг=11,454 біт), на третьому – МТ діафрагми (Ізаг=10,946 біт), МТ стравоходу виявилось на четвертому ранговому місці – (Ізаг=7,954 біт). Загальна інформативність морфологічних та біохімічних критеріїв діагностики ДНС залежно від вибору останнього, показало, що найбільш діагностично значимим біохімічним критерієм постмортальних змін МТ виявився «вміст ліпофусцину» (Ізаг=9,686 біт), а морфометричним – «оптична щільність ядер міоцитів» (Ізаг=8,775 біт).

Наведене, визначає потребу в комплексному та обґрунтованому підході до вибору тактики лікаря судово-медичного експерта у кожному конкретному випадку.

Отже, всі можливі діагностичні комплекси щодо визначення ДНС (біохімічний, морфометричний підходи або їх поєднання) мають базуватися на визначеній інформативності та номограмах з пріоритетним використанням кількох найбільш критеріально значимих параметрів. Важливим, також, є урахування можливостей і обмежень у використанні номограм, оскільки частина з них може розглядатися у якості базових, а при використанні інших, де відзначається відсутність сталих лінійних закономірностей впродовж досліджуваного постмортального періоду існують обмеження. Тобто при доборі діагностичної тактики слід, з одного боку – добирати інформативні критерії, з іншого – враховувати наявність базової номограми.

Відповідно до цього нами визначено критеріальний алгоритм застосування номограмного методу встановлення ДНС, який включає рекомендовану поетапність діагностики (табл. 2).

Отримані дані, на наш погляд, суттєво доповнюють і розширюють можливості диференційної діагностики ДНС у експертній практиці. Цей факт ще раз підкреслює, що для підвищення точності діагностики ДНС рекомендовано одночасне дослідження кількох діагностичних критеріїв згідно серії розроблених номограм для визначення ДНС за інформативними показниками структурно-біохімічного стану МТ.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та запропоновано нове вирішення актуального для судової медицини науково-практичного завдання, а саме – удосконалення судово-медичної діагностики давності настання смерті у ранній постмортальний період шляхом використання номограмного методу, основа якого полягає в дослідженні інформативних показників структурно-біохімічного стану м'язової тканини у часовому інтервалі 3–13 годин після настання смерті.

1. Аналіз постмортальних змін вмісту глікогену у м'язовій тканині, залежно від часових періодів давності настання смерті виявив, що через 3 год. з моменту настання смерті найбільш високою була його концентрація у міжреберних м'язах, а найменшим – у міокарді. З часом його вміст у всіх м'язах діагностично-значимо зменшувався, зокрема, в міокарді в 2,88 рази, в міжреберних м'язах в 2,44 рази, в м'язах діафрагми в 2,53 рази та в м'язах стравоходу в 2,41 рази, що може бути обумовлене зберіганням у посмертному періоді активності власних ферментів, під

впливом яких руйнуються структури тканин.

2. Аналіз постмортальних змін активності кислої фосфатази у м'язовій тканині, залежно від часових періодів давності настання смерті виявив, що через 3 год. з моменту настання смерті найбільш високою була її активність в міокарді, а найменшою – у міжреберних м'язах. У наступні 3–7 годин давності настання смерті відмічалось достовірно значиме зростання в усіх м'язах в 1,19–1,41 рази з послідувачим стрімким зменшенням активності в м'язах міокарду, навіть нижче вихідного в 1,14 рази, хвилеподібним коливанням в міжреберних м'язах, стравоході, та зростанням в м'язах діафрагми в 1,62 рази, що на нашу думку, пов'язано з руйнуванням лізосом і зниженням рН (закисленням) внутрішньо клітинного середовища.

3. Аналіз постмортальних змін вмісту лактату у м'язовій тканині, залежно від часових періодів давності настання смерті виявив, що через 3 год. з моменту настання смерті найбільш високою була його концентрація в міжреберних м'язах, найменшою – у м'язовій тканині стравоходу. В наступні 3–7 годин давності настання смерті відмічалось достовірно значиме зростання в усіх м'язах в 1,13–1,9 рази з послідувачим продовженням зростання до 9 години в міжреберних м'язах та м'язах діафрагми, що свідчило про перехід клітин після смерті на анаеробне дихання, яке й обумовлює підвищений вміст лактату. Наступне зменшення вмісту лактату в усіх м'язах до рівня нижче вихідного в м'язовій тканині міокарду та стравоходу в 1,23–1,32 рази було обумовлене поступовим загасанням процесів життєзабезпечення.

4. Аналіз постмортальних змін вмісту (активності) лактатдегідрогенази м'язової тканини, залежно від часових періодів давності настання смерті виявив, що через 3 год. з моменту настання смерті найбільш високим була її активність у м'язах діафрагми, найменшим – у м'язовій тканині міокарду. З часом її активність у всіх м'язах діагностично значимо зменшувалась, зокрема, в міокарді в 1,7 рази, в міжреберних м'язах в 2,1 рази, в м'язах діафрагми в 1,35 рази та в м'язах стравоходу в 1,5 рази. Цей гліколітичний фермент бере участь саме у перетворенні пірувата в лактат, тому динаміка змін цього показника, в цілому, співпадає з динамікою змін вмісту лактату.

5. Аналіз постмортальних змін вмісту ліпофусцину м'язової тканини, залежно від часових періодів давності настання смерті виявив, що через 3 год. з моменту настання смерті найбільш високим був його вміст у м'язовій тканині стравоходу, найменшим – у діафрагмальних м'язах. З часом його вміст у всіх м'язах діагностично значимо зростав, зокрема, в міокарді в 1,96 рази, в міжреберних м'язах в 2,5 рази, в м'язах діафрагми в 2,8 рази та в м'язах стравоходу в 1,9 рази. На наш погляд, це обумовлене його накопичуванням у тканинах внаслідок зростання процесів ліпопероксидації.

6. Аналіз постмортальних змін активності холінестерази у м'язовій тканині, залежно від давності настання смерті виявив, що через 3 год. з моменту настання смерті найбільш високою була її активність у м'язах стравоходу, найменшою – у міжреберних м'язах. З часом її активність у всіх м'язах поступово діагностично значимо зменшувалась, окрім одномоментного різкого зменшення в м'язах міокарду

через 5 годин з наступним підвищенням на 7-й годині давності настання смерті. При цьому, через 13 годин її вміст був в 1,45–2,12 рази менший, ніж вихідний рівень, що обумовлено поступовим руйнуванням клітинних структур і виснаженням тканинних фондів субстратів-нейромедіаторів, які розщеплює цей ензим, зокрема ацетилхоліну.

7. Проведений аналіз морфологічних зміни м'язової тканини міокарду, стравоходу, діафрагми, міжреберних м'язів шляхом визначення відносної оптичної щільності ядер міоцитів показав, що лише в міжреберних м'язів наявне діагностично значиме зменшення цього показника протягом всього періоду в 1,68 разів по відношенню до вихідного. В інших м'язів спостерігаються хвилеподібні коливання протягом всього періоду з поступливим зменшенням в 1,08–1,15 рази по відношенню до вихідного. Аналіз відносної оптичної щільності саркоплазми показав, що лише в діафрагмальних м'язів наявне діагностично значиме зменшення протягом всього періоду в 1,6 разів по відношенню до вихідного. В інших м'язів спостерігаються хвилеподібні коливання протягом всього періоду з поступливим зменшенням в 1,03–1,07 рази по відношенню до вихідного. Це обумовлено неоднорідним згасанням роботи ферментних систем і поступовим руйнуванням клітинних структур.

8. Динамічний характер структурно-біохімічних змін міокарду, м'язової тканини, стравоходу, діафрагми та міжреберних м'язів з урахуванням діагностично значимої лінійної та нелінійної залежності від давності настання смерті дозволив розробити алгоритм визначення ДНС, використовуючи рекомендовану поетапність діагностики та застосовуючи номограми з кількісними критеріями.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для відбору морфологічного матеріалу під час судово-медичних досліджень рекомендується використання «Пристрою для виділення фрагментів органів та тканин» (Пат.132402 У, Україна), що дозволяє стандартизувати об'єм вилучення зразків для виконання подальших досліджень в необхідному обсязі.

2. Для визначення ДНС у РПП (3–13 годин після настання смерті) необхідно використовувати критеріальний алгоритм застосування номограмного методу встановлення ДНС, який включає рекомендовану поетапність діагностики (табл. 2).

3. Для визначення ДНС за кількісним вмістом ліпофусцину, лактатдегідрогенази та глікогену в усіх типах м'язів, холінестерази у м'язів стравоходу, діафрагми та міжреберних м'язів, а також ВОЩ ядер міоцитів міжреберних м'язів та ВОЩ саркоплазми міоцитів м'язів діафрагми, необхідно використати відповідні номограми, які є базовими. При практичному їх використанні для визначення ДНС за даним параметром необхідно розмістити отримані показники на графіку та спустивши перпендикуляр до вісі абсцис встановити ДНС.

4. При використанні номограм для визначення ДНС за кількісним вмістом інших речовин будуть наявні два інтервали з однаковими даними, що вказує на два можливі терміни ДНС та потребує додаткових досліджень, зокрема: КФ у міокарді

інтервал 210–420 відповідає 420–570 хв; КФ у м'язах стравоходу інтервал 330–510 відповідає 510–720 хв; КФ у міжреберних м'язах інтервал 390–540 відповідає 540–720 хв; КФ у м'язах діафрагми інтервал 510–630 відповідає 630–780 хв; ЛТ у міокарді інтервал 270–450 відповідає 450–570 хв; ЛТ у м'язах стравоходу інтервал 210–450 відповідає 450–600 хв; ЛТ у міжреберних м'язах інтервал 210–540 відповідає 540–780 хв; ЛТ у м'язах діафрагми інтервал 390–570 відповідає 570–780 хв; ХЕ у міокарді інтервал 180–270 відповідає 270–330 хв, а також 330–420 відповідає 420–570 хв, 570–720 відповідає 720–780 хв; ВОЩ ядер у міокарді інтервал 690–720 відповідає 720–780 хв; ВОЩ ядер у діафрагмі інтервал 270–420 відповідає 420–570 хв; ВОЩ ядер у стравоході інтервал 270–390 відповідає 390–480 хв; ВОЩ саркоплазми у міокарді інтервал 180–270 відповідає 270–360, а також 360–540 відповідає 540–720 хв; ВОЩ саркоплазми у стравоході інтервал 210–240 відповідає 240–330, 330–420 відповідає 420–540 та 540–600, а також 630–720 відповідає 720–780 хв; ВОЩ саркоплазми у міжреберних м'язах інтервал 180–480 відповідає 480–720 хв.

Таблиця 2

Критеріальний алгоритм застосування номограмного методу визначення давності настання смерті

Рангове місце	<u>Базові номограми</u>	Діагностичне значення (Рангове місце залежно від типу м'язів)	<u>Додаткові номограми</u>	
I	Ліпофусцин	міокард, міжреберні м'язи, діафрагма, стравохід	<i>Не обов'язково</i>	
II	ЛДГ			
III	Глікоген			
	Холінестераза	міжреберні м'язи, діафрагма, стравохід		
IV	ВОЩ ядер	міжреберні м'язи		
V	ВОЩ саркоплазми	діафрагма		
VI	Холінестераза	міокард		
VII	Кисла фосфатаза	міокард, діафрагма, стравохід, міжреберні м'язи		Обов'язково один з I-V рангу, або декілька VI-X
VIII	Лактат	міокард, стравохід, міжреберні м'язи, діафрагма		
IX	ВОЩ ядер	міокард, діафрагма, стравохід		
X	ВОЩ саркоплазми	міокард, діафрагма міжреберні м'язи		

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1) в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Коновал Н.С. Визначення тривалості посмертного періоду в судово-медичній експертній практиці: сучасний стан і перспективи / В.О. Ольховський, Л.Л. Голубович, В.В. Хижняк, Н.С. Коновал // Експериментальна і клінічна медицина. – №4 (73). – 2016. – С. 154–162 (*Безпосередньо дисертанткою виконано проблемно-цільовий аналіз сучасних методів визначення ДНС, написано текст власних досліджень та список посилань*).

2. Коновал Н.С. Аналіз архівних судово-медичних експертиз щодо визначення давності настання смерті / Н.С. Коновал // Судово-медична експертиза. – 2018. – № 2. – С. 32–35.

3. Коновал Н.С. Мінливість критеріальності дослідження давності настання смерті у ранньому періоді / Н.С. Коновал // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2018. – Т. 3, №5 (14). – С. 231–236.

4. Коновал Н.С. Судово-медичне дослідження структурно-біохімічних змін м'язової тканини стравоходу у вирішенні проблеми діагностики давності настання смерті / Н.С. Коновал // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаяєва. – 2018. – Т. 19, № 4. – С.14– 19.

5. Коновал Н.С. Номограмний метод визначення давності настання смерті за вмістом кислоти фосфатази у м'язовій тканині: практичні переваги, теоретичні обмеження та результати апробації / В.О. Ольховський, Н.С. Коновал, В.Ю. Шепітько, Г.І. Губіна-Вакулік, О.С. Проценко, Л.П. Абрамова, Л.В. Черкашина // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаяєва. – 2018. – Т. 19, № 4. – С. 49-56. (*Здобувачкою виконано забір морфологічного матеріалу, його підготовку до біохімічних досліджень, узагальнення результатів, складання номограми та підготовку тексту повідомлення*).

6. Коновал Н.С. Судово-медичне значення дослідження лактату у м'язовій тканині різного типу для діагностики давності настання смерті в ранньому постмортальному періоді / В.О. Ольховський, Н.С. Коновал, В.Ю. Шепітько, Г.І. Губіна-Вакулік, О.С. Проценко, В.О. Векшин, Л.В. Черкашина // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаяєва. – 2018. – Т. 19, № 4. – С. 57– 64 (*Дисертанткою виконано забір морфологічного матеріалу, його підготовку до біохімічних досліджень, узагальнення результатів, складання номограми та підготовку тексту повідомлення*).

7. Коновал Н.С. Обґрунтування критеріальної значимості структурно-біохімічних змін м'язової тканини міокарду в судово-медичній діагностиці давності настання смерті / Н.С. Коновал // Вісник проблем медицини та біології. – 2019. – Вип. 1, Т. 2 (149). – С. 385–389.

8. Коновал Н.С. Холінестераза м'язової тканини різного типу в ранньому постмортальному періоді: значення для судово-медичної діагностики давності настання смерті / Н.С. Коновал // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаяєва. – 2019. – Т. 20, № 1. – С. 37–43.

9. Коновал Н.С. Закономірності постмортальних структурно-біохімічних змін

м'язової тканини діафрагми: значення для судово-медичної діагностики давності настання смерті / Н.С. Коновал // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2019. – Т. 19, Вип. 1 (65). – С. 71–76.

10. Коновал Н.С. Структурно-біохімічні зміни тканини міжреберних м'язів та їх значення в судово-медичній діагностиці давності настання смерті / Н.С. Коновал // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2019. – Т. 4, № 4 (20). – С. 211–217.

11. Коновал Н.С. Структурно-біохімічні маркери стану м'язової тканини в ранньому постмортальному періоді: вміст глікогену як критерій у системі судово-медичної діагностики давності настання смерті / Н.С. Коновал // Медицина сьогодні і завтра. – 2018. – № 2 (79). – С. 96–101.

12. Коновал Н.С. Дослідження ліпофусцину м'язової тканини у ранньому постмортальному періоді: удосконалення судово-медичної діагностики давності настання смерті / Н.С. Коновал // Хірургія Донбасу. – 2019. – Т. 8, № 1. – С. 19–26.

13. Konoval N. The dynamics of changes in biochemical markers of the state of tissue in intercostal muscles during the early postmortem period / L. Cherkashyna, N. Konoval, A. Shklyar, S. Najar, O. Haidash, L. Kuts, O. Gortinskaya, N. Demikhova // Polski Merkuriusz Lekarski (Polish Med. J.). – 2020. – Vol. 48, № 283. – P. 45–48. (Безпосередньо дисертанткою виконані дослідження, проведено систематизацію отриманих результатів та підготовку тексту повідомлення).

14. Konoval N. Study of structural and biochemical changes in the muscular tissue of the oesophagus for solving the problem of diagnosing the prescription of death coming / L. Cherkashyna N. Konoval, A. Shklyar, I. Kyrychenko, O. Haidash, N. Demikhova // Polski Merkuriusz Lekarski (Polish Med. J.). – 2020. – Vol. 48, № 283. – P. 42-44. (Особисто здобувачкою виконані дослідження, проаналізовані результати та підготовлено текст повідомлення).

2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

15. Коновал Н.С. Визначення давності настання смерті на пізніх строках післясмертного періоду / Н.С. Коновал // Медицина III тисячоліття: Збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів, Харків, 20.01.2016 р. / Харківський національний медичний університет. – Харків, 2016 р. – С. 35-36.

16. Коновал Н. С. Критеріальна значимість морфологічних і біохімічних змін міокарда та шкіри в динаміці посмертного періоду / Н.С. Коновал // Актуальні питання судової експертизи та криміналістики: Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю від дня народження доктора юридичних наук, професора, заслуженого діяча науки і техніки України М.В. Салтевського, Харків, 7–8.11.2017 р. / Харківський науко-дослідний інститут судових експертиз ім. Засл. проф. М.С. Бокаріуса. – Харків, 2017 р. – С.215.

17. Konoval N. Criteria for forensic medical determination of the time since death as per archive records of Kharkiv regional bureau of forensic medical expertise / N. Konoval // Ist International Scientific Interdisciplinary Congress: Adstract book of ISIC, Kharkiv, 23–25.05.2018 / Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 2018. – P. 25.

18. Коновал Н.С. Визначення давності настання смерті у ранньому

постмортальному періоді / Н.С. Коновал // Медицина III тисячоліття: Збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів, Харків, 22–24.01.2018 р. / Харківський національний медичний університет. – Харків, 2018. – С. 34-35.

19. Коновал Н.С. Давність настання смерті: проблеми та перспективи визначення / Н.С. Коновал // Актуальні питання судової експертизи та криміналістики: Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 95-річчю створення Харківського науково-дослідного інституту судових експертиз ім. Засл. проф. М.С. Бокаріуса, Харків, 10–11.10.2018 р. / Харківський науко-дослідний інститут судових експертиз ім. Засл. проф. М.С. Бокаріуса. – Харків, 2018. – С. 240-242.

20. Коновал Н.С. Обґрунтування методу визначення оптичної щільності ядра і цитоплазми клітин для вивчення динаміки ранньої післясмертної трансформації міокарда / Н.С. Коновал, Г.І. Губіна-Вакулік // Science progress in European countries: new concepts and modern solutions. Papers of the 5th International Scientific Conference, Stuttgart, 28.02.2019/ Stuttgart (Germany), 2019. – С. 991-994 (*Здобувачкою виконано забір морфологічного матеріалу, його підготовку, узагальнення результатів цитофотоморфометрії та підготовку тексту повідомлення*).

21. Коновал Н.С. Можливості застосування біохімічних досліджень м'язів для діагностики давності настання смерті в ранньому посмертному періоді / Н.С. Коновал // Актуальні питання сучасної медицини: Тези доповідей XVI міжнародної наукової конференції студентів, молодих вчених та фахівців до 25-річчя від дня відродження кафедр внутрішньої медицини, хірургічних хвороб, загальної та клінічної імунології й алергології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, Харків, 28–29.03.2019 р. / Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна. – Харків, 2019. – С. 138-139.

22. Коновал Н.С. Можливості застосування цитофотоморфометричних досліджень міокарду під час визначення давності настання смерті / Н.С. Коновал, Г.І. Губіна-Вакулік // Актуальні питання судової експертизи і криміналістики: Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 150-річчю з дня народження засл. проф. М.С. Бокаріуса, Харків, 18–19.04.2019 р. / Харківський науко-дослідний інститут судових експертиз ім. засл. проф. М.С. Бокаріуса. – Харків, 2019. – С. 450-452 (*Авторкою виконано забір морфологічного матеріалу, його підготовку, узагальнення результатів цитофотоморфометрії та підготовку тексту повідомлення*).

3) які додатково відображають наукові результати дисертації:

23. Визначення давності настання смерті: монографія / За заг. ред. В.О. Ольховського і Л.Л. Голубовича. – Харків: ФОП Бровін О.В., 2017. – 168 с. (*Здобувачем виконано проблемно-цільовий аналіз методів визначення ДНС, написано розділи 2, 4 та список посилань*).

24. Пат. 132401 U, Україна, МПК А61В 17/28 (2006.01), А61В 17/295 (2006.01). Пристрій для виділення фрагментів органів та тканин / Коновал Н.С. (UA), Ольховський В.О. (UA), Хижняк В.В. (UA), Моргун А.О. (UA). – Харківський національний медичний університет (UA). Заявка №2018u09426; Заявл. 18.09.2018; Опубл. 25.02.2019, Бюл. №4, 2019 (*Особиста участь дисертантки – аналіз*

літературних даних, ідея корисної моделі, схема пристрою та його фізична модель; написано текст формули корисної моделі та реферат).

АНОТАЦІЯ

Коновал Н.С. Ранні постмортальні структурно-біохімічні зміни у м'язах для діагностики давності настання смерті. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.25 «Судова медицина». – Харківський національний медичний університет МОЗ України. – Харків, 2021.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та запропоновано нове вирішення актуального для судової медицини науково-практичного завдання, а саме – удосконалення судово-медичної діагностики давності настання смерті у ранньому постмортальному періоді шляхом використання номограмного методу, основа якого полягає в дослідженні інформативних показників структурно-біохімічного стану м'язової тканини у часовому інтервалі 3–13 годин після настання смерті.

На підставі дослідження динаміки структурно-біохімічних змін (біохімічних та цитофотометричних) розроблено критеріальний алгоритм, що полягає у використанні не лише конкретного об'єкту дослідження, а й певного показника в залежності від його діагностичної цінності.

Ключові слова: судово-медична експертиза, давність настання смерті, м'язова тканина, біохімічні зміни, морфологічні зміни, ранній постмортальний період.

АННОТАЦИЯ

Коновал Н.С. Ранние постмортальные структурно-биохимические изменения в мышцах для диагностики давности наступления смерти. – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.25 «Судебная медицина». – Харьковский национальный медицинский университет МЗ Украины. – Харьков, 2021.

В диссертации приведено теоретическое обобщение и предложено новое решение актуальной для судебной медицины научно-практической задачи, а именно – усовершенствование судебно-медицинской диагностики давности наступления смерти в раннем постмортальном периоде путем использования номограммного метода, на основании исследования информативных показателей структурно-биохимического состояния мышечной ткани во временном интервале 3–13 часов после наступления смерти.

На основании исследования динамики структурно-биохимических изменений (биохимических и цитофотометрических) разработан критеріальний алгоритм, заключающийся в использовании не только конкретного объекта исследования, но и определенного показателя в зависимости от его диагностической ценности.

Ключевые слова: судебно-медицинская экспертиза, давность наступления

смерти, мышечная ткань, биохимические изменения, морфологические изменения, ранний постмортальный период.

SUMMARY

Konoval N.S. Early postmortal structural and biochemical changes of muscles for the diagnosis of determination of time since death. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation for obtaining the scientific Degree of the Candidate of Medical Sciences in speciality 14.01.25 – "Forensic medicine". – Kharkiv National Medical University, Ministry of Public Health of Ukraine. – Kharkiv, 2021.

The dissertation provides a theoretical generalization and a new solution to the current scientific problem, which is to substantiate forensic diagnostic criteria for determining time since death in the early postmortem period, by using a nomogram method on the basis of the study of informative indicators of structural and biochemical state of muscle tissue in time intervals from 3–13 hours after death.

In order to achieve this goal, 1728 samples of different types of muscle tissue were removed from 36 cadavers of different ages and genders who died nonviolent deaths. In total, two samples of each of these muscles were selected during the autopsy in each time interval of the early postmortem period: for further biochemical (one sample) and morphological (one sample) studies. After autopsy, the body was sutured and left in the autopsy room. Removal of the material at different time intervals was carried out at regular intervals (every 2 hours after the autopsy), by repeated removal of the organ complex from the cadaver's body (within 13 hours after death). Thus, a total of 6 extractions of morphological material were performed on each corpse within 13 hours after death (during autopsy, which is 3 hours after death and then every 2 hours, that is after 5, 7, 9, 11 and 13 hours after death). Thus 1728 samples in equal quantities for morphological and biochemical studies were taken from 36 cadavers. The same topography was observed during the extraction of the material: the lower part of the esophagus, the myocardium of the interventricular septum, the costal part of the diaphragm and the external intercostal muscles.

Based on the comprehensive studies, a systematic comparative study of the diagnostic value of the morphological and biochemical changes of various types of muscle tissue in the early post-mortem period was carried out. In particular, for the first time, in a comparative aspect,

For the first time, the diagnostic value of postmortal changes in cytophotometric (optical density of nuclei and sarkoplasm of myocytes) and biochemical (concentration in muscles of glycogen, lactate, lactate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, cholinesterase) of the criteria for assessing the state of various muscle species in the time interval 3–13 hours after death.

The series of nomograms is substantiated to determine the time since death, based on informative indicators of the structural-biochemical muscular state. The criteria algorithm for the application of the nomogram method, was created, in order to improve the forensic medical diagnosis of the of time since death in the time interval of 3–13 hours after the

occurrence of death.

Key words: Forensic medical examination, time since death, muscle tissue, biochemical changes, morphological changes, early post-mortem period.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БХМ	– біохімічні маркери
ВОЩ	– відносна оптична щільність
Гл	– глікоген
ГМТ	– гомогенат м'язової тканини
ГМД	– гомогенат м'язів діафрагми
ГМ	– гомогенат міокарда
ГМР	– гомогенат міжреберних м'язів
ГМС	– гомогенат тканини м'язів стравоходу
ДНС	– давність настання смерті
КФ	– кисла фосфатаза
ЛДГ	– лактатдегідрогеназа
Лт	– лактат
Лф	– ліпофусцин
МТ	– м'язова тканина
РПП	– ранній постмортальний період
ХЕ	– холінестераза
ХНМУ	– Харківський національний медичний університет
ХОБСМЕ	– Харківське обласне бюро судово-медичних експертиз
ЦНДЛ	– Центральна науково-дослідна лабораторія